

УДК 577.323.5

ПОДВИЖНОСТЬ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ ПРИ ГИДРАТАЦИИ ДВУНИТЕВЫХ ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ В ПЛЕНКАХ

М.А. Семенов, Е.П. Борискина, В.Я. Малеев

Институт радиофизики и электроники НАН Украины, Харьков, 61085, ул. Ак Проскуры, 12.

Поступила в редакцию 15 октября 2007 г.

На основании теории молекулярных экситонов с использованием данных рентгеноструктурного анализа и ИК спектроскопии двунитевых полинуклеотидов поли(рА)-поли(рУ), поли(рГ)-поли(рЦ) и поли(дА)-поли(дТ) во влажных пленках проведен расчет резонансных взаимодействий валентных карбонильных $C=O$ и внутрикольцевых $C=N$ колебаний азотистых оснований. На базе сделанных расчетов и экспериментальных данных о частотных сдвигах основных полос поглощения исследуемых полинуклеотидов при переходе их из дегидратированного в полностью гидратированное состояние, исследована подвижность азотистых оснований в процессе структурных перестроек полинуклеотидов, вызванных гидратацией. Показано, что в сухом состоянии двунитевые полинуклеотиды находятся в форме, незначительно отличающейся от дуспирального состояния.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: поли(рА)-поли(рУ), поли(рГ)-поли(рЦ), поли(дА)-поли(дТ), гидратация, резонансные взаимодействия, спиральный угод, подвижность, ИК спектроскопия.

Ранее было показано, что высокочастотные сдвиги и ИК-гипохромизм полос поглощения вне внутрикольцевых колебаний азотистых оснований, наблюдаемые в ИК спектрах одно- и двунитевых полинуклеотидов и ДНК [1-7] при переходе их в процессе гидратации в спиральные конформации А и типа, могут быть объяснены в рамках теории молекулярных экситонов [8,9]. Рассчитанные в дипольном приближении частоты карбонильных и некоторых внутрикольцевых колебаний азотистых оснований вполне удовлетворительно согласуются с экспериментально наблюдаемыми частотами по поглощения в ИК спектрах и спектрах комбинационного рассеяния света [6]. Динамическое взаимодействие колебательных моментов перехода рассматривается при этом в элементарных ячейках полинуклеотидов, параметры которых найдены с использованием данных рентгеноструктурного анализа (РСА).

Расчет показал [1,2], что «насыщение» вызванное динамическим резонансным взаимодействием частотных сдвигов полос поглощения карбонильных колебаний в двухспиральных молекулах поли(рА)-поли(рУ), поли(рГ)-поли(рЦ) и поли(дА)-поли(дТ) на 90-95%, наступает при учете взаимодействия ближайших соседей полинуклеотидной матрицы [10].

На рис. 1 а-д представлены зависимости частот карбонильных ($C=O$) и внутрикольцевых ($C=N$) колебаний от числа сорбированных молекул воды (n , моль H_2O /моль нуклеотидов) на пленки полинуклеотидных матриц, полученные нами ранее для полинуклеотидов поли(рА)-поли(рУ), поли(рГ)-поли(рЦ) и поли(дА)-поли(дТ) [4,7,11].

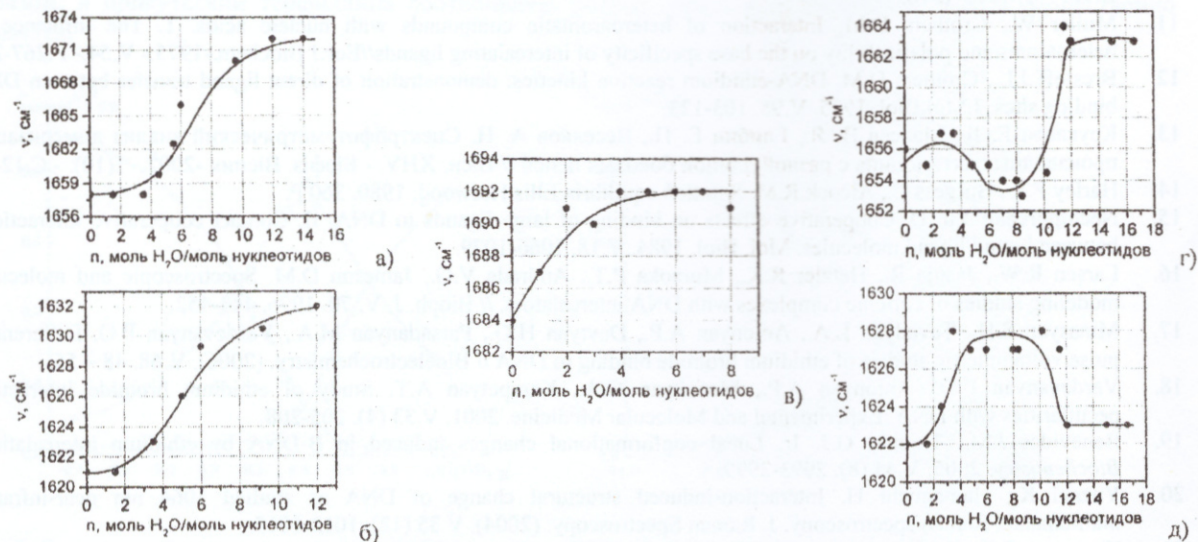


Рис. 1. Зависимость частоты полос поглощения азотистых оснований (ν , cm^{-1}) от количества сорбированных молекул воды (n , моль H_2O /моль нуклеотидов) для колебательных групп $C=O$ (а) и $N=C6$ (б) поли(рА)-поли(рУ), группы $C6=O$ (в) поли(рГ)-поли(рЦ) и групп $C4=O$ (г) и $N1=C6$ (д) поли(дА)-поли(дТ).

