

УДК 577.34

ГИДРАТАЦИЯ КОМПЛЕКСОВ ДНК С ПОЛИАМИНАМИ**О.В. Хорунжая, В.А. Кашпур, В.Я. Малеев***Институт радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины,
ул. Академика Проскуры, 12, г. Харьков, 61085, Украина**E-mail: dubovits@ire.kharkov.ua*

Поступила в редакцию 29 апреля 2009 г.

Принята 11 мая 2009 г.

В миллиметровом диапазоне радиоволн изучены диэлектрические свойства водных растворов спермина, путресцина, комплексов ДНК – путресцин и ДНК – спермин. Для обоих лигандов на основании полученных данных определены степени гидратации и вероятные гидратно-активные центры. Показано, что влияние комплексообразования на диэлектрические свойства растворов обусловлено изменениями в гидратной оболочке ДНК. Обнаружено, что гамма облучение вызывает заметные изменения диэлектрических параметров и величины гидратации раствора комплекса спермина. Гидратационные эффекты проанализированы с помощью современных моделей взаимодействия между ДНК и полиаминами, а также моделей радиозащитного действия полиаминов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ДНК, гидратация, путресцин, спермин, комплекс, гамма облучение, диэлектрометрия.

Полиаминам (ПА) и их взаимодействию с нуклеиновыми кислотами (НК) посвящено значительное количество исследований [1-3]. Важнейшими ПА, содержащимися почти во всех клетках, являются путресцин $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2]$ и спермин $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2]$. Интерес к ПА обусловлен их многими важными свойствами. Они регулируют активность белков, РНК, ДНК и липидов, участвуют в процессах транскрипции и трансляции белкового синтеза, играют важную роль в процессах дифференцировки, роста и размножения клеток.

При нейтральных рН, вследствие протонирования групп NH_2 и NH , молекулы путресцина и спермина имеют, соответственно, два и четыре положительных заряда, которые позволяют этим полиаминам связываться с отрицательно заряженными компонентами клетки: нуклеиновыми кислотами, кислыми белками, АТФ, фосфолипидами, мембранами и др.

Особенно часто полиамины связаны с ДНК, с которой они имеют высокую степень сродства. Спермин и путресцин стабилизируют двуспиральную структуру ДНК и защищают ее от денатурации. Наличие спермина повышает температуру плавления ДНК на величину до 20°C [4]. Именно вследствие взаимодействия с НК осуществляется влияние ПА на различные клеточные системы и процессы.

Характерным свойством полиаминов, обусловленным нейтрализацией и экранированием при комплексообразовании отрицательно заряженных фосфатных групп ДНК, является способность инициировать конденсацию и агрегацию ДНК [5]. При определенных условиях спермин может конденсировать макромолекулу в наночастицы радиусом в 20-100 нм, которые перспективны для осуществления важнейшей задачи генной терапии – транспорт ДНК через мембраны [6]. ПА предохраняет ДНК и другие компоненты клетки от воздействия окислителей и свободных радикалов, уменьшение уровня ПА повышает чувствительность клеток к радиации [7].

Взаимодействие ПА с ДНК является сложным явлением, требующим детального рассмотрения на молекулярном уровне. Однако соответствующих данных недостаточно. Поэтому для выбора между предложенными моделями комплексообразования нужны новые экспериментальные результаты.

Одним из важнейших, но в то же время малоизученных (даже в общих чертах) факторов, влияющих на связывание лигандов с ДНК, является гидратация. Известно, что зависимость термодинамики комплексообразования от состояния воды столь же значительна, как и зависимость от ионной силы, рН и температуры [8]. Поэтому определение гидратации и ее изменений необходимо для понимания механизмов формирования и стабилизации комплекса ДНК – лиганд.

