

УДК 577.3

МОЛЕКУЛЯРНА БІОФІЗИКА

## ВЛИЯНИЕ МОЧЕВИНЫ НА ПЕРЕХОД ДНК В КОМПАКТНОЕ СОСТОЯНИЕ ПРИ СВЯЗЫВАНИИ С ИОНАМИ $\text{Cu}^{2+}$

Е.В. Хакл, С.В. Корнилова, Ю.П. Благой

Физико-технический институт низких температур им. Б.И.Веркина НАН Украины,  
310164, Харьков, пр. Ленина, 47; E-mail: hackl@ilt.kharkov.ua

Поступила в редакцию 29 сентября 1998 г.

В работе методом ИК-спектроскопии изучено взаимодействие ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с ДНК в водных растворах, содержащих добавки мочевины ( $0.17 \pm 5$  М). Во всех исследованных растворах под влиянием ионов  $\text{Cu}^{2+}$  происходил переход ДНК в компактное состояние, причем, как и в водном растворе, этот переход носил кооперативный характер. Показано, что добавление мочевины к водному раствору ДНК понижает концентрацию ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , необходимую для индуцирования компактизации ДНК, что связано с усилением экранирующего действия противоионов за счет их дегидратации в присутствии мочевины. Вероятно, процесс перехода ДНК в компактное состояние под действием ионов меди определяется не только эффектами диэлектрической проницаемости раствора на связывание ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с биополимером, но и эффектами сольватации, причем при небольших изменениях  $\epsilon$  эффекты сольватации могут преобладать.

Добавление мочевины к раствору ДНК также понижает кооперативность процесса компактизации под действием ионов  $\text{Cu}^{2+}$ . Возможно, кооперативность перехода ДНК в компактное состояние хотя бы частично опосредована кооперативностью измененной структуры воды.

При увеличении концентрации ионов натрия в растворе переход ДНК в компактное состояние становится гораздо менее кооперативным и требует значительно большей концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , что может объясняться конкуренцией ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cu}^{2+}$  за места связывания на ДНК.

Связывание ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с ДНК определяет переход ДНК в компактное состояние даже в растворах с измененной структурой воды.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** ДНК, ИК-спектроскопия, ионы меди, мочевина, конденсация ДНК.

В наших предыдущих работах [1-4] мы показали, что под действием двухвалентных ионов металлов, в частности, ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , ДНК может переходить в компактную форму в водном и смешанных растворах, содержащих небольшие добавки неэлектролитов, причем этот переход зависит не только от диэлектрической проницаемости, но и от структуры образующегося раствора. Исследованные в этих работах неэлектролиты - 1,2-пропандиол, глицерин - при малых объемных концентрациях в растворе стабилизируют структуру воды. Поэтому представляется интересным изучить взаимодействие ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с ДНК и происходящую в результате такого взаимодействия компактизацию ДНК в водных растворах, содержащих добавки мочевины, которая, как известно, является разрушителем структуры воды [5, 6].

По своему влиянию на структуру воды и конформацию макромолекул мочевины существенно отличается от добавок типа спиртов, что может быть обусловлено следующими факторами [6]:

- молекулы спиртов в качестве функциональной группы содержат ОН, в состав мочевины входят группы  $\text{NH}_2$  и  $\text{C}=\text{O}$ ;
- молекулы спиртов обладают существенно меньшей величиной дипольного момента (1.6 D) по сравнению с молекулами мочевины (5.7 D);
- добавление спиртов понижает статическую диэлектрическую проницаемость  $\epsilon$  водно-неэлектролитной смеси, смеси вода-мочевина характеризуются более высокой, чем у воды, величиной  $\epsilon$  [5, 6].

В работах [7, 8] показана возможность связывания мочевины с ионами за счет ион-дипольного взаимодействия, в результате чего может происходить дегидратация противоионов и уменьшение их гидратных радиусов.

При высокой концентрации мочевины дестабилизирует двойную спираль ДНК, понижает температуру плавления и энтальпию перехода спираль-клубок [9-12]. В ряде работ дестабилизация молекул ДНК в водных растворах мочевины объясняется конкуренцией мочевины за образование водородных связей с азотистыми основаниями, а в других - уменьшением прочности ван-дер-ваальсовых взаимодействий при увеличении содержания мочевины в растворе [13, 14 и ссылки этой работы].

