



УДК 535.343.3.577.323

В. А. Сорокин, В. А. Валеев, Е. Л. Усенко

Термодинамика взаимодействия ионов Zn^{2+} с природной ДНК в условиях $B \rightarrow t$ перехода

(Представлено академиком НАН Украины Н. Ф. Харченко)

Методами видимой и дифференциальной УФ-спектроскопий изучена зависимость степени металлизации В-ДНК от ее концентрации при фиксированных концентрациях этидиума бромид (5 мкМ) и ионов Zn^{2+} (0,2 мМ) в тетраборатном буфере (рН 8,5), где имеет место ее переход ДНК в металлизированную (t) форму. Рассчитаны константы связывания ионов Zn^{2+} с двухнитевой ДНК, соответствующие формированию межнитевых металлических мостиков. Установлена причина повышения температуры перехода спираль–клубок ДНК (до 10 °С) при образовании t -формы, а также сильного (до 30 °С) кооперативного понижения температуры перехода $B \rightarrow t$. Этидиум бромид уменьшает эффективность металлизации ДНК.

Исследования последних лет показали, что в щелочных растворах (рН 8–9) ионы переходных металлов (в частности, ионы Zn^{2+}) индуцируют переход В-ДНК в новую двухспиральную конформацию (t -форму), обладающую свойствами металлического проводника [1, 2] и даже (при $T < 1$ К) сверхпроводника [3].

Наряду с технологическими задачами использования t -форм полинуклеотидов в качестве элементов нанoeлектроники [4], их особые свойства представляют интерес и для биофизики. Так, согласно [5], наиболее легко переходят в t -форму последовательности, состоящие из GC -пар. В то же время известно, что в теломерной ДНК, которой особенно много в сперме (рН 8,2 [5]), содержатся последовательности длиной $(10 \div 15) \cdot 10^3$ пар на каждый хромосомный конец [6]. Поскольку репродуктивные клетки имеют повышенное содержание цинка (0,002 М в плазме спермы человека [7]), то переход $B \rightarrow t$ в этих условиях вполне реален. Опубликованные в настоящее время экспериментальные данные [1–5, 8] не позволяют ответить на вопросы о термодинамической природе индуцируемых ионами Zn^{2+} : а) повышения термостабильности В-ДНК при ее переходе в t -форму [1, 5, 9]; б) обнаруженного нами ранее [9] кооперативного понижения температуры $B \rightarrow t$ перехода. Наконец, неизвестно, какое влияние на эффективность металлизации ДНК может оказывать краситель (этидиум бромид (ЕВ)), используемый в большинстве работ для регистрации этого

© В. А. Сорокин, В. А. Валеев, Е. Л. Усенко, 2013

перехода. Ответы на эти вопросы могут быть получены после составлявшего цель настоящей работы определения констант связывания ионов Zn^{2+} с основаниями ДНК в условиях образования *m*-формы.

Материалы. Натриевая соль ДНК спермы лосося ($[GC] = 41\%$, молекулярный вес $M_w = (4 \div 6) \cdot 10^6$ Да); этидиум бромид (Serva, Germany); буфер тетраборат натрия (pH 8,5) (Reanal, Hungary). Химически чистые соли NaCl и $ZnCl_2 \cdot 6H_2O$ (Реахим, Россия).

Ошибка определения концентрации ионов Zn^{2+} ($[Zn^{2+}]$), фосфора ДНК (P) и этидиума бромида ([EB]) не превышала 0,5%, а кислотности раствора pH-метром "pH-340" (Россия) составляла $\pm 0,03$ ед. pH.