Целью данного исследования является определение степени гидратации комплексов ДНК – путресцин и ДНК – спермин, а также выявление изменений в гидратной оболочке, возникающих в результате воздействия на растворы комплексов гамма-излучения. Для нахождения параметров гидратации используется, как и ранее [9], диэлектрометрия в области миллиметровых длин волн.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали препараты фирмы "Sigma": путресцин (дигидрохлорид), спермин (тетрагидрохлорид), спермин нехлорированный и натриевая соль ДНК, выделенная из тимуса теленка (молекулярная масса свыше 10^7 Да). Ионная сила растворов ДНК составляла 0,08М NaCl, растворов комплексов ДНК с путресцином и спермином – 0,025М NaCl. Отношение числа нуклеотидов к числу молекул лиганда (P/D) в комплексах путресцина равнялось пяти, а спермина – 10. Образование комплекса с требуемым соотношением осуществляли многократным добавлением к раствору ДНК небольших объемов растворов полиамина. Затем проводили тщательное размешивание. Осаждение комплексов спермина, которое может происходить при определенных условиях [5], не наблюдалось. Облучение растворов комплексов проводили на установке "Исследователь" гамма-квантами ^{60}Co при мощности экспозиционной дозы 140 Р/мин. Поглощенная доза радиации составляла 380 Гр.

Дифференциальный метод, примененный для измерения комплексной диэлектрической проницаемости $\varepsilon^* = \varepsilon' + i\varepsilon''$, позволяет надежно определить даже небольшие изменения величины ε^* [9, 10]. Непосредственно, на длине волны $\lambda = 7,6$ мм (частота 39,5 ГГц), находили разности $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$ между коэффициентами затухания α и фазовой постоянной β образца с известной проницаемостью и аналогичными коэффициентами изучаемых образцов (вычитаемые). Измерения проводили многократно, полученные данные усредняли. Из найденных величин с помощью известных электродинамических соотношений вычисляли разности действительных $\Delta\varepsilon'$ и мнимых $\Delta\varepsilon''$ частей соответствующих проницаемостей. Погрешность определения $\Delta\alpha$ составила $\pm 0,0006$ Нп/мм, а $\Delta\beta$ – $\pm 0,0004$ радиан/мм, что соответствует точности определения $\Delta\varepsilon'$ и $\Delta\varepsilon''$ в $\pm 0,005$ и $\pm 0,01$.

Поскольку в препаратах ПА и ДНК содержатся ионы, то экспериментально найденная величина $\varepsilon''_{\text{эксн}}$ состоит из двух составляющих: ε'' (обусловлена дипольной релаксацией молекул воды) и $\delta\varepsilon''$ (обусловлена электропроводностью растворов σ , $\delta\varepsilon'' = \frac{\sigma\lambda}{c}$, где c – скорость света). Для определения ε'' измеряли электропроводность образцов с помощью моста переменного тока Р568. Степень полимерности необлученных и облученных ДНК и комплекса ДНК – спермин оценивали, как и ранее [11], методом электрофореза в агарозном геле.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таблица 1 содержит измеренные при концентрации растворенных веществ c диэлектрические параметры водных растворов ДНК и полиаминов, включая раствор спермина нехлорированного – Спермин (н).

Таблица 1. Диэлектрические свойства ДНК, спермина и путресцина ($\lambda = 7,6$ мм)

Параметр	ДНК	Путресцин·2НСІ	Спермин (н)	Спермин·4НСІ
$c, \%$	0,64	3,47	0,8	1,4
$\Delta\alpha$	0,0138	0,0159	0,0269	0,0135
$\Delta\beta$	0,0114	0,084	0,0372	0,0442
$\Delta\varepsilon'$	0,041	0,77	0,235	0,355
$\Delta\varepsilon''$	0,29	3,44	0,5	1,17
$\lambda_s, \text{мм}$	16,16	15,18	16,27	16,03
$\Delta\varepsilon_s$	1,09	4,98	1,31	1,81
$\Delta\varepsilon_s^{*a)}$	1,70	1,44	1,64	1,29
n	16	4-5	5	7-8

а) $\Delta\varepsilon_s^*$ – значения $\Delta\varepsilon_s$ в пересчете на концентрацию образца 1%.

В Таблице 2 представлены аналогичные параметры водных растворов комплексов ДНК с путресцином (ДНК – Путр) и спермином (ДНК – Сп), а также растворов гамма-облученных комплексов: ДНК – Путр (Р) и ДНК – Сп (Р).