Дестабилизация в водных растворах с высокой концентрацией мочевины характерна не только для макромолекул ДНК, но и РНК, различных белков и хроматина [15-19], что говорит о неспецифичности действия мочевины. При увеличении концентрации мочевины происходит встраивание молекул мочевины непосредственно в гидратную оболочку и их взаимодействие с макромолекулой [20]. При этом за счет предпочтительного взаимодействия с макромолекулой [21]



молекулы мочевины могут образовывать водородные связи с атомами, участвующими в внутримолекулярных Н-связях [22], что приводит к дестабилизации биополимера.

Влияние мочевины на ДНК в зависимости от концентрации подробно исследовано в работах [6, 13, 23], в которых показано, что до концентрации  $\sim 2$  М действие мочевины на структуру и конформацию ДНК носит, в основном, опосредованный характер через структуроразрушающее действие на воду. Последнее должно сопровождаться изменениями в гидратной оболочке ДНК, а именно уменьшением числа гидратированных на спирали ДНК молекул воды. При увеличении концентрации мочевины может происходить непосредственное связывание молекул амида с активными группами двойной спирали ДНК.

В водных растворах мочевины не происходит внутри- и межмолекулярной компактизации ДНК. Этот вывод вытекает из независимости гидродинамических свойств ДНК от присутствия мочевины [6], так как известно, что образование агрегатов должно приводить к изменению гидродинамических свойств ДНК. Полученные в работе [14] результаты свидетельствуют о том, что конформация ДНК в водных растворах мочевины принадлежит к В-семейству форм, при этом она отличается от конформации ДНК в водно-метанольных и водно-солевых растворах. Конформационный переход аналогичен В  $\rightarrow$  С переходу, однако конечное состояние отличается от «чистой» С-формы ДНК.

Принимая во внимание все вышесказанное, в настоящей работе мы исследовали, в основном, относительно небольшие концентрации мочевины, влияющие на структуру ДНК путем изменения структуры раствора. Следует отметить, что, в отличие от спиртов, мочевина даже при незначительной концентрации неспособна стабилизировать структуру воды [5, 6], т.о. в исследованных нами растворах структуроразрушающий эффект мочевины сохранялся.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовалась нативная ДНК тимуса теленка с молекулярным весом  $1.9 \cdot 10^7$  Да, содержанием белка менее 0.3 %, РНК менее 0.2 % и гипохромным эффектом 36 %. Количество элементов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , определенное с помощью пламенного фотометра ФПЛ-1, в препаратах ДНК по отношению к их сухому весу составляло соответственно  $7.0 \pm 0.2\%$  и  $0.6 \pm 0.2\%$ . ДНК была получена в лаборатории проф. Д. Ландо (Институт биоорганической химии АН Республики Беларусь). Препараты ДНК растворяли в какодилатном буфере,  $[\text{Na}^+] = 5 \cdot 10^{-3}$  М,  $\text{pH} = 7 \pm 0.1$ . Концентрация ДНК в растворе определялась с помощью УФ-спектроскопии [28] и была в пределах  $(3 \div 5) \times 10^{-2}$  М фосфора.

В работе также использовались мочевина («Sigma») и  $\text{CuCl}_2$  (х.ч.).

Инфракрасные спектры комплексов ДНК с ионами меди регистрировали с помощью двулучевого инфракрасного спектрофотометра UR-20 (Karl Zeiss, Германия). Оптимальная ширина щели соответствовала щелевой программе N 4, скорость регистрации спектра - 10  $\text{см}^{-1}/\text{мин}$ . Для записи спектров использовались флюоритовые разборные кюветы с толщиной рабочего слоя 50  $\mu\text{м}$ . Подробно конструкция кювет и принцип компенсации растворителя описаны в [25]. Кюветы термостатировались при 29°C.

Оптическую плотность D (с точностью 2 %) определяли методом базовой линии [26], за которую принимали значение D при построении общего спектра поглощения на частоте  $\nu = 1400$   $\text{см}^{-1}$ , где отсутствовали полосы поглощения.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе получены ИК-спектры ДНК и комплексов ДНК с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  в водных растворах, содержащих добавки мочевины (0.17 - 5 М). Спектры регистрировались в области поглощения фосфатных групп ДНК (1000-1400  $\text{см}^{-1}$ ).