Видно, что выход на плато частот полос колебаний групп $C4=O$ и $N1=C6$ полинуклеотидов поли(рА)-поли(рУ) наступает при сорбции $n=12$ молекул воды на нуклеотид (Рис. 1 а, б). Согласно РС.

Подвижность азотистых оснований при гидратации ...

таких условиях этот полинуклеотид находится в двуспиральном состоянии [12]. Насыщение высокочастотного сдвига полосы поглощения карбонильного колебания $C=O$ полинуклеотида поли(рГ)-поли(рЦ) (Рис.1 в) наблюдается при сорбции $n=6$ молекул воды на нуклеотид. При такой степени гидратации, согласно РСА, полинуклеотид поли(рГ)-поли(рЦ) также находится в двуспиральной конформации [13]. Для карбонильного колебания $C4=O$ тимина и колебания группы $N1=C6$ аденина полинуклеотида поли(дА)-поли(дТ) характерна более сложная форма зависимости $\nu(n)$ [11]. По-видимому, это связано с тем, что, согласно РСА, в интервале $0 < n \leq 6$ (Рис. 1 г) этот полинуклеотид находится в двуспиральном β -В'-состоянии, а в интервале $10 < n \leq 12$ – в α -В'-конформации [14-17].

Проведенные ранее расчеты резонансных сдвигов частот карбонильных $C=O$ и внутрикольцевых $C=N$ колебаний подтвердили вывод о том, что при соответствующих степенях гидратации данные полинуклеотиды находятся в двуспиральном состоянии [18, 1-4]. Вместе с тем, наблюдаемые резкие высокочастотные сдвиги в узких интервалах сорбции воды n [4,7,11] и насыщение динамического резонансного взаимодействия при учете только ближайших соседей свидетельствуют о том, что в процессе сорбции воды на пленках полинуклеотидов, по-видимому, происходит изменение подвижности азотистых оснований. Ранее такое изменение подвижности пар оснований с увеличением содержания воды на ДНК в пленках обнаружено Рупрехтом с соавт. [19].

Целью данной работы является теоретическое исследование подвижности азотистых оснований с учетом экспериментально найденных зависимостей частот полос поглощения внутри- и внекольцевых колебаний азотистых оснований от n для более простых нуклеиновых кислот – полинуклеотидов поли(рА)-поли(рУ), поли(рГ)-поли(рЦ) и поли(дА)-поли(дТ) – в процессе их структурных перестроек, вызванных гидратацией.

МЕТОДЫ РАСЧЕТА

Для исследования подвижности азотистых оснований в процессе гидратации полинуклеотидов рассмотрим диполь-дипольное приближение, которое обычно используется при расчете динамического взаимодействия колебательных моментов перехода в биополимерах [1, 18, 20, 21]. При этом резонансный сдвиг выражается формулой

$$\Delta \nu_{рез} = \nu_f - \nu_0 = \frac{1}{h} \sum_{n\alpha} C_\alpha^f C_\beta^f V_{n\alpha, m\beta}, \quad (1)$$

где h – постоянная Планка; C_α^f и C_β^f – коэффициенты симметрии для колебаний типа симметрии f ; ν_0 – невозмущенная частота; m, n – числа, которые нумеруют колебательные группы в элементарной ячейке; $V_{n\alpha, m\beta}$ – матричный элемент оператора диполь-дипольного взаимодействия моментов перехода, локализованных в двух одинаковых колебательных группах. В упрощенном виде энергия взаимодействия между двумя ориентированными дипольными моментами перехода (рис. 2) может быть записана так [22]:

$$V = \frac{1}{\epsilon} \cdot \frac{\left| \frac{\partial \mu_1}{\partial S_1} \right| \left| \frac{\partial \mu_2}{\partial S_2} \right|}{|R|^3} \cdot (\cos \alpha - 3 \cos \beta \cdot \cos \gamma) \cdot S_1 \cdot S_2, \quad (2)$$

где ϵ – диэлектрическая постоянная, $\frac{\partial \mu_1}{\partial S_1}$, $D/\text{Å}$ – дипольный момент перехода, S_i – валентная координата,

$R, \text{Å}$ – расстояние между центрами взаимодействующих диполей.

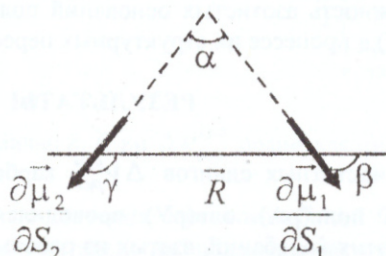


Рис. 2. Схема взаимодействия двух дипольных моментов перехода.