Таблица 2. Диэлектрические свойства растворов комплексов ДНК с ПА

Параметр	ДНК – Путр	ДНК – Путр (Р)	ДНК – Сп	ДНК – Сп (Р)
$c, \%$	0,658	0,658	0,625	0,625
$\Delta\alpha$	0,0151	0,0154	0,136	0,0111
$\Delta\beta$	0,0292	0,028	0,007	0,0006
$\Delta\varepsilon'$	0,215	0,20	-0,005	-0,055
$\Delta\varepsilon''$	0,4	0,39	0,25	0,20
$\lambda_s, \text{мм}$	16,31	16,3	16,12	16,09
$\Delta\varepsilon_s$	0,92	0,95	1,1	1,03
$\Delta\varepsilon_s^{*a)}$	1,40	1,44	1,76	1,65
n	12 - 13	12 - 13	18	16 - 17

а) $\Delta\varepsilon_s^*$ – значения $\Delta\varepsilon_s$ в пересчете на концентрацию образца 1%.

Основными параметрами теории Дебая полярных жидкостей: являются величины ε_s и λ_s : ε_s – низкочастотный предел ε' в области дипольной дисперсии, λ_s – релаксационная длина волны, соответствующая центральной частоте дисперсии. Для воды, в которой нет дополнительных низкочастотных областей дисперсии, $\varepsilon_s = \varepsilon_0$, где ε_0 – статическая диэлектрическая проницаемость. Значения ε_s и λ_s не зависят от частоты, на которой проводятся измерения. Они однозначно связаны с ε' и ε'' соотношениями:

$$\varepsilon_s = \varepsilon' + \frac{\varepsilon''^2}{(\varepsilon' - \varepsilon_\infty)} \quad \text{и} \quad \lambda_s = \frac{\lambda \varepsilon''}{\varepsilon' - \varepsilon_\infty}.$$

Здесь ε_∞ – высокочастотный предел ε' в области дисперсии.

Значения $\Delta\varepsilon'$, $\Delta\varepsilon''$ и $\Delta\varepsilon_s$ представляют собой разности соответствующих параметров воды и образцов. Для нахождения параметров воды использована обзорная статья Эллисона с соавторами [12]. Приведенная в ней интерполяционная схема, учитывающая основные опубликованные результаты, позволяет определить диэлектрические характеристики воды в диапазонах $0 < f < 100$ ГГц и $0 < T < 60$ °С. Расчет по схеме показывает, что при $T = 23$ ° С на длине волны 7,6 мм $\varepsilon_s = 80,5$; $\lambda_s = 17,8$; $\varepsilon_\infty = 5,7$; $\alpha = 2,72$; $\beta = 4,95$; $\varepsilon' = 17,2$; $\varepsilon'' = 26,9$.

Молекулы HCl не только обуславливают электропроводность образцов, но и понижают значение их диэлектрической проницаемости. Поэтому из экспериментально определенной разницы $\Delta\varepsilon_s$, вычтен (с учетом молярной концентрации в растворе [13]) вклад HCl. Для Na⁺ подобной процедуры не проводилось, так как эти катионы являются элементом структуры ДНК.

Полагая, что разность $\Delta\varepsilon_s$ в случае малых концентраций является линейной функцией объема биомолекул и связанной воды [14, 15], мы находили, как и ранее [10,11], степень гидратации ω (в г воды на 1 г растворенного вещества):

$$\Delta\varepsilon = pc[(\varepsilon_s - \varepsilon_\infty^B)\nu + (\varepsilon_s - \varepsilon_\infty^{H_2O})\omega],$$

где p – коэффициент пропорциональности; ε_∞^B и $\varepsilon_\infty^{H_2O}$ – высокочастотные пределы величины ε' биомолекул (~ 4 , [16]) и воды (~ 5 , [12]). Величины ε_∞^B и $\varepsilon_\infty^{H_2O}$ малы и практически неизменны при обычных физиологических процессах. Величина ν – удельный парциальный объем растворенных веществ: 0,581 для ДНК [17], 0,848 и 0,805 для путресцина и спермина, соответственно (определены нами с помощью пикнометрических измерений).