На рис.1 приведены ИК спектры ДНК и комплексов ДНК с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  в водных растворах мочевины с концентрациями 0.25, 0.5 и 5 М. Как видно из рис., в области поглощения фосфатных групп в спектрах ДНК и комплексов ДНК-  $\text{Cu}^{2+}$  в растворах мочевины, как и в водном растворе, присутствуют 3 основные полосы поглощения при 1053 (колебания С-О-Р групп сахарофосфатного остова), 1089-90 (симметричные колебания фосфатных групп) и 1223  $\text{см}^{-1}$  (асимметричные колебания фосфатных групп). Во всех полученных спектрах четко выражена маркерная полоса В-формы ДНК при 1223  $\text{см}^{-1}$ , причем, в отличие от комплексов ДНК с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  в водно-глицериновых и водно-пропандиоловых растворах [1], ее смещение составляет лишь 2-3  $\text{см}^{-1}$  в область больших частот при повышении концентрации меди. Это подтверждает данные работ [14, 23] о том, что конформация ДНК в водных растворах мочевины (при концентрации мочевины  $< 5 - 6$  М) принадлежит к В-семейству форм. Маркерная полоса двухспирального состояния ДНК при 1053  $\text{см}^{-1}$  также присутствует во всех полученных спектрах, при этом ее смещение к 1058-1060  $\text{см}^{-1}$  наблюдается лишь при достаточно высокой концентрации мочевины (5М) и ионов  $\text{Cu}^{2+}$  ( $> 0.016$  М), что свидетельствует о частичном разупорядочении структуры ДНК в этих условиях.



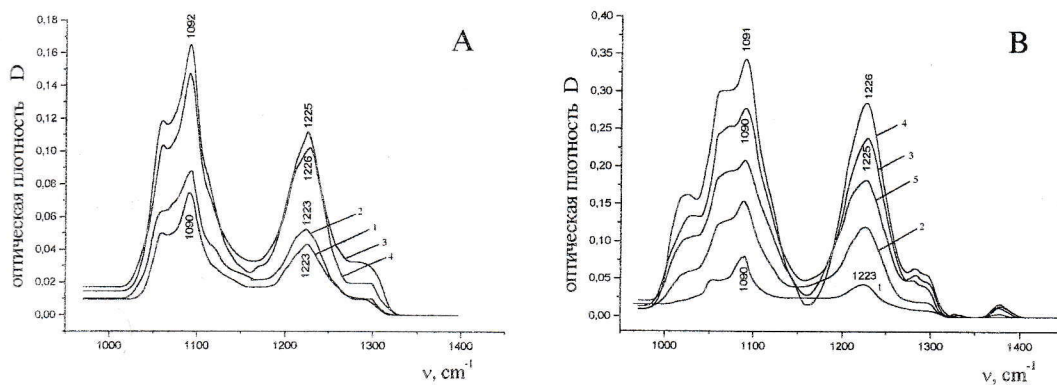


Рис. 1. ИК - спектры комплексов ДНК с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  в водных растворах мочевины с концентрацией 0.5 М (А) и 5 М (В). Концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$ : А: 1 - 0; 2 - 0.0066; 3 - 0.0086; 4 - 0.011 М; В: 1 - 0; 2 - 0.0088; 3 - 0.0124; 4 - 0.015; 5 - 0.0176 М.

Из рис. 1 видно, что интенсивность полос поглощения фосфатных групп ДНК возрастает с увеличением концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$ . В наших предыдущих работах мы связывали подобное увеличение интенсивности с переходом ДНК в компактную форму под действием ионов  $\text{Cu}^{2+}$  [1-4]. Таким образом, можно сказать, что компактизация ДНК при связывании с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  происходит также в водных растворах мочевины.