Методы. Видимая спектроскопия. Зависимость спектров поглощения EB в 0,005 М тетрабората + 0,005 М NaCl (в этих ионных условиях переход $B \rightarrow m$ зарегистрирован методами флуоресцентной спектроскопии [5]) от отношения $\rho = P/[EB]$ ($[EB] = 5 \cdot 10^{-6}$ М), в отсутствие и присутствии $2 \cdot 10^{-4}$ М Zn^{2+} , измеряли на спектрофотометре M40 (Carl Zeiss Jena, Germany). Процесс металлизации зависит от времени инкубации [1], поэтому каждый спектр EB при различных P измеряли после выдержки раствора, содержащего $ZnCl_2$, в течение 180 мин. Все измерения выполнены при комнатной температуре ($T_0 = 25 \pm 2$ °C).

Дифференциальная УФ (ДУФ)-спектроскопия. ДУФ-спектры однонитевой ДНК ($\Delta A(\nu)$), индуцированные ионами Zn^{2+} , были получены с использованием четырехкьюветной схемы [10] также при $T = T_0$ на спектрофотометре Specord UV VIS (Carl Zeiss Jena — Germany), соединенном с персональным компьютером, который нормировал спектры $\Delta A(\nu)$ на концентрацию ДНК: $\Delta \varepsilon(\nu) = \Delta A(\nu)/P$. ДНК ($P = 2 \cdot 10^{-5}$ М), находящаяся в конформации однонитевого полностью разупорядоченного клубка (ДНК1), получали нагреванием раствора двухнитевой B-ДНК в буфере до $T = 90$ °C, превышающей температуру окончания перехода B-ДНК \rightarrow ДНК1 на 18 °C [9] последующим охлаждением раствора до $T = T_0$ со скоростью ~ 25 град/мин. При этом поглощение ДНК при $T = 90$ °C и $T = T_0$ отличалось не более, чем на 1%. Сразу же после этого проводили измерения ДУФ-спектров в режиме последовательного титрования (без предварительной выдержки), продолжительность которого не превышала 60 мин. В течение этого времени двойная спираль не восстанавливалась: в отсутствие ионов Zn^{2+} спектр поглощения ДНК оставался постоянным в пределах чувствительности спектрофотометра.

Результаты и обсуждение. Образование комплекса EB с ДНК приводит к красному сдвигу спектра поглощения красителя (рис. 1, а). Введение в раствор ионов Zn^{2+} приводит к частичному его восстановлению (рис. 1, б). Взаимодействие цинка с гетероатомами азотистых оснований индуцирует красное смещение спектра поглощения ДНК1, регистрируемое по появлению ДУФ-спектров, интенсивность которых в экстремумах пропорциональна степени связывания ионов Zn^{2+} с основаниями однонитевой ДНК (C_{1N}), зависимость которой от концентрации ионов представлена в табл. 1. Согласно табл. 2, ионы Zn^{2+}

Таблица 1. Концентрационная зависимость изменения поглощения однонитевой ДНК ($\Delta \varepsilon_a$) и степени связывания ионов Zn^{2+} (C_{1N}) при $\nu_{\min} = 41000$ cm^{-1} ($[EB] = 0$; $P = 2 \cdot 10^{-5}$ М; 25 °C)

| $[Zn^{2+}]$, М | $3 \cdot 10^{-5}$ | $8 \cdot 10^{-5}$ | 10^{-4} | $1,7 \cdot 10^{-4}$ | $5 \cdot 10^{-4}$ |
|---|-------------------|-------------------|-----------|---------------------|-------------------|
| $\Delta \varepsilon_a$, $M^{-1} cm^{-1}$ | -375 | -990 | -1415 | -1370 | -1785* |
| C_{1N} | 0,21 | 0,55 | 0,79 | 0,77 | 1 |

* — максимальное значение; $C_{1N} = [\Delta \varepsilon_a / (\Delta \varepsilon_a)_{\max}]_{\nu_{\min}}$.