В последних строках таблиц гидратация выражена в виде числа n молекул связанной воды на одну молекулу ПА (столбцы, относящиеся к ПА в табл. 1) или на один нуклеотид ДНК (остальные столбцы)). Точность числа n , рассчитанная из погрешностей $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$, составляет одну молекулу воды. Значение $n = 16$ для ДНК соответствует принятому значению степени гидратации ДНК: 13-20 молекул связанной воды на один нуклеотид [17].

Из табл. 1 видно, что с молекулой нехлорированного спермина связаны пять молекул воды. Поскольку группы CH₂ не образуют водородных связей и не заряжены, то они не могут оказывать влияния на структуру воды. Единственными сайтами, связывающими молекулы растворителя, могут быть только две протонированные аминные NH₃⁺ группы и две иминные группы NH. У тетрагидрохлорида спермина гидратация возрастает до 7-8 молекул воды. Гидратация тетрахлорида спермина существенно больше, чем гидратация нехлорированного спермина: она составляет 7-8 молекул воды. В растворах тетрахлорида спермина наблюдается также значительное увеличение электропроводности; а часть анионов Cl⁻ оказывается, как известно [3], ассоциированной с поликатионом.

Гидратация путресцина, соединенного с двумя молекулами HCl, согласно нашим результатам, составляет 4-5 молекул воды. Уменьшение по сравнению с гидратацией тетрахлорида спермина соответствует меньшему числу центров связывания воды у дигидрохлорида путресцина. По-видимому, гидратация обоих полиаминов носит в основном ионный характер. Однако следует отметить, что число молекул воды, связанных с ПА (за вычетом тех водных молекул, которые связаны с HCl), приблизительно соответствует числу возможных водородных связей, которые могут образовывать спермин и путресцин.

Из табл. 2 следует, что декременты статической диэлектрической проницаемости (и, очевидно, связанные с ними другие диэлектрические параметры) обоих образовавшихся комплексов не являются аддитивными суммами величин декрементов компонентов. Видно также, что гамма облучение влияет на величины диэлектрических характеристик, причем характер происходящих изменений зависит от вида полиамина.

Обнаруженные эффекты не могут объясняться изменением диэлектрических свойств биомолекул, так как в миллиметровом диапазоне практически не поглощают ни ДНК и ее послерадиационные фрагменты [19], ни полиамины (молекулы последних гораздо тяжелее даже молекул воды, для которой релаксационная длина волны равна 1,8 см при $T = 23$ °С). Известно также, что взаимодействие с ПА не влияет на основные элементы, структуры ДНК, хотя и вызывает изгиб ее спирали [6, 20]. С другой стороны, диэлектрические проницаемости свободной воды и связанной воды между собой существенно отличаются. Поэтому увеличение или уменьшение декремента диэлектрической проницаемости может свидетельствовать только об изменении соотношения между количествами этих двух фракций, так что меньшая величина разности $\Delta\epsilon_s^*$ для комплекса ДНК – путресцин по сравнению с разностями $\Delta\epsilon_s^*$ для компонентов указывает на дегидратацию при комплексообразовании. Наоборот, увеличение разности при формировании комплекса ДНК – спермин указывает на увеличение количества связанной воды.

Из табл. 2 следует, что в комплексе ДНК – путресцин каждый нуклеотид связывает 12-13 молекул воды. Если учесть, что одна молекула путресцина приходится на пять нуклеотидов, то суммарная гидратация одного нуклеотида в случае аддитивности должна составлять около 17 молекул воды. Следовательно, при комплексообразовании около 25% воды, ранее связанной с ДНК и лигандом, переходит в свободное состояние. Полученные результаты дают аргументы для выбора адекватной модели комплекса ДНК – путресцин.

