

УДК 573.3

ТЕКСТУРЫ ПЛЕНОК Na-DNA, ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ РАСТВОРОВ, СОДЕРЖАЩИХ ТРИС И ЭДТА**Г.М. Глибицкий, М.А. Семенов, Д.М. Глибицкий***Институт радиопластики и электроники им. А. Я. Усикова, Национальная академия наук Украины
12, ул. Ак. Проскуры, г. Харьков, 61085, Украина*

Поступила в редакцию 1 августа 2011

Принята 30 сентября 2011

Проведено исследование влияния Трис и ЭДТА на формирование текстуры пленки ДНК. Пленки были получены из растворов соли Na-DNA тимуса теленка с концентрацией 0.2 мг/мл в 10мМ растворе NaCl, а также с разными комбинациями: 10 мМ NaCl и 10 мМ Трис; 10 мМ NaCl и 1 мМ ЭДТА; 10 мМ NaCl, 10 мМ Трис и 1мМ ЭДТА. Погрешность стабилизации температуры составляет 0.5°C, погрешность определения влажности 2-3%. Пленки из растворов Na-ДНК с добавлением 10 мМ NaCl и 10 мМ Трис и пленки полученные из растворов Na-ДНК с добавлением 10 мМ NaCl и 1 мМ ЭДТА не имеют текстур на поверхности после высушивания. Пленки, полученные из раствора Na-ДНК (при концентрации 0.2мг/мл), 10 мМ NaCl, 10 мМ Трис и 1 мМ ЭДТА дают текстуры, аналогичные текстурам холестерического сферолита, которые полностью проявляются через 40-50 часов после изъятия пленки из камеры.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ДНК, ион, раствор, влажность, жидкие кристаллы, пленка.**ТЕКСТУРИ ПЛІВОК Na-DNA, ОТРИМАНІ З РОЗЧИНІВ, ЩО МІСТЯТЬ ТРИС І ЕДТА****Г.М. Глибицкий, М.О. Семенов, Д.М. Глибицкий***Институт радіофізики та електроніки ім. О.Я. Усикова НАН України, вул. Академіка Проскури, 12, м. Харків, 61085*

Проведено дослідження впливу Трис і ЕДТА на формування текстури плівки ДНК. Плівки були отримані з розчинів солі Na-DNA тимуса теляти з концентрацією 0,2 мг/мл в 10мМ розчині NaCl, а також з різними комбінаціями: 10 мМ NaCl і 10 мМ Трис; 10 мМ NaCl та 1 мМ ЕДТА, 10 мМ NaCl, 10 мМ Трис і 1мМ ЕДТА. Похибка стабілізації температури складає 0.5°C, похибка визначення вологості 2-3%. Плівки з розчинів Na-ДНК з додаванням 10 мМ NaCl і 10 мМ Трис і плівки отримані з розчинів Na-ДНК з додаванням 10 мМ NaCl та 1 мМ ЕДТА не мають текстур на поверхні після висушування. Плівки, отримані з розчину Na-ДНК (при концентрації 0.2мг/мл), 10 мМ NaCl, 10 мМ Трис і 1 мМ ЕДТА дають текстури, аналогічні текстурі холестеричного сфероліта, які повністю проявляються через 40-50 годин після вилучення плівки з камери.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ДНК, іон, розчин, вологість, рідкі кристали, плівка.**TEXTURE OF Na-DNA FILMS RECEIVED FROM SOLUTION CONTAINING TRIS AND EDTA****G.M. Glibitskiy, M.A. Semenov, D.M. Glibitskiy***Usikov Institute of Radiophysics and Electronics NAS of Ukraine 12, Ak. Proskura st., Kharkov, 61085, Ukraine*

Influence of Tris and EDTA on the formation of texture of DNA film is examined. The films were obtained from solutions of calf thymus Na-DNA salts with a concentration of 0.2 mg / ml in 10 mM solution of NaCl, as well as with different combinations: 10 mM NaCl and 10 mM Tris; 10 mM NaCl and 1 mM EDTA; 10 mM NaCl, 10 mM tris and 1 mM EDTA. Accuracy of temperature stabilization is 0.5 °C, error of relative humidity determination is 2-3%. Films from solutions of Na-DNA with the addition of 10 mM NaCl and 10 mM Tris and films obtained from solutions of Na-DNA with the addition of 10 mM NaCl and 1 mM EDTA do not have the textures on the surface after drying. The films obtained from the Na-DNA solution (at a concentration of 0.2mg/ml), 10 mM NaCl, 10 mM Tris and 1 mM EDTA give textures similar to cholesteric spherulite textures, which are fully manifested in 40-50 hours after removal of films from the camera.