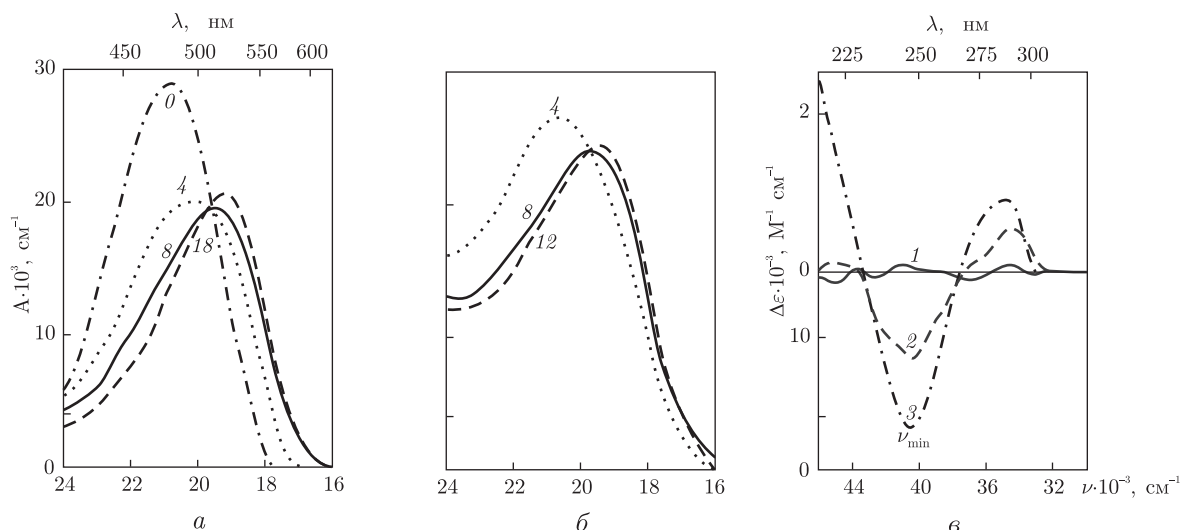


Рис. 1. Спектры поглощения этидия бромид ($5 \cdot 10^{-6}$ М) и его комплексов с ДНК в отсутствие (а) и присутствии $2 \cdot 10^{-4}$ М Zn^{2+} (б) при различных значениях отношения $\rho = P/[EB]$, а также дифференциальные УФ-спектры одонитовой ДНК, индуцированные ионами Zn^{2+} в отсутствие EB (в) (рН 8,5; 25 °С): а, б — цифры возле кривых — значения ρ ; в — 1 — $2 \cdot 10^{-5}$ М Zn^{2+} ; 2 — $8 \cdot 10^{-5}$ М; 3 — $5 \cdot 10^{-4}$ М

уменьшают концентрацию связанных с ДНК молекул EB на величину, равную степени заполнения цинком мест связывания на основаниях ДНК (C_{mN}) при образовании мостиков AN1- Zn^{2+} -N3T и/или GN1- Zn^{2+} -N3C [1, 11] в структуре *m*-формы:

$$C_{mN} = \left[\frac{A_E - A_0}{(A_E - A_0)_m} \right]_{\nu_m} - \left[\frac{A_E - A_i}{(A_E - A_0)_m} \right]_{\nu_m} = (C_E)_0 - (C_E)_i = \frac{A_i - A_0}{\Delta A_m}, \quad (1)$$

где $A_E = 0,029 \text{ см}^{-1}$ — поглощение свободного этидия бромид (рис. 1, а), A_0 и A_i — поглощение соответственно свободных молекул EB и их комплексов с ДНК в отсутствие (индекс 0) и присутствии (индекс *i*) ионов Zn^{2+} . $(A_E - A_0)_m = \Delta A_m = 0,016 \text{ см}^{-1}$ — максимальный гипохромизм поглощения EB при $\nu_m = 20800 \text{ см}^{-1}$ (табл. 2).

Данные табл. 2 позволяют рассчитать константы связывания ионов Zn^{2+} , соответствующие образованию этих комплексов в рамках модели связывания Скетчарда:

$$K_{mN} = \frac{C_{mN}}{(1 - C_{mN})A_f} = \frac{C_{mN}}{(1 - C_{mN})([Zn^{2+}] - C_{mN}n_{mN}P)}, \quad (2)$$

где $[Zn^{2+}] = 2 \cdot 10^{-4}$ М; $n_{mN} = 0,5$ — стехиометрия комплекса [1, 11].