В настоящее время имеются разные взгляды на характер взаимодействия нуклеиновых кислот с полиаминами. Согласно одной точке зрения, ПА находятся в малом желобке, в области близкой к поверхности макромолекулы. В этой области между протонированными группами NH_3^+ и отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК имеется очень сильное электростатическое взаимодействие. При этом считается, что контакт с основаниями отсутствует. [2, 4]. Согласно другому представлению, такие факты, как наличие зависимости констант связывания ПА с ДНК от вторичной структуры ДНК и обнаружение в некоторых рентгенографических работах молекул спермина вдоль главного желобка, указывают на взаимодействие ПА не только с фосфатными группами, но и с основаниями [21-24].

Существенным является также вопрос: молекулы полиаминов в комплексах непрерывно перемещаются вдоль ДНК, или они в течение длительного времени связаны с определенными сайтами. Отметим, что в случае справедливости первого утверждения ПА могут рассматриваться как вещества, которые потенциально пригодны для доставки лекарственных вещества к месту действия.

Уменьшение диэлектрического декремента при комплексообразовании (и соответствующее значительное уменьшение степени гидратации) говорит о том, что между ДНК и поликатионом путресцином действуют не только кулоновские силы. Действительно, катион Na^+ , например, при чисто электростатическом взаимодействии с фосфатными и другими сайтами ДНК притягивает и координирует молекулы воды, формируя гидратную структуру аналогичную той, которая существует вокруг этого иона в чистой воде [22]. Более того, при контакте ионов Na^+ с некоторыми участками ДНК образуются даже дополнительные локализованные (мостиковые) молекулы воды. Поэтому наблюдаемая нами дегидратация вероятнее всего обусловлена тем, что в

комплексе происходит не только электростатическое взаимодействие путресцина с фосфатными группами, но и вместо части связей путресцин – вода и ДНК – вода формируются связи ДНК – путресцин.

Такой вывод соответствует данным спектроскопии комбинационного рассеяния и данным ИК спектроскопии [23, 24], из которых следует, что группы NH_3^+ путресцина взаимодействует как с группами PO_2^- , так и с некоторыми сайтами всех четырех видов оснований. Следует также учесть, что малые размеры позволяют путресцину находиться как в главном, так и в малом желобках.

Однако большая величина уменьшения декремента не может полностью объясняться указанными взаимодействиями (например, гидратация оснований не превосходит одной–двух молекул воды [22]). Контакт с дезоксирибозой отрицается во всех рентгенографических и спектроскопических работах. В то же время фактором, способствующим увеличению дегидратации при комплексообразовании, может быть гидрофобное взаимодействие. Поэтому представляются обоснованными те модели, согласно которым углеводородные группы полиаминов вытесняют растворитель из малого желобка (в том числе в результате взаимодействия с метильными группами тимина и дезоксирибозы [22-24]), делая молекулы воды более подвижными и менее упорядоченными в местах контакта ПА с ДНК. Показано, что присутствие молекулы путресцина в соли Na-DNA эквивалентно для подвижности воды добавке пяти свободных молекул воды [25].

Полученные результаты (табл. 2) указывают также на то, что при формировании комплекса ДНК – спермин, в отличие от формирования комплекса ДНК – путресцин, проявляется тенденция к повышению количества связанной воды: степень гидратации комплекса ($n \approx 18$) несколько больше, чем сумма гидратационных чисел ДНК и спермина ($n \approx 16-17$). Отсутствие дегидратации при комплексообразовании может быть обусловлено слишком малым временем пребывания молекул спермина на центрах гидратации макромолекулы. Такой фактор соответствует предполагаемой в некоторых работах высокой подвижности молекул спермина, быстро диффундирующих (или перепрыгивающих) по многочисленным изоэнергетическим сайтам ДНК, с которыми они могут устанавливать водородные связи [2, 22, 26]. Именно отсутствием прочных, долгоживущих связей между спермином и ДНК Королев с соавторами объясняют тот факт, что молекулы спермина надежно не обнаруживаются при исследовании их комплексов с ДНК методами рентгенографии и ЯМР [28].