В свернутом виде резонансный частотный сдвиг в случае двух взаимодействующих колебательных групп согласно формулам 1-2 записывается так:

$$\Delta V_{рез} = \frac{M}{h \cdot \varepsilon} \cdot \frac{\cos \alpha - 3 \cos \beta \cdot \cos \gamma}{R^3} = \frac{M}{h \cdot \varepsilon} \cdot G, \quad (3)$$

где первый член является постоянной величиной и содержит произведение дипольных моментов перехода

$$M = \left| \frac{\partial \mu_1}{\partial S_1} \right| \cdot \left| \frac{\partial \mu_2}{\partial S_2} \right|, \text{ которые определяются из абсолютных интенсивностей полос поглощения в}$$

инфракрасных спектрах по формуле $|\langle \bar{\mu} \rangle|^2 = \frac{3Ach}{8\pi^3\nu}$, где A – абсолютная интенсивность полосы поглощения, c – скорость света в вакууме, ν – частота максимума полосы, h – постоянная Планка. Переменная G – геометрический фактор, величина которого может быть определена из рентгеноструктурных данных. Из формулы (3) следует, что подвижность азотистых оснований при увлажнении пленок полинуклеотидов определяется геометрическим фактором G , точнее, углами α , β , γ и расстоянием R между взаимодействующими дипольными моментами перехода.

В рамках модели слабо связанных осцилляторов частоты колебаний групп атомов полинуклеотидных матриц и белковых структур с учетом водородной связи и резонансных взаимодействий могут быть получены так [23]:

$$V_{расч} = V_0 - \Delta V_{H-св} \pm \Delta V_{рез}^{сум}, \quad (4)$$

где V_0 – невозмущенная частота колебательной группы атомов, которая экспериментально может быть определена в неполярных жидкостях, $\Delta V_{H-св}$ – сдвиг частоты валентного колебания за счет водородной связи, $\Delta V_{рез}^{сум}$ – суммарный резонансный сдвиг от взаимодействия с соседними группами атомов. Величины V_0 и $\Delta V_{H-св}$ известны из литературы

В случае полностью гидратированного состояния значение $\Delta V_{рез}^{сум}$ может быть получено теоретически по формуле (3), при этом значения компонентов R , α и β геометрического фактора G могут быть вычислены на основании данных РСА.

В случае частично или полностью дегидратированных полинуклеотидов, значение $\Delta V_{рез}^{сум}$ напрямую рассчитать теоретически невозможно, так как для частично или полностью дегидратированных полинуклеотидов отсутствуют данные РСА. Тем не менее, нами разработан алгоритм численного расчета $\Delta V_{рез}^{сум}$ для всех значений n . При этом за основу расчета берется геометрическое расположение атомов в полностью гидратированных полинуклеотидах, определенное с использованием РСА, затем координата конца одного из взаимодействующих диполей изменяется таким образом, что угол α пробегает значения от 0 до 90°. При этом плоскость, в которой вращается диполь, параллельна взаимодействующему с ним диполю. Для каждого значения α рассчитываются величины R , β , γ и вычисляется значение $\Delta V_{рез}^{сум}$. В расчете учитывается взаимодействие каждой колеблющейся группы с одной соседней группой, находящейся сверху и внизу по цепи. Вычисленные для каждого α значения $V_{расч}$ сравниваются с экспериментальными $V_{эксп}$, которые получены нами для всего интервала изменения уровня гидратации полинуклеотидов. При этом, в случае согласия экспериментальных и рассчитанных значений частот оказалось возможным для каждого n определить значения углов α , β и γ и расстояния R . Таким образом, предлагаемый подход позволяет определить взаимное геометрическое расположение пар азотистых оснований на всех этапах гидратации и оценить подвижность азотистых оснований полинуклеотидов поли(рА)-поли(рУ), поли(рГ)-поли(рЦ) и поли(дА)-поли(дТ) в процессе их структурных перестроек, вызванных гидратацией.

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Поли(рА)- поли(рУ)

Расчет резонансных частотных сдвигов $\Delta V_{рез}^{сум}$ карбонильных C4=O и внутрикольцевых N1=C6 колебаний полинуклеотида поли(рА)-поли(рУ) проводился с использованием уточненных значений абсолютных интенсивностей этих колебаний, взятых из работы [24]. В случае полностью гидратированного состояния, в котором данный полинуклеотид находится в А конформации, геометрические параметры этих связей брались из данных РСА [12]. Моменты перехода направляли вдоль связей, значение R соответствовало расстоянию между средними точками этих связей, угол α между связями отвечал углу поворота между основаниями в А-У парах. Наилучшее согласие рассчитанных $V_{расч}$ с экспериментальными получено при значениях невозмущенных частот $V_0^{C4=O} = 1658 \text{ см}^{-1}$ и $V_0^{C4=N1} = 1618 \text{ см}^{-1}$ [18, 25]. При этом

Подвижность азотистых оснований при гидратации ...

использовалось локальное значение диэлектрической постоянной $\epsilon=2$, а частотный сдвиг валентного карбонильного колебания $C4=O$ за счет установления межпарной А-У водородной связи, согласно работе [12], был взят равным $\Delta\nu_{H-ca}=18\text{ см}^{-1}$, значение абсолютной интенсивности $A=10,4\text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ [24]. В табл. 1 представлены рассчитанные для групп $C4=O$ и $N1=C6$ значения частот колебаний, резонансных частотных сдвигов, а также частоты, экспериментально наблюдаемые в инфракрасных спектрах полностью гидратированного поли(рА)-поли(рУ).

Табл. 1. Сопоставление рассчитанных частот карбонильных колебаний $C4=O$ и внутривольцевых колебаний $N1=C6$ с экспериментально наблюдаемыми в ИК спектрах полностью гидратированного поли(рА)-поли(рУ).