На рис. 2 приведены зависимости относительного изменения оптической плотности  $R$  для полосы поглощения фосфатных групп ДНК при  $1090 \text{ см}^{-1}$  ( $R = D_i/D_0$ , где  $D_i$  - оптическая плотность в максимуме полосы поглощения комплекса ДНК с  $i$ -той концентрацией металла,  $D_0$  - та же величина для ДНК без ионов двухвалентных металлов) от полной концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$  в растворах, содержащих добавки мочевины. Из рис. 2 видно, что для всех исследованных растворов зависимости  $R(C)$  ( $C$  - концентрация ионов  $\text{Cu}^{2+}$ ) имеют вид кривой с насыщением, аналогичный зависимости для комплексов ДНК с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  в водном растворе. Подобный вид зависимостей  $R(C)$  в наших предыдущих работах [1-3] мы объясняли высокой кооперативностью перехода ДНК в компактную форму в результате связывания с ионами  $\text{Cu}^{2+}$ . Данные рис. 2 позволяют заключить, что кооперативный характер процесса компактизации ДНК под действием ионов  $\text{Cu}^{2+}$  сохраняется в присутствии мочевины.

Как видно из рис. 2, с ростом концентрации мочевины максимальное увеличение интенсивности (то есть значения  $R$  при выходе зависимости  $R(C)$  на насыщение) возрастает для обеих полос поглощения. Вероятно, подобный характер зависимости объясняется дегидратирующим влиянием мочевины как на макромолекулу ДНК, так и на ионы металлов, что приводит к более эффективному экранированию отрицательных зарядов на ДНК при связывании и, возможно, образованию более компактной структуры.

На рис. 3 приведены зависимости величины  $C_{1/2}$  от концентрации мочевины в растворе для полос поглощения при  $1090$  и  $1223 \text{ см}^{-1}$ . Величину  $C_{1/2}$  мы определяем как концентрацию, при которой значение  $R$  равно половине максимального для данной зависимости  $R(C)$ :  $R(C_{1/2}) = R_{\text{max}} / 2$ . Таким образом, величина  $C_{1/2}$  показывает, насколько зависимость  $R(C)$  для комплексов ДНК с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  в водном растворе с  $i$ -той концентрацией мочевины сдвигается по оси концентраций относительно аналогичной зависимости для комплексов ДНК- $\text{Cu}^{2+}$  в водном растворе.

Зависимость величины  $C_{1/2}$  от концентрации мочевины можно разбить на 3 области (рис. 3). При относительно низких концентрациях мочевины (до  $\sim 0.7 \text{ М}$  - область А) добавление мочевины к водному раствору ДНК уменьшает концентрацию ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , необходимую для перевода ДНК в компактное состояние. При увеличении концентрации мочевины до  $1 - 2 \text{ М}$  уменьшение величины  $C_{1/2}$  прекращается, на зависимости наблюдается участок, почти параллельный оси  $x$  (область В), при еще большей концентрации мочевины ( $3 - 5 \text{ М}$ ) величина  $C_{1/2}$  начинает немного возрастать, не достигая, однако, значения  $C_{1/2}$  для водного раствора (область С). Суммируя, можно сказать, что при всех исследованных в работе концентрациях мочевины ее добавление к водному раствору ДНК понижает концентрацию ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , необходимую для индуцирования компактизации ДНК. Уменьшение необходимой концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$  наблюдалось также при добавлении 1,2-пропандиола к раствору ДНК [1, 2]. В этом случае для объяснения уменьшения концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , необходимой для перевода ДНК в компактную форму, мы использовали теорию Мэннинга, так как, согласно [27], доля заряда, нейтрализованного при связывании полиэлектролита с противоионами, возрастает при понижении  $\epsilon$  за счет



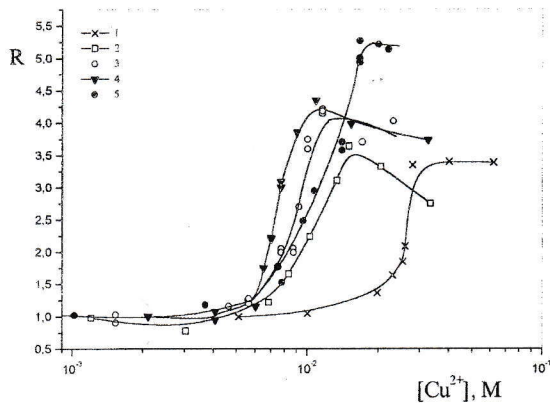


Рис. 2. Зависимости относительного изменения оптической плотности  $R$  от полной концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$  в растворе для полосы поглощения при  $1090 \text{ см}^{-1}$  для комплексов ДНК с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  в водных растворах мочевины с концентрацией: 0 (1), 0.17 (2), 0.25 (3), 1 (4) и 3 (5) М.