Возникает вопрос, почему, тем не менее, нами наблюдается уменьшение количества связанной воды в комплексе ДНК – путресцин. Вероятной причиной отличия является меньшая степень делокализации полиаминов (и одновременное увеличение резидентного времени) при уменьшении числа их метильных групп (например, с четырех у спермина до двух у путресцина) [6, 25]. Кроме того, расчетами методом молекулярной динамики показано, что спермин существенно слабее, чем путресцин, взаимодействует с основаниями [25].

Как видно из табл. 2, воздействие гамма излучения приводит к уменьшению декремента комплекса ДНК – спермин, что указывает на уменьшение количества воды, связанной с этим комплексом. Соответствующий расчет показывает, что радиационная дегидратация составляет около 10%. Подобный эффект был ранее обнаружены при облучении растворов ДНК [10]. Тогда, как показал анализ послерадиационных изменений инфракрасных спектров, электрофореграмм и электропроводности, наряду с дегидратацией происходят нарушения структуры и степени полимерности ДНК, обусловленные образованием разрывов в макромолекуле [10, 27]. С другой стороны, после облучения раствора комплекса ДНК – кофеин, когда нами не было обнаружено изменений в гидратной оболочке, структура ДНК также оставалась интактной [11].

Можно полагать, что и в случае комплекса ДНК – спермин послерадиационное уменьшение гидратации сопровождается нарушениями нативного состояния ДНК. Этот вывод подтверждается значительной фрагментацией ДНК в послерадиационном комплексе, выявленной с помощью электрофореза (рис.1). Полученный результат важен для понимания механизма протекторного действия спермина.

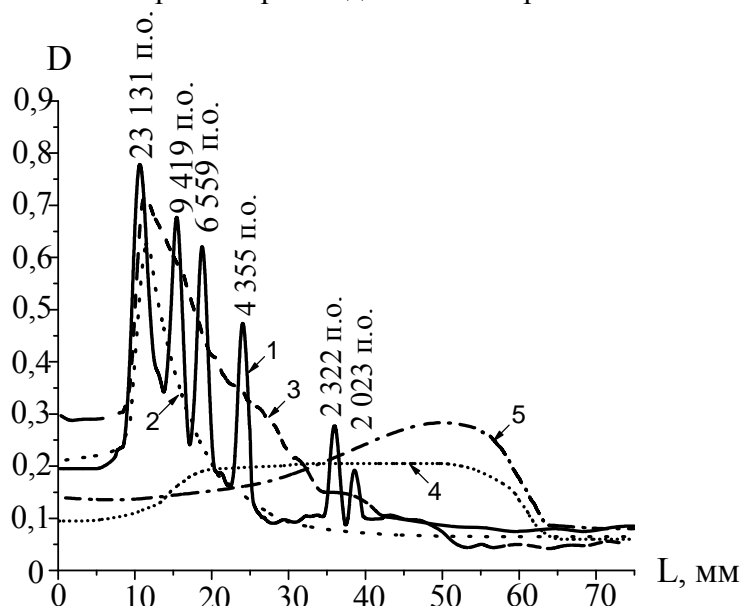


Рис. 1. Денситометрические кривые образцов: 1 – маркер рестрикт ДНК фага λ -Hind III; 2 – ДНК из тимуса телят; 3 – комплекс ДНК – спермин; 4 – ДНК из тимуса телят, облученная в дозе 380 Гр; 5 – комплекс ДНК – спермин, облученный в дозе 380 Гр.

В настоящее время установлено, что спермин может защищать ДНК от радиационного воздействия [7, 28]. В качестве механизмов протекторного эффекта рассматривались: 1) поглощение спермином свободных радикалов, особенно гидроксильных радикалов [29, 30]; 2) снижение доступности сайтов ДНК для атаки свободными радикалами, что обусловлено связыванием спермина с ДНК и последующими процессами компактизации и агрегации [31, 32]; 3) включенность ПА в процессы репарации ДНК [33]. Из результатов, полученных в перечисленных работах, следует, что, хотя репарационные процессы и важны для эффективности защиты от радиации, протекторная функция ПА по первому и/или второму механизмам может считаться установленной.