Колебательная группа атомов	Невозмущенная частота $\nu_0, \text{см}^{-1}$	Резонансный сдвиг $\Delta\nu_{рез}^{сум}, \text{см}^{-1}$	Рассчитанная частота колебания, $\nu_{расч}, \text{см}^{-1}$	Сдвиг за счет Н-связи $\Delta\nu_{H-ca}, \text{см}^{-1}$	Экспериментальная частота колебания, $\nu_{эксп}, \text{см}^{-1}$
$C4=O$	1658	31 ± 1	1671 ± 1	-18	1672 ± 1
$N1=C6$	1618	14 ± 1	1632 ± 1	0	1632 ± 1

Хорошее согласие рассчитанных частот $\nu_{расч}$ с экспериментально наблюдаемыми $\nu_{эксп}$ свидетельствует о правильности выбранных значений параметров используемой модели.

Как видно из рис. 1а, в процессе сорбции молекул воды на пленке полинуклеотида частоты полос поглощения $C4=O$ и $N1=C6$ возрастают за счет вклада резонансных взаимодействий. С использованием разработанного численного алгоритма мы рассчитали значения $\Delta\nu_{рез}$ для всех величин n , при этом были получены значения параметров R, α, β, γ , характерные для каждого n . Дополнительно проведенный анализ показал, что определяющее значение для величины геометрического фактора G имеет значение угла α . Получено, что при переходе полинуклеотида поли(рА)-поли(рУ) из дегидратированного в полностью гидратированное состояние угол α меняется от 47° до 32° , при этом величина $\Delta\nu_{рез}^{сум}$ меняется от 18 см^{-1} до 31 см^{-1} . На рис. 3 а-г показаны полученные зависимости от α величин $\Delta\nu_{рез}^{сум}, R, \beta, \gamma$. Видно, что в интервале значений угла $32^\circ \leq \alpha \leq 47^\circ$ значение R изменяется незначительно, приблизительно на $0,07\text{ \AA}$, что составляет около 2% от межплоскостного расстояния, определенного РСА, а величины углов β и γ изменяются на $2-5^\circ$ (см. штрихованные области).

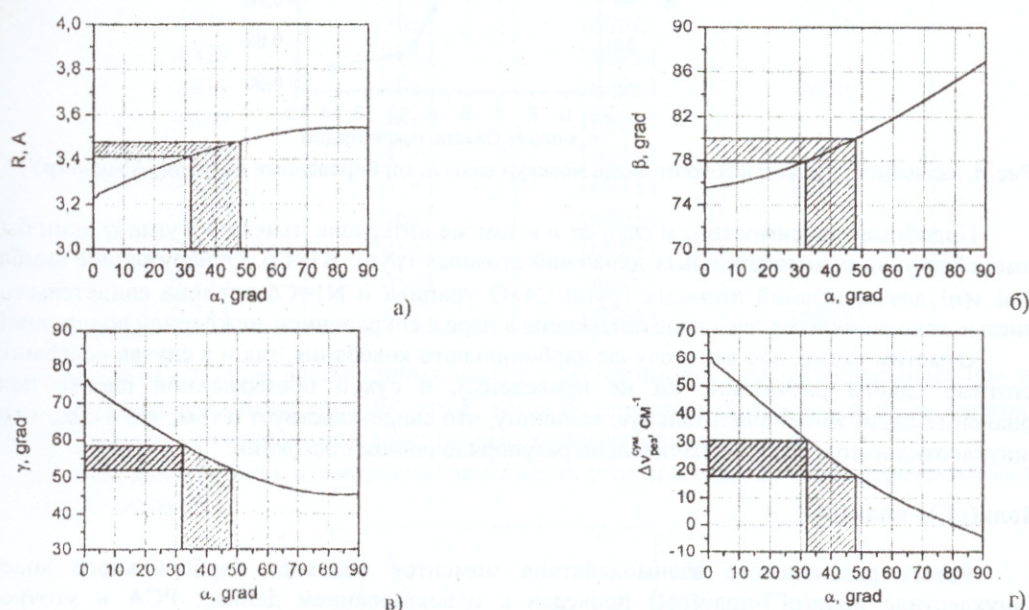


Рис. 3. Зависимости от угла α значения величин R, β, γ и $\Delta\nu_{рез}^{сум}$ полинуклеотида поли(рА)-поли(рУ).

В табл. 2 приведены рассчитанные значения частот колебаний $C4=O$ и резонансных сдвигов при изменении угла α (шаг 1°), а также экспериментально наблюдаемые частоты при различных n ($0 \leq n \leq 14$).

Видно вполне удовлетворительное согласие величин рассчитанных и экспериментально наблюдаемых частот в интервале сорбции воды $0 \leq n \leq 12$. При этом происходит изменение угла α на 16° (от 48° до 32°), т.е. разупорядочение А-У пар. На рис. 4 по данным табл. 2 построена зависимость угла α и $\cos\alpha$ от числа молекул воды, сорбированных на полинуклеotide n . Эту зависимость можно рассматривать как показатель изменения подвижности урациловых оснований относительно друг друга в процессе сорбции воды на полинуклеotide. Видно, что с ростом n , начиная с сухого состояния полинуклеотида, угол

α уменьшается от 48° при $n=0$ до 32° при $n=12$, когда поли(рА)-поли(рУ) переходит в двуспиральное состояние.

Табл. 2. Рассчитанные значения частот и резонансных частотных сдвигов колебания $C4=O$ поли(рА)-поли(рУ) при изменении угла α и экспериментальные частоты для различных n .