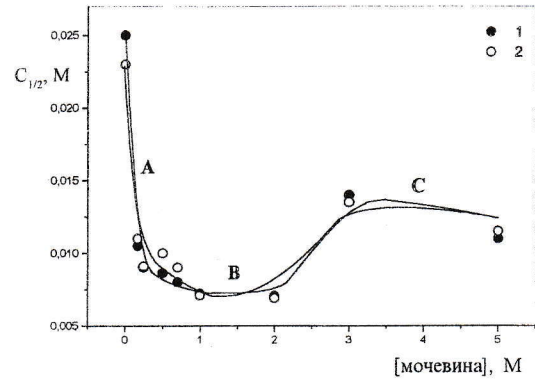


Рис. 3. Зависимости величины  $C_{1/2}$  от концентрации мочевины в растворе для полос поглощения при  $1090$  (1) и  $1223 \text{ см}^{-1}$  (2) для комплексов ДНК с ионами  $\text{Cu}^{2+}$ .

добавления менее полярного, чем вода, 1,2-пропандиола. Однако присутствие мочевины, в отличие от пропандиола, в растворе приводит к возрастанию величины  $\epsilon_s$  раствора, что исключает дополнительную конденсацию противоионов. Скорее возможна деконденсация противоионов, что должно приводить к возрастанию объемных эффектов в макромолекуле и увеличению концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , необходимой для перевода ДНК в компактное состояние. Характер зависимости  $C_{1/2}$  от концентрации мочевины можно объяснить тем, что в данном случае присутствует конкуренция двух разнонаправленных процессов: с одной стороны, при увеличении диэлектрической проницаемости раствора при добавлении мочевины уменьшается доля заряда на фосфатах, нейтрализованного за счет связывания полиэлектролита с противоионами, с другой стороны, дегидратация ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cu}^{2+}$  приводит к более эффективной экранировке зарядов на фосфатах, что усиливает эффект ионов  $\text{Cu}^{2+}$ . Возможно, что при различных концентрациях мочевины соотношение между этими процессами различно, что и определяет характер зависимости  $C_{1/2}$  от концентрации мочевины. Вероятно, в области А преобладают именно эффекты, связанные с дегидратирующим влиянием мочевины на противоионы ( $\text{Na}^+$  и  $\text{Cu}^{2+}$ ) и саму макромолекулу. Таким образом, в данном случае процесс перехода ДНК в компактное состояние под действием ионов меди определяется не только эффектами изменения диэлектрической проницаемости раствора, но и эффектами сольватации. При небольших изменениях диэлектрической проницаемости (при концентрации мочевины 8 М величина  $\epsilon_s$  раствора  $\approx 96$ , т.е. на 20% больше значение  $\epsilon_s$  воды) эффекты сольватации могут преобладать. Подобное заключение согласуется с данными работы [28], в которой показано, что добавление амидов к водному раствору ДНК понижает константы связывания некоторых лекарственных веществ с ДНК, причем наблюдается линейная зависимость между свободной энергией интеркаляции и концентрацией соразтворителя. Авторы [28] также делают вывод о том, что основное действие амидов не может быть связано только с электростатическими эффектами, так как учет электростатических эффектов дает гораздо меньшее изменение констант связывания, чем наблюдалось в работе, а определяется эффектами сольватации.

В областях В и С, в которых наблюдается возрастание величины  $C_{1/2}$ , помимо усиления экранировки зарядов на фосфатах ДНК, приводящей к уменьшению величины  $C_{1/2}$ , должны присутствовать иные механизмы влияния мочевины на связывание ионов меди с ДНК. Среди возможных механизмов можно отметить возрастание  $\epsilon_s$  раствора при повышении концентрации мочевины, препятствующее дополнительной конденсации противоионов, необходимой для компенсации заряда на ДНК, а также конкуренцию молекул мочевины и ионов  $\text{Cu}^{2+}$  за места связывания на ДНК (в работах [11, 14] показано, что при концентрации мочевины порядка 3 М происходит непосредственное взаимодействие мочевины с ДНК за счет образования водородных связей, при этом молекулы мочевины преимущественно связываются с основаниями ДНК [6, 14]). Кроме того, в работе [29] приводятся данные о превращении дестабилизирующего действия L-глутамина и акриламида на ДНК в стабилизирующее при увеличении концентрации лиганда в узком интервале концентраций. Совпадение влияния глутамина и акриламида на температуру и интервал плавления ДНК позволило авторам [29] предположить, что эффект дестабилизации или стабилизации ДНК обусловлен именно амидной группой. В обзоре [30] рассмотрена теоретическая возможность дополнительной стабилизации соседних GC-пар в двойной спирали ДНК за счет