В данной работе молекулы спермина могут поглощать свободные радикалы, но в то же время концентрации ДНК и спермина заметно отличаются от тех значений, при которых возможны компактизация и агрегация. Действительно [3, 6, 34], компактизация происходит при малых концентрациях ДНК (ниже 1мкг/мл), когда в результате конденсации изолированных макромолекул образуются агрегаты сферической или тороидальной формы, в которых ДНК упакована в гексагональные структуры. Агрегация имеет место при высокой концентрации спермина и степени нейтрализации зарядов ДНК противоионами близкой к 90%. Тогда в соответствии с теорией конденсации Маннинга происходит агрегация многих макромолекул, приводящая к уменьшению доступной поверхности, а также к образованию кристаллических и жидкокристаллических структур [35, 36].

Из экспериментальных результатов, полученных Распо с соавторами [36] следует, что при используемой нами концентрации ДНК в 18 мМ для агрегации комплекса необходимо не менее 0,005 М спермина. Последняя величина гораздо больше концентрации в 0,002 М, которая присутствовала в наших растворах. Таким образом,

можно считать, что ключевым фактором, обуславливающим защитное действие спермина, является происходящее под влиянием ПА существенное уменьшение доступности поверхности ДНК. Отсутствие компактизации и агрегации, сохраняющаяся доступность ДНК для взаимодействия с растворителем и с возникшими в нем послерадиационными свободными радикалами и приводят, несмотря на возможность поглощения последних, к частичному разрушению гидратной оболочки и структуры ДНК в составе комплекса.

Декремент диэлектрической проницаемости комплекса ДНК – путресцин после гамма облучения почти не изменился, так что в этом случае нет заметного изменения количества связанной воды.

Поскольку путресцин обладает гораздо меньшим противорадиационным действием по сравнению со спермином (или совсем не оказывает такого действия) [36], то отсутствие влияния облучения на степень гидратации не может свидетельствовать о сохранении интактной структуры ДНК после облучения. По-видимому, радиационное воздействие приводит к двум компенсирующим друг друга эффектам: к разрушению гидратной оболочки нуклеиновой кислоты и к образованию новых свободных молекул воды, появляющихся вследствие разрыва тех связей, которые возникли между путресцином и макромолекулой при комплексообразовании. Возможность обоих процессов обусловлена отсутствием в этом случае компактизации ДНК, что является следствием нейтрализации не более 50% фосфатов нуклеиновой кислоты в комплексе ДНК – путресцин [37]. Однако данный вопрос нуждается в дополнительном изучении.

ВЫВОДЫ

В миллиметровом диапазоне радиоволн измерены диэлектрические параметры и величины гидратации водных растворов полиаминов путресцина и спермина и их комплексов с ДНК. Найдены величины изменения гидратации, сопровождающие процесс комплексообразования. Указаны вероятные гидратно-активные центры. Для комплекса ДНК – спермин обнаружено влияния гамма облучения на количество воды, связанной с ДНК. Показано, что сведения о состоянии гидратных оболочек биомолекул, полученные с помощью диэлектрических измерений, важны для построения моделей молекулярных механизмов комплексообразования.