α , град	$\cos \alpha$	$\Delta \nu_{рез}^{сум}$, $см^{-1}$	$\nu_{расч}$, $см^{-1}$	$\nu_{эксп}$, $см^{-1}$	n
32	0.848	31 ± 1	1671 ± 1	1671 ± 1	14
33	0.839	30 ± 1	1670 ± 1	1670 ± 1	10
34	0.829	29 ± 1	1669 ± 1	1669 ± 1	9
35	0.819	28 ± 1	1668 ± 1		
36	0.809	27 ± 1	1667 ± 1		
37	0.799	26 ± 1	1667 ± 1	1667 ± 1	8
38	0.788	26 ± 1	1666 ± 1		
39	0.777	25 ± 1	1665 ± 1		
40	0.766	24 ± 1	1664 ± 1	1664 ± 1	7
41	0.755	23 ± 1	1663 ± 1		
42	0.743	23 ± 1	1663 ± 1	1663 ± 1	6
43	0.731	22 ± 1	1662 ± 1		
44	0.719	21 ± 1	1661 ± 1	1661 ± 1	5
45	0.707	20 ± 1	1660 ± 1		
46	0.695	20 ± 1	1660 ± 1	1660 ± 1	4
47	0.682	19 ± 1	1659 ± 1	1659 ± 1	3
48	0.669	18 ± 1	1658 ± 1	1658 ± 1	0

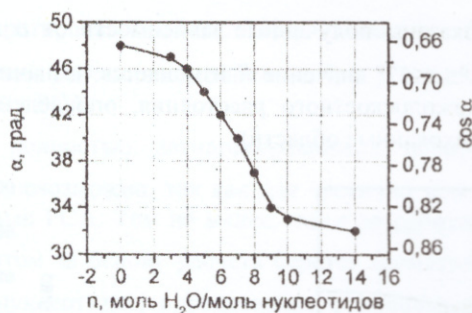


Рис. 4. Зависимость угла α и $\cos \alpha$ от числа молекул воды n , сорбированных на поли(рА)-поли(рУ)

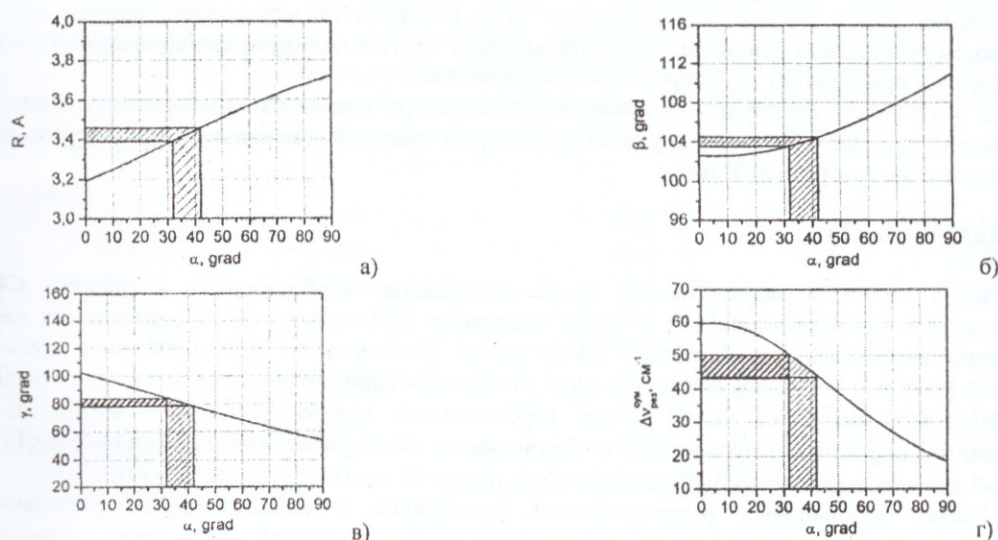
Подобные зависимости α и $\cos \alpha$ от n в том же интервале изменения угла α нами были найдены для взаимодействующих колебательных движений атомных групп $N1=C6$. Обнаруженное симбатное изменение $\alpha(n)$ и $\nu(n)$ для колебаний атомных групп $C4=O$ урацила и $N1=C6$ аденина свидетельствуют о том, что азотистые основания изменяют свое положение в паре с сохранением межпарной водородной связи.

Отметим также, что как в случае карбонильного колебания, так и в случае колебания атомов $N1=C6$ (частотные сдвиги рассчитаны, но не приведены), в сухой обезвоженной пленке поли(рА)-поли(рУ) резонансный сдвиг имеет значительную величину, что свидетельствует о том, что в сухом состоянии пленки полинуклеотид находится в незначительно разупорядоченном состоянии.

2. Поли(рГ)-поли(рЦ)

Расчет резонансного взаимодействия моментов перехода карбонильного колебания $C6=O$ в полинуклеотиде поли(рГ)-поли(рЦ) проведен с использованием данных РСА и уточненного значения абсолютной интенсивности полосы поглощения этого колебательного движения [24] при различных углах α . На рис. 5а-г представлены зависимости от α значений R , β , γ и $\Delta \nu_{рез}^{сум}$. Получено, что переход полинуклеотида из дегидратированного состояния в двуспиральное гидратированное сопровождается изменением угла α от 42° до 32° , характерного для А формы. При этом наблюдаются незначительные изменения значений параметров R , β и γ . Большая величина резонансного сдвига в дегидратированном полинуклеотиде $\Delta \nu_{рез}^{сум} = 44 \text{ см}^{-1}$ свидетельствует о том, что в этих условиях полинуклеотид поли(рГ)-поли(рЦ) в пленке находится в незначительно разупорядоченном состоянии.

Подвижность азотистых оснований при гидратации ...