KEY WORDS: DNA, ion, solution, humidity, liquid crystals, film.

Проведенные ранее исследования показали, что при высоких концентрациях молекулы ДНК образуют жидкокристаллические структуры (ЖК) [1, 2]; известно, что структура и свойства таких структур ДНК исследуются при определенных значениях рН в буферных растворах [3, 4]. В работе [5] было показано, что структура текстуры

пленок, образующихся в результате формирования жидкокристаллического состояния ДНК, зависит от типа ионов металлов. Также показано, что упорядоченные (фрактальные) структуры формируются с такими ионами металлов, как Na, K, Rb; неупорядоченные структуры формируются с ионами металлов мутагенного типа [6, 7]. Однако значительный интерес представляет исследование не только влияния ионов металлов на текстуру пленок ДНК, но и компонентов буферных растворов, в которых обычно проводятся исследования растворов ДНК при определенных значениях pH.

В связи с этим в продолжение работ по исследованию влияния солей металлов нами было проведено исследование влияния на формирование текстуры пленки ДНК таких компонентов буферных растворов, как Трис и ЭДТА.

МАТЕРИАЛЫ И ЭКСПЕРИМЕНТ

Формирование текстур пленок из жидкокристаллического состояния ДНК в присутствии буферных компонент (Трис и ЭДТА) проводили на установке, описанной в работах [1, 2].

Пленки были получены из растворов соли Na-ДНК тимуса теленка с концентрацией 0.2 мг/мл в 10 мМ растворе NaCl (для того, чтобы ДНК находилась в двухспиральном состоянии), а также с разными комбинациями: 10 мМ NaCl и 10 мМ Трис; 10 мМ NaCl и 1 мМ ЭДТА; 10 мМ NaCl, 10 мМ Трис и 1 мМ ЭДТА. Полученный раствор в объеме 0.5 мл заливался в кювету, изготовленную из кварцевого стекла. Площадь кюветы составляет $20 \times 21 \text{ мм}^2$, высота стенок кюветы составляет 1 мм. Кювета помещалась в герметичный сосуд, крышка которого содержит вводы для прокачки воздуха с определенной относительной влажностью (ОВ).

В сосуде также находятся датчики температуры и влажности (волосяной гигрометр). Сосуд помещается в термостат ТХ-50 (рис.1.).

Полученные пленки ДНК при определенных значениях ОВ фотографировались в поляризованном свете. Погрешность стабилизации температуры составляет 0.5°C , погрешность определения влажности 2-3%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ДИСКУССИЯ

Стандартный буферный раствор для исследования свойств Na-ДНК в растворах состоит из смеси Na-ДНК (при концентрациях 0.2-5 мг/мл), 10 мМ NaCl и собственно основных компонент буферного раствора – 10 мМ Трис и 1 мМ ЭДТА, при этом значение pH = 7,6.

Пленки, полученные из растворов Na-ДНК + 10 мМ NaCl + 10 мМ Трис не дают каких-либо текстур на поверхности при высушивании, как и пленки, полученные из растворов Na-ДНК + 10 мМ NaCl + 1 мМ ЭДТА.

На рис. 2 представлена фотография пленки, полученной из раствора, состоящего из состава Na-ДНК + 10 мМ NaCl + 10 мМ Трис + 1 мМ ЭДТА. Из рисунка можно видеть, что на пленке отсутствуют какие-либо текстуры, отражающие формирование ЖК состояния.

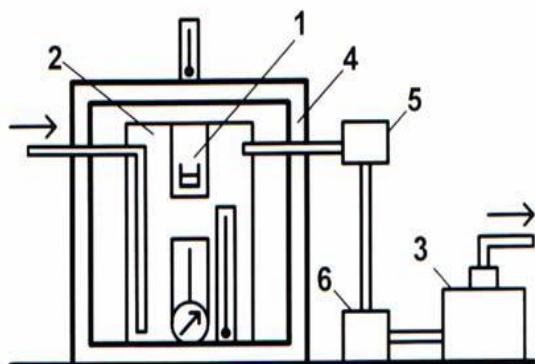


Рис. 1. Схема установки.

1 - ячейка; 2 - сосуд с вводами для прокачки воздуха; 3 - вакуумный насос; 4 - термостат; 5 - манометр; 6 - вакуумный вентиль.