## Влияние мочевины на переход ДНК в компактное состояние ...

образования амидной группой водородных связей с N4-Н цитозина одной пары и O6 гуанина второй. Такое комплексообразование эквивалентно увеличению стэкинг-взаимодействия в этих парах. Таким образом, в зависимости от концентрации мочевины и характера образующихся водородных связей мочевины с ДНК ее связывание с азотистыми основаниями может приводить либо к дестабилизации, либо к стабилизации двойной спирали. Исходя из зависимости, приведенной на рис. 3 (область С), можно предположить, что взаимодействие мочевины с ДНК при увеличении концентрации мочевины может приводить к частичной стабилизации структуры ДНК, что, в свою очередь, приводит к увеличению концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , необходимой для перевода ДНК в компактную форму.

Из анализа данных, приведенных на рисунке 2, также следует, что переход ДНК в компактное состояние в водных растворах мочевины происходит в большем интервале концентраций ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , чем переход ДНК в водном растворе, то есть имеет меньшую кооперативность. Для количественной характеристики интервала концентраций ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , в котором происходит переход ДНК в компактную форму, мы ввели величину  $\Omega$ :  $\Omega = \frac{\Delta C}{C_{1/2}}$ , где  $\Delta C$  -

интервал перехода, определяемый по аналогии с величиной интервала плавления ДНК [24]. Таким образом, значение  $1/\Omega$  пропорционально параметру кооперативности процесса компактизации ДНК, введенному в работе [3]. На рис. 4 приведены зависимости  $\Omega_0/\Omega_i$  (где  $\Omega_i$  - величина, характеризующая переход ДНК в компактную форму в растворе с  $i$ -той концентрацией мочевины,  $\Omega_0$  - та же величина для раствора, не содержащего добавки мочевины) от концентрации мочевины в растворе. Из рис. 4 следует, что кооперативность процесса компактизации ДНК под действием ионов  $\text{Cu}^{2+}$  уменьшается при добавлении мочевины вплоть до  $\sim 0.7-1$  М, при дальнейшем увеличении концентрации мочевины величина  $\Omega$  практически не изменяется. Возможно, это связано с тем, что при добавлении мочевины нарушается упорядоченная структура воды, в том числе входящей в гидратную оболочку ДНК. Таким образом, можно предположить, что кооперативность перехода ДНК в компактное состояние под действием ионов  $\text{Cu}^{2+}$  хотя бы частично опосредована кооперативностью изменений структуры воды.

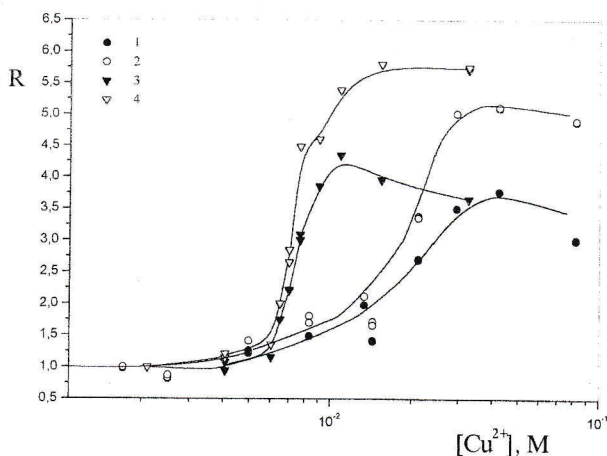


Рис. 5. Зависимости относительного изменения оптической плотности  $R$  от полной концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$  в растворе для полос поглощения при 1090 (1 и 3) и 1223  $\text{cm}^{-1}$  (2 и 4) для комплексов ДНК с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  в 1 М - растворах мочевины с концентрацией ионов  $\text{Na}^+$  -  $7 \times 10^{-2}$  (1 и 2) и  $10^{-3}$  М (3 и 4).

