

УДК 573.3

ЗАВИСИМОСТЬ ТЕРМОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И РАСТВОРИМОСТИ ДНК ОТ СОДЕРЖАНИЯ ВОЗДУХА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Пивоваренко Ю.В., Мартынюк В.С.

Киевский национальный университет им. Т.Шевченко
e-mail: mavis@science-center.net

Поступила в редакцию 19.05.2009

Показано, что терморезистентность и растворимость ДНК зависят от содержания воздуха в её водных растворах. Обнаруженные эффекты требуют пересмотра наших представлений о процессах, происходящих в водных растворах биологических молекул, в частности при термической денатурации ДНК.

Ключевые слова: раствор ДНК, денатурация, гиперхромный эффект.

ВВЕДЕНИЕ

Традиция игнорировать присутствие воздуха в водных растворах нуклеиновых кислот (НК) была заложена их первооткрывателями [1, 2]. К сожалению, такая традиция сохранилась и после публикации результатов исследований, доказывающих влияние активных форм кислорода и азота, основных компонентов воздуха, на свойства различных веществ биологического происхождения [3, 4]. Вопрос о зависимости свойств НК от присутствия воздуха в их водных растворах, насколько нам известно, остаётся без ответа.

В своей работе мы предприняли попытку оценить степень влияния растворённого воздуха на величину гиперхромного эффекта, наблюдаемого при термической денатурации ДНК. Хорошо известно [1, 2], что нагревание растворов ДНК от 20 до $\sim 95^\circ\text{C}$ приводит к ее денатурации, это процесс сопровождается увеличением оптической плотности растворов ДНК на полосе поглощения азотистых оснований с $\lambda_{\text{max}}=260$ нм. Этот оптический гиперхромный эффект традиционно связывают с нарушением стэкинг-взаимодействий между основаниями ДНК [1, 2] и традиционно не рассматривают участие в этом процессе растворённого воздуха, химическая активность компонентов которого также возрастает при нагревании раствора [5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовалась натриевая соль тимусной ДНК (Fluka, Швейцария). При приготовлении исходного раствора Na-ДНК использовали свежеприготовленную дистиллированную воду. Концентрация ДНК в исходном

(базовом) растворе подбирали таким образом, чтобы его оптическая плотность была равна 1,0. Для получения растворов с разной концентрацией воздуха 1 мл базового раствора Na-ДНК смешивали с 9 мл воды, имеющей различное содержание растворённого воздуха. Воду с различным содержанием растворённого воздуха получали смешиванием дистиллированной воды, хранившейся при атмосферном давлении, с дегазированной дистиллированной водой, находящейся не менее 10 час. в вакуумном эксикаторе под давлением ~ 20 мм рт. ст. Таким образом были получены растворы ДНК с содержанием воздуха в диапазоне 0 - 90 % от исходного. Раствор ДНК в максимально дегазированной воде готовился смешиванием 100 мкл концентрированного раствора Na-ДНК (10 е.о.п.) с 9,9 мл воды, содержащей разное количество воздуха.

Термическую денатурацию ДНК проводили инкубацией растворов в течение 5 мин. на водяной бане при температуре 95°C . Предварительные измерения показали, что такого нагревания достаточно для достижения максимальной величины гиперхромного эффекта.

Величины гиперхромных эффектов рассчитывались по известной формуле [2].

Математическую обработку результатов проводили на основе общепринятых алгоритмов вариационной статистики [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования представлены на рисунке 1. Из обнаруженной зависимости следует, что увеличение содержания воздуха в растворе ДНК коррелирует с

увеличением величины гиперхромного эффекта, наблюдаемого при нагревании раствора.

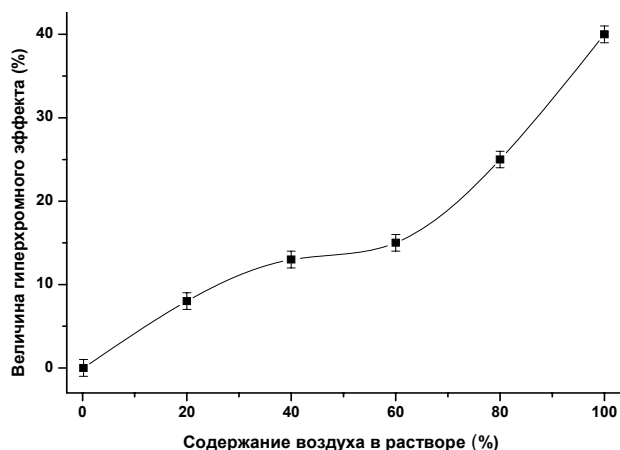


Рис. 1. Величина гиперхромных эффектов при нагревании растворов ДНК с различным содержанием воздуха.

Основываясь на общепринятых представлениях о природе гиперхромного эффекта в растворах ДНК можно сделать вывод о том, что уменьшение содержания воздуха в растворах ДНК приводит к увеличению её терморезистентности.

Как показали дальнейшие исследования, растворимость ДНК в воде также зависит от содержания в ней воздуха. В частности, было обнаружено, что в воде, выдержанной в течение 10 час. под давлением 20 мм. рт. ст., сухие волокна Na-ДНК не растворяются даже после продолжительного перемешивания. Таким образом, наличие воздуха в растворе является одним из ключевых факторов, определяющих физико-химические свойства растворов ДНК и, вероятно,

других биологических макромолекул. Вполне возможно, что присутствующий воздух в первую очередь влияет на свойства воды как растворителя и организатора нативной структуры биополимеров. Данные результаты имеют важное значение для экспериментальной биологии, поскольку в присутствии неорганических солей, которые используются в разных буферных системах, растворимость газов в водных растворах уменьшается, а в присутствии органических - увеличивается [5].

ВЫВОДЫ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что физико-химические свойства растворов ДНК зависят от содержания в них воздуха. Это обстоятельство следует учитывать в экспериментальной работе.

Литература

1. Шабарова З.А., Богданов А.А. Химия нуклеиновых кислот и их компонентов. - Москва: Химия, 1978. - 584 с.
2. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. - Москва: Мир, 1985. - 584 с.
3. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии // Биохимия. - 2004, - № 69, вып.1, - С.5 - 7.
4. Владимиров Ю.А. Осипов А.Н., Клебанов Г.И. Фотобиологические основы терапевтического применения лазерного облучения // Биохимия. - 2004, - т. 69, № 1. - С 103-113..
5. Некрасов Б.В. Основы общей химии. - Санкт-Петербург: Лань, 2003. - 976 с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М.:Высшая школа, 1980. - 293 с

ЗАЛЕЖНІСТЬ ТЕРМОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ТА РОЗЧИННОСТІ ДНК ВІД ВМІСТУ ПОВІТРЯ В ВОДНИХ РОЗЧИНАХ

Пивоваренко Ю.В., Мартинюк В.С.

Показано, що терморезистентність та розчинність ДНК залежать від вмісту повітря в водних розчинах. Виявлені ефекти потребують перегляду наших уявлень про процеси, що відбуваються в водних розчинах біологічних молекул, зокрема при термічній денатурації ДНК.

Ключові слова: розчин ДНК, денатурація, гіперхромний ефект.

DEPENDENCE OF DNA THERMORESISTANCE AND SOLUBILITY ON CONTENT OF THE AIR IN WATER SOLUTIONS

Pyvovarenko Yu.V., Martynyuk V.S.

It was shown that thermoresistance and solubility of DNA depend on content of the air in solutions. This correlation prescribes necessity for new interpretation of processes which occur during DNA thermal denaturation.

Key words: DNA solution, denaturation, hyperchromic effect.