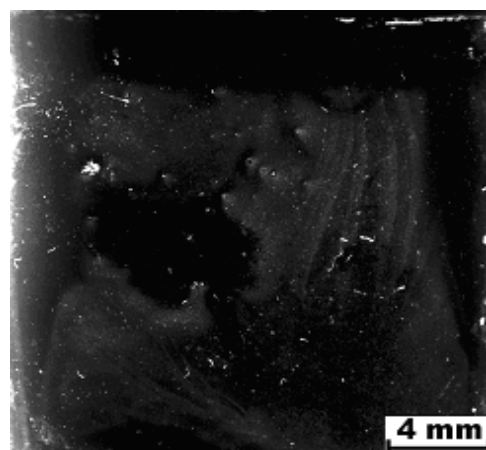


Рис. 2. Фотография пленки, полученной из раствора, содержащего Na-ДНК + 10 мМ NaCl + 10 мМ Трис + 1 мМ ЭДТА сразу после эксперимента. Сушка в течение 3.5 часов. ОВ=40%, T=40°C

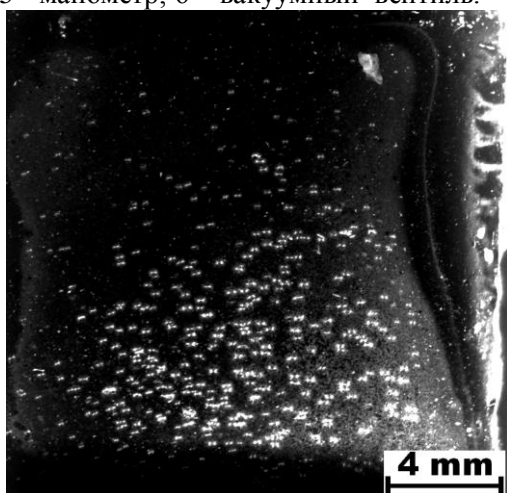


Рис. 3. Фотография той же пленки после выдерживания в течение 20 часов в комнатных условиях при ОВ=60%, T=22°C.

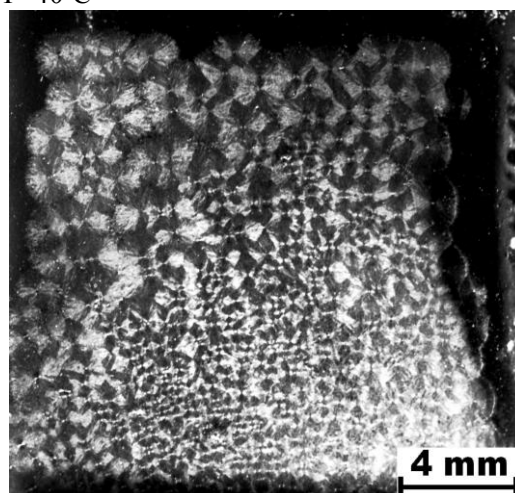


Рис. 4. Фотография пленки через 44 часа.

На рис. 3 представлена фотография пленки, извлеченной из сушильной камеры и выдержанной в течение 20 часов в комнатных условиях при температуре 22°C и влажности 60%. Можно видеть, что на поверхности пленки образовалось множество структур, аналогичных ЖК структурам холестерического типа, занимающие в общей сложности приблизительно 3%±1% площади кюветы. На рис. 4 представлена фотография текстуры той же пленки, полученной через 44 часа после извлечения из сушильной камеры. Как можно видеть из представленных фотографий, площадь текстуры увеличилась до значения приблизительно 65%±10% от площади всей пленки на поверхности кюветы. На рис. 5 и рис. 6 представлены фрагменты рисунков 3 и 4 в увеличенном в 2 раза масштабе. Дальнейшая выдержка пленки во времени в тех же условиях не приводит к изменению текстуры пленки.

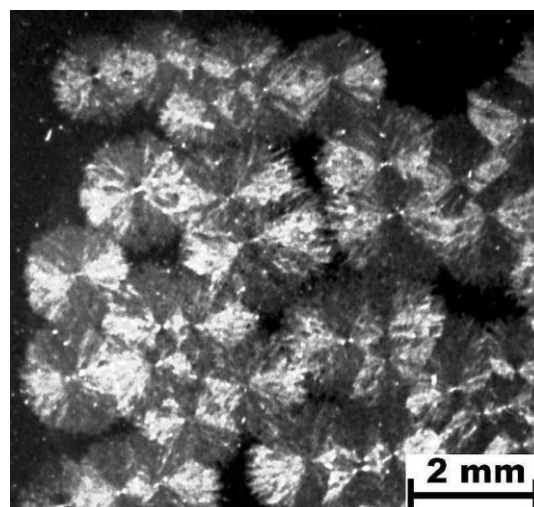
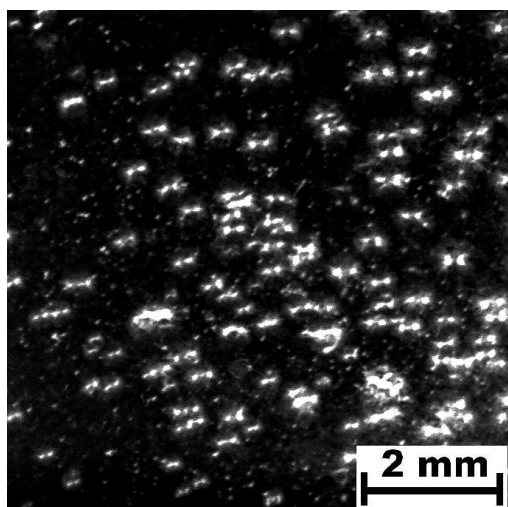