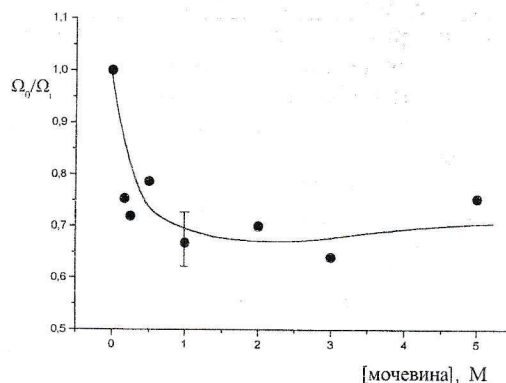


Рис. 4. Зависимость  $\Omega_0/\Omega_i$  от концентрации мочевины в растворе для полосы поглощения при 1090  $\text{cm}^{-1}$ .

На рисунке 5 приведены зависимости относительного изменения оптической плотности  $R$  полос поглощения фосфатных групп ДНК от полной концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$  в растворе для ДНК в 1-молярном растворе мочевины, содержащем различные концентрации ионов натрия. Из рисунка следует, что при увеличении концентрации ионов натрия в растворе до  $\sim 10^{-1}$  М переход ДНК в компактное состояние становится гораздо менее кооперативным и требует значительно большей концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$ . Подобное влияние повышенной концентрации ионов натрия на взаимодействие ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с ДНК может объясняться, во-первых, конкуренцией ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cu}^{2+}$  за места связывания на фосфатах ДНК, и, во-вторых, усилением неспецифического дебай-хюккелевского экранирования зарядов на ДНК. Данные настоящей

работы по связыванию ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с ДНК в водных растворах мочевины согласуются с литературными данными по связыванию ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с ДНК в водных растворах с различной концентрацией ионов  $\text{Na}^+$  [24 и ссылки этой работы]. В частности, в работе [31] показано, что



константа связывания ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с основаниями нативной ДНК при  $10^{-3}$  М  $\text{Na}^+$  в растворе почти на порядок больше константы связывания при  $10^{-2}$  М  $\text{Na}^+$ .

Характер связывания ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с ДНК в водных растворах мочевины в зависимости от концентрации ионов  $\text{Na}^+$ , полученный в настоящей работе, подобен характеру связывания различных ионов ( $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ , спермин, спермидин) с ДНК в водных растворах [32]. Таким образом, связывание ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с ДНК определяет переход ДНК в компактное состояние даже в растворах с измененной структурой воды.

Авторы выражают благодарность проф. Д.Ландо (Институт биоорганической химии АН Беларуси, Минск) за любезно предоставленные препараты ДНК. Работа частично финансировалась за счет гранта Международного фонда «Відродження» № PSU072091 Хакл Е.В.

### ВЫВОДЫ

Во всех исследованных в данной работе растворах мочевины под влиянием ионов  $\text{Cu}^{2+}$  происходит переход ДНК в компактное состояние, причем, как и в водном растворе, этот переход носит кооперативный характер. Показано, что добавление мочевины к водному раствору ДНК понижает концентрацию ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , необходимую для индуцирования компактизации ДНК. Это связано с усилением экранирующего действия противоионов за счет их дегидратации в присутствии мочевины. Вероятно, процесс перехода ДНК в компактное состояние под действием ионов меди определяется не только эффектами диэлектрической проницаемости раствора на связывание ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с биополимером, но и эффектами сольватации, причем при небольших изменениях диэлектрической проницаемости эффекты сольватации могут преобладать.

Добавление мочевины к раствору ДНК также понижает кооперативность процесса компактизации под действием ионов  $\text{Cu}^{2+}$ . Возможно, кооперативность перехода ДНК в компактное состояние хотя бы частично опосредована кооперативностью изменений структуры воды.