Рис. 5. Зависимости от угла α значения величин R , β , γ и $\Delta\nu_{пер}^{сум}$ полинуклеотида поли(рГ)-поли(рЦ)

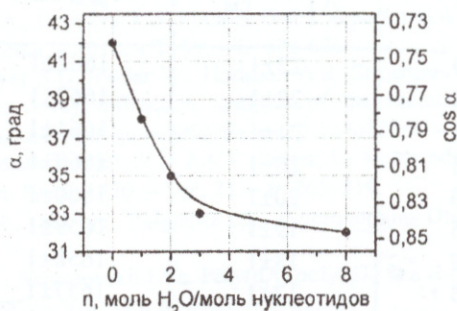
В табл. 3 приведены рассчитанные значения частот колебания группы C6=O и резонансные частотные сдвиги $\Delta\nu_{пер}^{сум}$ при изменении угла α (шаг 1°) и экспериментально наблюдаемые частоты при различных значениях степени гидратации n . В расчетах использовались значения $\epsilon=2$, $\Delta\nu_{H-C6}=30 \text{ см}^{-1}$ и $\nu_0=1670 \text{ см}^{-1}$ [18], абсолютной интенсивности $A=9,4 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ или $0,46 \text{ D}$ [24].

Табл. 3. Рассчитанные значения частот и резонансных частотных сдвигов колебания C6=O поли(рГ)-поли(рЦ) при изменении угла α и экспериментальные частоты для различных n

α , град	$\cos \alpha$	$\Delta\nu_{пер}^{сум}$, см^{-1}	$\nu_{расч}$, см^{-1}	$\nu_{эксп}$, см^{-1}	n
32	0.848	51 ± 1	1691 ± 1	1692 ± 1	5-8
33	0.839	50 ± 1	1690 ± 1	1690 ± 1	3
34	0.829	49 ± 1	1689 ± 1		
35	0.819	49 ± 1	1689 ± 1	1689 ± 1	2
36	0.809	48 ± 1	1688 ± 1		
37	0.799	47 ± 1	1687 ± 1		
38	0.788	47 ± 1	1687 ± 1	1687 ± 1	1
39	0.777	46 ± 1	1686 ± 1		
40	0.766	45 ± 1	1685 ± 1		
41	0.755	45 ± 1	1685 ± 1		
42	0.743	44 ± 1	1684 ± 1	1684 ± 1	0

Видно хорошее согласие рассчитанных частот с экспериментально наблюдаемыми при изменении угла α на 10° в интервале сорбции воды $0 \leq n \leq 6-8$, когда полинуклеотид переходит из дегидратированного частично разупорядоченного состояния в двуспиральную конформацию типа А.

На рис. 6 по данным табл. 3 построена зависимость угла α и $\cos \alpha$ от числа сорбированных молекул воды n на поли(рГ)-поли(рЦ).

Рис. 6. Зависимость угла поворота α и $\cos \alpha$ гуаниновых оснований в пленке поли(рГ)-поли(рЦ) от числа сорбированных молекул воды n

Видно, что с ростом n уменьшается угол поворота α , что свидетельствует об изменении подвижности гуаниновых оснований относительно друг друга в полинуклеотидной цепи. При угле $\alpha=32^\circ$ полинуклеотид приобретает двуспиральную конформацию.

В заключении отметим, что полинуклеотид поли(рГ)-поли(рЦ) в дегидратированном состоянии в пленке более упорядочен, чем полинуклеотид поли(рА)-поли рУ, поскольку угол поворота α Г-Ц пар в 1,5 раза меньше угла поворота А-У пар.

3. Поли(дА)-поли(дТ)

Из-за сильного перекрыwania полос поглощения карбонильных колебаний $C4=O$ и $C2=O$ полинуклеотида поли(дА)-поли(дТ) в сухом состоянии [11] и трудностей определения частоты полосы поглощения карбонильного колебания $C4=O$ расчет резонансного взаимодействия моментов перехода колебаний $N1=C6$ и $C4=O$ мы провели в двух интервалах сорбции молекул воды: для колебания атомных групп $N1=C6$ в интервале $0 \leq n \leq 8$ и для карбонильных колебаний $C4=O$ в интервале $10 \leq n \leq 18$. Из исследований дифракции рентгеновского излучения на полинуклеотиде поли(дА)-поли(дТ) известно, что при $n=6-7$ для него характерна β -В'-конформация, при $n=12$ - α -В'-структура [13-17].

Расчет резонансных взаимодействий проводился с использованием уточненных значений абсолютных интенсивностей полос поглощения этих колебаний [24] при различных углах α . Диэлектрическая постоянная взята равной $\epsilon=2$, $\nu_0^{C4=O}=1658 \text{ см}^{-1}$ и $A=9,2 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ и $\nu_0^{N1=C6}=1618 \text{ см}^{-1}$ [25] и $A=3,0 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$. Проведенный анализ зависимостей от α значений R , β , γ и $\Delta \nu_{рез}^{сум}$, как и в случае с полинуклеотидами поли(рА)-поли(рУ) и поли(рГ)-поли(рЦ), показал незначительные изменения величин параметров R , β , γ геометрического фактора G в интервале изменения $36^\circ \leq \alpha \leq 54^\circ$ для колебаний $C4=O$. Найденный значительный резонансный сдвиг $\Delta \nu_{рез}^{N1=C6}=9 \text{ см}^{-1}$ в сухом дегидратированном состоянии, как и в случае с полинуклеотидами типа А, свидетельствует о том, что полинуклеотид поли(дА)-поли(дТ) в сухих пленках находится в незначительно разупорядоченном состоянии.

