

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. Глибицький, М.О. Семенов, Д.М. Глибицький

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*21 мм², 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.

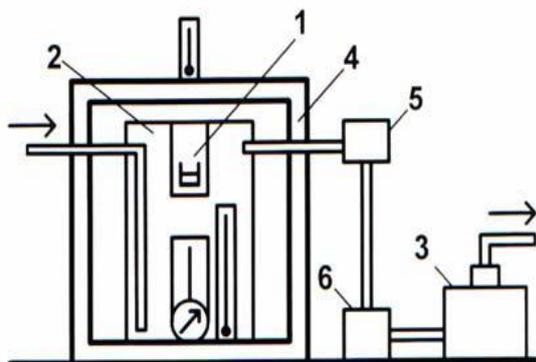


Рис. 1. Схема установки.

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

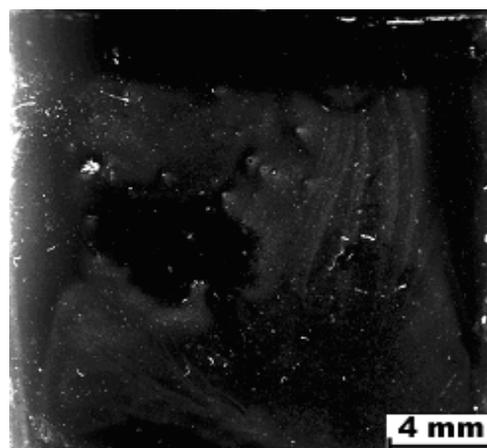


Рис. 2. Фотография пленки, полученной из раствора, содержащего Na-ДНК + 10 мМ NaCl + 10 мМ Трис+ 1 мМ ЭДТА сразу после эксперимента. Сушка в течение 3.5 часов. ОВ=40%, T=40°C

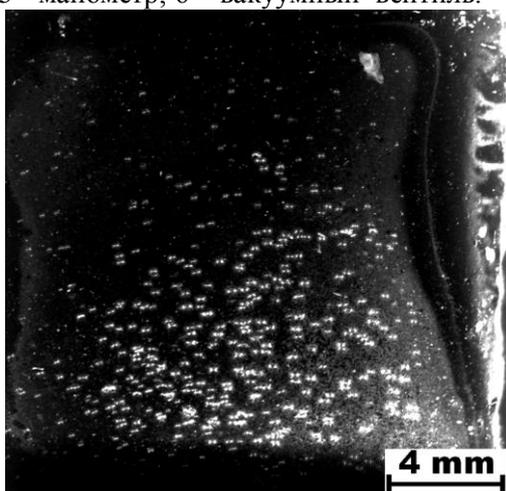


Рис. 3. Фотография той же пленки после выдерживания в течение 20 часов в комнатных условиях при ОВ=60%, T=22°C.

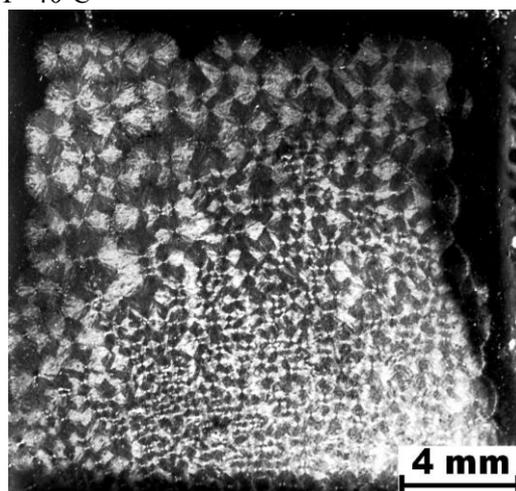


Рис. 4. Фотография пленки через 44 часа.

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 $3\% \pm 1\%$ 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 $65\% \pm 10\%$ 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.

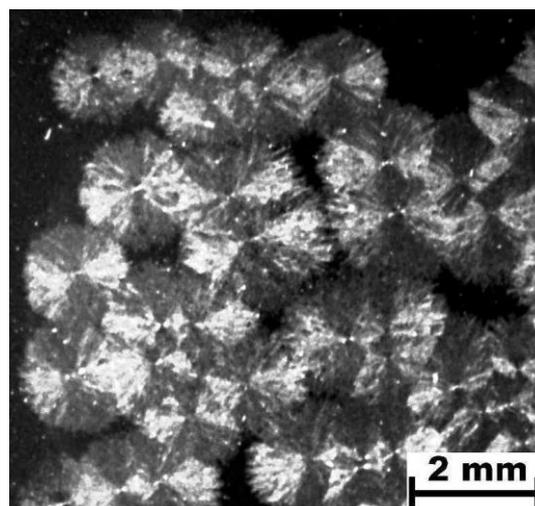
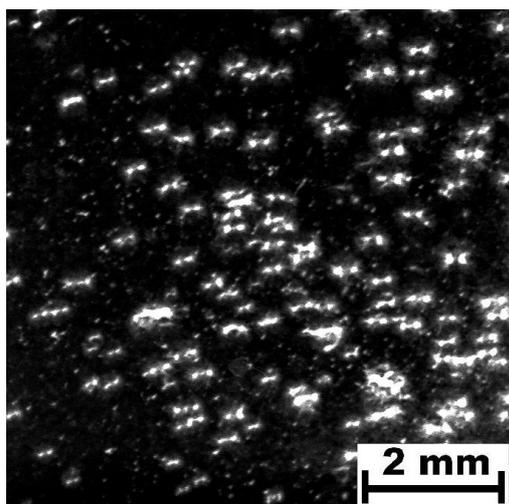


Рис. 4. Фрагмент рис. 2 (увеличение в 2 раза). Рис. 5. Фрагмент рис. 3 (увеличение в 2 раза).

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.