При увеличении концентрации ионов натрия в растворе переход ДНК в компактное состояние становится гораздо менее кооперативным и требует значительно большей концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , что может объясняться конкуренцией ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cu}^{2+}$  за места связывания на ДНК. Таким образом, связывание ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с ДНК определяет переход ДНК в компактное состояние даже в растворах с измененной структурой воды.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хакл Е.В., Корнилова С.В., Благой Ю.П. // *Біофізичний вісник*. 1998. № 1. Ст. 62-70
2. Hackl E., Kornilova S., Blagoi Yu. // *Metal ions in biology and medicine*. 1998. V. 5. P. 74-79
3. Hackl E., Kornilova S., Kapinos L. et al. // *J. Mol. Struct.* 1997. V. 408/409. P.229-232
4. Хакл Е.В., Корнилова С.В., Благой Ю.П. // *Вестник проблем биологии и медицины* 1998. N 8. С. 41-51
5. Структура и стабильность биологических макромолекул. - М.:Мир, 1973.- 220с.
6. Веселков А.Н. Влияние внешних факторов на конформацию молекулы нуклеиновой кислоты в растворе. Дис... д-р физ.-мат. наук, Севастополь. 1988. 463 с.
7. Schleich T., Genzler R., von Hippel P. // *J. Amer. Soc.* 1968. V. 90. P. 5954-5960
8. Самойлов О.Я. Структура водных растворов электролитов и гидратация ионов. М.: АН СССР, 1957.- 189 с.
9. Olins D., Bryan P., Harrington R., et al. // *Nucleic Acids Res.* 1977. V. 4(6). P. 1911-1931
10. Chan H.K., Au-Yeung K.L., Gonda I. // *Pharm. Res.* 1996. V. 13(5). P. 756-761
11. Бабаян Ю.С. // *Молек. биол.* 1988. Т. 22. вып. 5. с.1204-1209
12. Klump H., Burkart W. // *Biochim Biophys Acta.* 1977. 475(4). P. 601-604
13. Бабаян Ю.С. Влияние мочевины на конформацию молекулы ДНК. Дис...канд. ф.-м. наук, Ереван, 1980, 120с.
14. Асланян В.М., Бабаян Ю.С., Арутюнян С.Г. // *Биофизика*. 1984. Т. 29. вып. 3. С. 372-376
15. Ling G.N., Ochsenfeld M.M. // *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR.* 1989. V. 21(1). P. 19-44
16. Rose C., Mandal A.V. // *Int. J. Biol. Macromol.* 1996. 18(1-2). P. 41-53
17. From N.V., Bowler B.E. // *Biochemistry.* 1998. 37(6). P. 1623-1631
18. Dotsch V., Wider G., Siegal G., Wuthrich K. // *FEBS Lett.* 1995. V. 372 (2-3). P. 288-290
19. Zama M., Olins D.E., Wilkinson-Singley E., Olins A.L. // *Biochem Biophys Res Comm.* 1978. 85(4). P. 1446-1452
20. Tirado-Rives J., Orozco M., Jorgensen W.L. // *Biochemistry.* 1997. 36(24). P. 7313-7329
21. Dotsch V., Wider G., Siegal G., Wuthrich K. // *FEBS Lett.* 1995. V. 366 (1). P. 6-10
22. Schellman J.A., Gassner N.C. // *Biophys. Chem.* 1996. 59(3). P. 259-275
23. Слоницкий С.В., Лаевский В.В., Фрисман Э.В. // *Мол. биол.* 1980. Т.14. вып. 4. С. 743-752
24. Ю.П.Благой, В.Л.Галкин, Г.О.Гладченко и др. Металлокомплексы нуклеиновых кислот в растворах. Киев: Наукова думка. 1991. - 272 с.
25. Кальвин Н.Н., Вельяминов С.Ю. // *ЖПС*. 1987. N 4. С.592-597
26. Бабушкин А.А., Бажулин П.А., Королев Ф.В. и др. Методы спектрального анализа. М., МГУ. 1962. 273 с.
27. Manning G. // *Q Rev Biophys.* 1978, V. 11(2). P. 179-246
28. Varani G., Della Torre L., Baldini G. // *Biophys Chem.* 1987. 28(3). P.175-181
29. Смольянинова Т.И., Брусков В.И., Кашпарова Е.В. // *Мол. биол.* 1985. Т. 19. вып. 4. С. 992-1000
30. Helene C., Lancelot G. // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 1982. V. 39(1). P. 1-68
31. Sorokin V.A., Blagoi Yu.P., Valeev V.A. et al. // *J. Inorg. Biochem.* 1987. 30. N. 2. P. 87-101.
32. Braunlin W.H., Anderson C.F., Record M.T. Jr. // *Biochemistry.* 1987. V. 1. 26(24). P. 7724-7731.