В таблицах 4 и 5 приведены рассчитанные значения частот колебания групп $N1=C6$ и $C4=O$ и резонансные частотные сдвиги $\Delta \nu_{рез}^{сум}$ при изменении угла α (шаг 5° и 2° соответственно) и экспериментально наблюдаемые частоты при различных значениях степени гидратации n .

Табл. 4. Рассчитанные значения частот и резонансных частотных сдвигов колебания $N1=C6$ поли(дА)-поли(дТ) при изменении угла α и экспериментальные частоты для различных n

α , град	$\cos \alpha$	$\Delta \nu_{рез}^{сум}$, см^{-1}	$\nu_{расч}$, см^{-1}	$\nu_{эксп}$, см^{-1}	n
36	0.809	9 ± 1	1627 ± 1	1628 ± 1	8
41	0.755	9 ± 1	1627 ± 1	1627 ± 1	5
46	0.695	8 ± 1	1626 ± 1	1626 ± 1	4
51	0.629	7 ± 1	1625 ± 1		
56	0.559	6 ± 1	1624 ± 1	1624 ± 1	3
59	0.515	5 ± 1	1623 ± 1	1622 ± 1	0

Табл. 5. Рассчитанные значения частот и резонансных частотных сдвигов колебания $C4=O$ поли(дА)-поли(дТ) при изменении угла α и экспериментальные частоты для различных n

α , град	$\cos \alpha$	$\Delta \nu_{рез}^{сум}$, см^{-1}	$\nu_{расч}$, см^{-1}	$\nu_{эксп}$, см^{-1}	n
36	0.809	22 ± 1	1662 ± 1	1663 ± 1	18
38	0.788	22 ± 1	1662 ± 1	1662 ± 1	12
40	0.766	21 ± 1	1661 ± 1		
42	0.743	20 ± 1	1660 ± 1		
44	0.719	20 ± 1	1660 ± 1		
46	0.695	19 ± 1	1659 ± 1	1659 ± 1	11
48	0.669	18 ± 1	1658 ± 1		
50	0.643	17 ± 1	1657 ± 1		
52	0.616	16 ± 1	1656 ± 1		
54	0.588	16 ± 1	1656 ± 1	1656 ± 1	10

Подвижность азотистых оснований при гидратации ...

Видно хорошее согласие рассчитанных частот с экспериментально наблюдаемыми в двух интервалах сорбции воды, когда полинуклеотид переходит из дегидратированного частично неупорядоченного состояния в дуспиральную структуру типа β -В' и при его переходе в α -В' - структуру.

На рис. 7 представлены построенные по данным таблицы 4 и 5 зависимости значения угла α и $\cos\alpha$ от числа сорбированных молекул воды n для групп Сб=N1 и С4=О поли(дА)-поли(дТ).

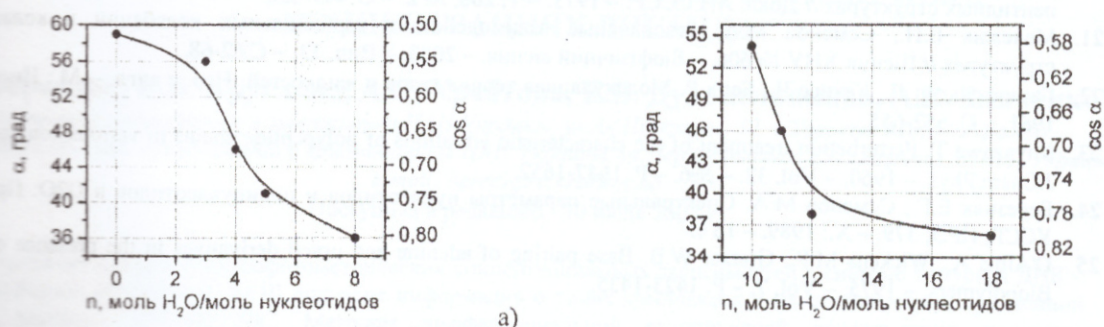


Рис. 7. Зависимость угла поворота α и $\cos\alpha$ для групп Сб=N1 (а) и С4=О (б) в пленке поли(дА)-поли(дТ) от числа сорбированных молекул воды n

Таким образом, проведенные расчеты резонансных взаимодействий, согласующиеся с полученными экспериментальными результатами ИК-спектроскопических исследований двунитевых полинуклеотидов А- и В-типов структур позволяют сделать два важных вывода: во-первых, в сухом дегидратированном состоянии двунитевые полинуклеотиды находятся в форме, незначительно отличающейся от упорядоченной, а не в клубковой форме, как это полагалось ранее. Вот почему наблюдается высокая степень обратимости структурных изменений при сорбции и десорбции молекул воды на полинуклеотидах. Во-вторых, увлажнение дегидратированных полинуклеотидов сопровождается изменением подвижности структуры азотистых оснований, т.е. размягчением конформаций полинуклеотидов типа А и В.