Рис. 4. Фрагмент рис. 2 (увеличение в 2 раза). Рис. 5. Фрагмент рис. 3 (увеличение в 2 раза).

Таким образом, при повышении влажности от 40% (в камере) до 60% (комнатные условия) происходит структуризация пленки, аналог которой имеет место при высушивании растворов Na-ДНК [6] (при концентрации 0.2 мг/мл, 10 мМ NaCl). Известно, что состав подобного типа осуществляет стабилизацию структуры ДНК.

Можно отметить, что выбранные концентрации Трис и ЭДТА (10 мМ и 1 мМ соответственно) широко применяются при исследовании свойств растворов ДНК. Формирование аналогичных структур представлено в работах [8, 9]. Являются ли причиной формирования структур взаимодействие молекул компонент буферного раствора с молекулами ДНК или эффект образования полученных текстур связан со структурированием их комплексов с ДНК, покажут дальнейшие исследования.

ВЫВОДЫ

Пленки, полученные из раствора Na-ДНК (при концентрации 0.2мг/мл), 10 мМ NaCl 10 мМ Трис и 1 мМ ЭДТА дают текстуры, аналогичные текстурам холестерического сферолита, которые полностью проявляются через 40-50 часов после изъятия пленки из камеры.

Однако механизм образования структур, аналогичных структурам холестерических сферолитов с участием Трис и ЭДТА пока не ясен. Определенно можно сказать, что эти вещества, имея многочисленные ОН-группы в структурах Трис и ЭДТА, могут способствовать образованию водородных связей между двухспиральными нитями ДНК, как это имеет место при образовании ЖК молекулами ДНК [1]. Для выяснения механизма образования водородных связей с участием ЭДТА и Трис необходимо провести исследование взаимодействия ДНК с этими веществами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Evdokimov, Ju.M. Dokazatel'stvo obrazovaniya dvuh tipov zhidkokristallicheskih makrofaz molekul DNK / Ju.M. Evdokimov., S.G. Skuridin, N.S. Badaev // DAN SSSR. – 1986. – №286. – S. 997-1000.
2. Davidson M.W. Multiple liquid crystal phases of DNA at high concentration / M.W. Davidson, T.E. Strzelecka, R.L. Rill // Nature. – 1988 – №331. – 457-460 p.
3. Livolant F. Cholesteric liquid crystalline phases given by three helical biological polymers : DNA, PBLG and xanthan. A comparative analysis of their textures / F. Livolant // J. Phys. France. – 1986. – №47. – 1605-1616 p.
4. Pelta J. DNA mesophases induced by spermidine: structural properties and biological implications / J. Pelta, D. Durand, J. Doucet, F. Livolant // Biophys J. – 1996. – №71(1) – 48-63 p.

5. Investigations on the liquid crystalline phases of cation-induced condensed DNA / C.K.S. Pillai, N. Sunderesan, M.P. Radhakrishnan [et al.] // *Pranama - journal of physics*. – 2005. – №4. – 723-729 p.
6. Glibickij G.M. Tekstury plenok, poluchennyh iz rastvorov pri razlichnyh vlazhnostjah i temperaturah / G.M. Glibickij, A.A. Krasnickaja, V.I. Gudzenko // *Biofizychnyj Visnyk HNU*. – 2006. – №1. – S. 89-94.
7. Glibickij G.M. Plenki Na-DNA s ionami metallov / G.M. Glibickij // *Biofizichnij Visnik HNU*. – 2008. – №2. – S. 29-34.
8. Bouligand Y. The organization of cholesteric spherulites / Y. Bouligand, F. Livolant // *J. Phys. France*. – 1984 – №45. – 1899-1923 p.
9. Rill R.L. Liquid crystalline phases in concentrated aqueous solutions of Na⁺ DNA / R.L. Rill // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. – 1986. – №83(2) – 342–346 p.