Авторы выражают благодарность О.Т. Николову за проведение облучения образцов, А.А. Красницкой и Г.М. Глибицкому за помощь в проведении электрофореза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pegg A.E. // *Cancer Res.* 1988. V.48. P.759-774.
2. Deng H., Bloomfield V.A., Benevides J.M. et al. // *Nucleic Acids Res.* 2000. V.28. P.3379-3385.
3. Raspaud E., Durand D., Livolant F. // *Bioph. J.* 2005. V.88. P.392-403.
4. Liquori A.M., Constantino L., Crescenzi V. et al. // *J. Mol. Biol.* 1967. V.24. P.113-122.
5. Teif V. B. // *Bioph. J.* 2005. V.89. P.2574-2587.
6. Vijayanathan V., Thomas T., Antony T. // *Nucleic Acids Res.* 2004. V.32. P.127-134.
7. Rider J. E., Hacker A., Mackintosh C. A. et al. // *Amino Acids.* 2007. V.33. P.231-240.
8. Qu X., Chaires J. B. // *J. Am. Chem. Soc.* 2001. V.123. P.1-7.
9. Кашпур В.А., Малеев В.Я., Щеголева Т.Ю. // *Молекулярная биология.* 1976. Т.10. С.568-575.
10. Кашпур В.А., Дубовицкая О.В., Красницкая А.А., Малеев В.Я. // *Радиофизика и электроника.* 1997. Т.2. С.153-155.
11. Хорунжая О.В., Кашпур В.А., Красницкая А.А., Малеев В.Я. // *Біофіз. вісник.* 2005. Вип.1(15). С.68-72.
12. Ellison W.J., Lamkaouchi K., Moreau J.-M. // *J. Molec. Liquids.* 1996. V.68. P.171-279.
13. Ахадов Я.Ю. Диэлектрические свойства бинарных растворов. М.: Наука. 1977. 400 с.
14. Buchanan T.J., Haggis G.M., Hasted J.B et al. // *Proc. Roy. Soc.* 1952. V.A213. P.379-391.
15. Wei Y., Sridhar S. // *IEEE. MTT-S Digest.* 1992. P.1271-1274.
16. Mashimo S., Kuwabara S., Yagihara S., et al. // *J. Phys. Chem.* 1987. V.91. P.6337-6338.

17. Бреслер С.Е. Введение в молекулярную биологию. М.: Наука. 1970. 580 с.
18. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. 1987. М.: Мир. 584 с.
19. Maleev V.Ya., Kashpur V.A., Glibitsky G. M. et al. // *Biopolymers*. 1987. V.26. P.1965-1970.
20. Feuerstein B.G., Pattabiraman N, Marton L.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1986. V.83. P.5948-5952.
21. Drew H.R., Dickerson R.E. // *J. Mol. Biol.* 1981. V.151. P.535-556.
22. Korolev N., Lyubartsev A.P., Laaksonen A. // *Bioph. J.* 2002. V.82. P.2860-2875.
23. Ruiz-Chica J., Medina M.A., Sanchez F. // *Bioph. J.* 2001. V.80. P.449-454.
24. Quameur A.A., Tajmir-Riahi H.-A. // *J.Biol.Chem.* 2004. V.279. P.42041-42054.
25. Korolev N., Lyubartsev A.P., Laaksonen A. // *Nucleic Acids Res.* 2003. V.31. P.5971-5981.
26. Williams L.D., Frederick C.A., Ughetto G. et al. // *Nucleic Acids Res.* 1990. V.18. P.5533-5541.
27. Хорунжая О.В., Семенов М.А., Кашпур В.А. // *Біофіз. вісник*. 2001. Вип.1(8). С.37-41.
28. Spothem-Maurizot M, Ruiz S, Sabattier R, et al. // *Int. J. Radiat. Biol.* 1995 V.68. P.571-577.
29. Ha H.C., Sirisoma N.S., Kuppusamy P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. V.95. P.11140-11145.
30. Das K. C., Misra H.P. // *Molec. and Cell. Biochemistry*. 2004. V.262. P.127-133.
31. Douki T., Bretonniere Y., Cadet J. // *Radiat Res.* 2000. V.153. P.29-35.
32. Newton G.L, Aguilera J.A., Ward J.F. *et al.* // *Radiat Res.* 1996. V.145. P.776-80.
33. Gerner E.W., Tome M.E., Fry S.E. *et al.* // *Cancer Research* 1988. V.48. P.4881-4885.
34. Saminathan M.T. Thomas T., Shirahata A. // *Nucleic. Acids Res.* 2002. V.30. P.3722-3731.
35. Manning G.S. // *Q. Rev. Biophys.* 1978. V.11. P.179-246.
36. Raspaud E.M., Olvera de la Cruz M., Sikorav J.-L. // *Bioph. J.* 1998. V.74. P.381-393.
37. Burton D.R., Forsen S., Reimarsson P. // *Nucleic Acids Res.* 1981. V.9. P.1219-1228.