ЛИТЕРАТУРА

- Семенов М.А., Большух Т.В. Резонансные взаимодействия карбонильных колебаний в спиральных полипептидах // ДАН УССР. Сер. «Б». – 1982. – № 12. – С.66-69.
- Semenov M.A., Bolbuch T.V. Carbonyl vibration resonance interactions helical polynucleotides Poly(dA)-Poly(dT) and PolyG-PolyC // Studia biophysica. – 1984. – Vol. 102, № 3. – P. 215-220.
- Semenov M.A., Bolbuch T.V., Starikov E.B. Infrared spectroscopic study of the hydration of polyadenylic acid potassium salt films // Studia biophysica. – 1985. – Vol. 106, № 3. – P. 181-192.
- Семенов М.А., Большух Т.В., Малеев В.Я. Исследование гидратации дуспирального комплекса поли А-поли У методами ИК-спектроскопии и пьезогравиетрии // Биофизика. – 1985. – Т. 30. – С. 571-577.
- Семенов М.А., Стариков Е.Б., Большух Т.В., Малеев В.Я. Гидратация односпиральной поли Ц по данным ИК-спектроскопии и пьезогравиетрии // Биофизика. – 1989. – Т.34. – №3. – С. 389-395.
- Семенов М.А. Гидратация и структурное состояние нуклеиновых кислот в конденсированном состоянии: Дис. док. физ.-мат. наук. – М.: МГУ, 1990. – 410 с.
- Семенов М.А., Малеев В.Я., Березняк Е.Г., Гасан А.И., Большух Т.В. Гидратация и стабильность комплекса поли (гГ)-поли (гС) // Мол.биология. – 1991. – Т.25. – №6. – С. 1626-1634.
- Давыдов А. С. Теория поглощения света в молекулярных кристаллах. – Киев: изд-во АН УССР. – 1951. – 296 с.
- Малеев В.Я. Исследование структурных переходов биополимеров в растворе. Дис. док. физ.-мат. наук. – Х.: ФТИНТ, 1975. – 278 с.
- Семенов М.А., Большух Т.В. Резонансные взаимодействия карбонильных колебаний в спиральных полипептидах: Препр. /АН УССР; ИРЭ; 190. – Х.: 1982. – 28 с.
- Семенов М.А., Матвеев Д.А., Большух Т.В. Малеев В.Я. Гидратация и стабильность дуспирального комплекса poly(dA)-poly(dT) // Биофизика. – 1994. – Т. 39. – С. 628-636.
- Arnott S, Hukins D.W., Dover S.D., Fuller W., Hodgson A.R. Structures of synthetic polynucleotides in the A-RNA and A'-RNA conformations: x-ray diffraction analyses of the molecular conformations of polyadenylic acid-polyuridylic acid and polyinosinic acid-polycytidylic acid // J Mol Biol. – 1973. – Vol. 81, №2. – P. 107-122.
- Arnott S. The geometry of nucleic acids. // In J.A.V. Butler, D. Noble editors, Progress in Biophysics and Molecular Biology. – Oxford: Pergamon Press, 1970. – Vol. 21. – P. 265-319.
- Arnott S., Chandrasekaran R., Hall I.H., Puigjaner L.C. Heteronomous DNA // Nucleic Acids Res. – 1983. – Vol. 11, № 12. – P. 4141-4155.
- Alexeev D.G., Lipanov A.A., Skuratovskii I.Ya. Poly(dA).poly(dT) is a B-type double helix with a distinctively narrow minor groove // Nature. – 1987. – Vol. 325, № 6107. – P. 821-3.
- Park H.S., Arnott S., Chandrasekaran R., Millane R.P., Campagnari F. Structure of the alpha-form of poly[d(A)].poly[d(T)] and related polynucleotide duplexes // J Mol Biol. – 1987. – Vol. 197, № 3. – P. 513-523.
- Lipanov A.A., Chuprina V.P., Alexeev D.G., Skuratovskii I.Ya. B α -DNA: variations of the poly[d(A)].poly[d(T)] structure within the framework of the fibre diffraction studies // J Biomol Struct Dyn. – 1990. – Vol 4. – P. 811-826.

18. Tsuboi M., Takahashi S., Harada I. Infrared and Raman spectra of nucleic acids-vibrations in the base residues // In J. Duchesne, editor. *Physico-Chemical Properties of Nucleic Acids*. – New York: Academic press, 1973. – Vol. 2. – P. 91-145.
19. Brandes R., Vold R.R., Kearns D.R., Ryprecht A. Static disorder and librational motions of purine bases in films of oriented Li-DNA // *J. Mol. Biol.* – 1988. – Vol. 202. – P. 321-332.
20. Чиргадзе Ю.Н. Невская Н.А. Резонансные взаимодействия основных амидных колебаний в упорядоченных пептидных структурах // *Докл. АН СССР*. – 1973. – Т. 208, № 2. – С. 447-450.
21. Мележик Е.П., Семенов М.А. Резонансные взаимодействия карбонильных колебаний в коллагеновых структурах // *Вісник ХНУ № 606. – Біофізичний вісник*. – 2003. – Вип. 13. – С.62-68.
22. Гиршфельдер Д., Кетисс Ч., Берд Р. Молекулярная теория газов и жидкостей: Пер. с англ. – М.: Иностран. лит., 1961. – С. 652-655.
23. Miyazawa T. Perturbation treatment of the characteristic vibrations of polypeptide chains in various configurations // *J.Chem.Phys.* – 1960. – Vol. 32. – №6. – P. 1647-1652.
24. Березняк Е.Г., Семенов М.А. Спектральные параметры нуклеотидов и полинуклеотидов в D2O: Препр. /АН УССР; ИРЭ; 379. – Х.: 1989. – 16 с.
25. D'Albis A., Wickens M.P., Gratzner W.B. Base pairing of adenine and uracil derivatives in the presence of water // *Biopolymers*. – 1975. – Vol. 7. – P. 1423-1435.