Таблица 2. Зависимость от ρ степени металлизации B-ДНК ионами Zn^{2+} , рассчитанная по формуле (1) ($[EB] = 5 \cdot 10^{-6}$ М; $[Zn^{2+}] = 2 \cdot 10^{-4}$ М; 25 °С)

| ρ | 0 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 8 | 12 | 18 | 21 |
|-----------------------------------|----|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|
| $A_0 \cdot 10^3, \text{ см}^{-1}$ | 29 | 25 | 21 | 17 | 16 | 16 | 15 | 13 | 13 | 14 |
| C_{E0} | 0 | 0,25 | 0,5 | 0,75 | 0,81 | 0,81 | 0,88 | 1,0 | 1,0 | 0,94 |
| $A_i \cdot 10^3, \text{ см}^{-1}$ | 0 | 28 | 27 | 26 | 24 | 22 | 20 | 19 | | |
| C_{Ei} | 0 | 0,06 | 0,13 | 0,19 | 0,31 | 0,44 | 0,56 | 0,63 | | |
| C_{mN} | 0 | 0,19 | 0,38 | 0,56 | 0,5 | 0,38 | 0,31 | 0,38 | | |

Примечание. Обозначения в тексте.

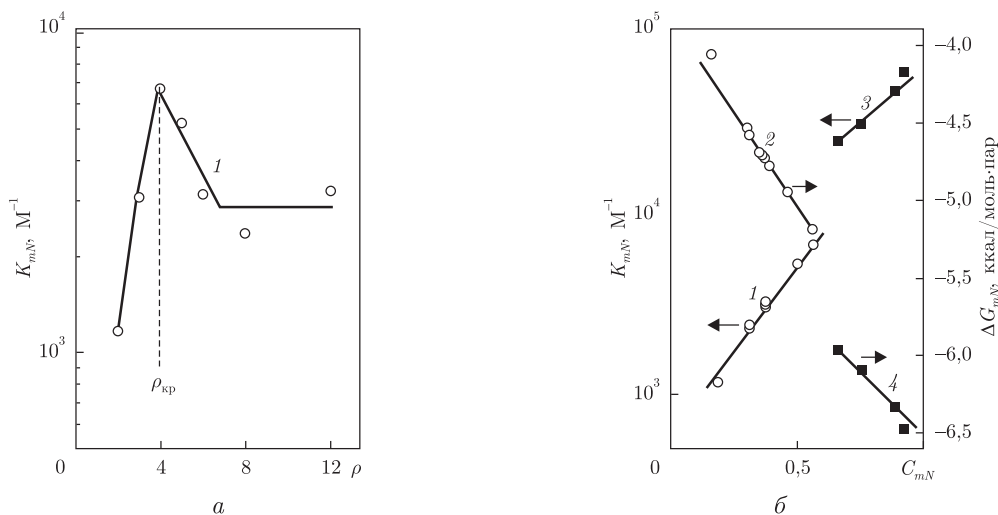


Рис. 2. Зависимости констант (K_{mN}) (а и б) и гиббсовской свободной энергии (ΔG_{mN}) связывания от ρ (а) и степени металлизации (б). Условия: 1; 2 — $5 \cdot 10^{-6}$ М ЕВ; $2 \cdot 10^{-4}$ М Zn^{2+} ; $P = \text{variable}$; 3; 4 — $[EB] = 0$; $P = 2 \cdot 10^{-5}$ М; $[Zn^{2+}] = \text{variable}$

Форма зависимости K_{mN} от ρ (рис. 2, а) или, что то же самое, от P при постоянных концентрациях ЕВ и Zn^{2+} показывает, что наибольший выигрыш в гиббсовской свободной энергии (ΔG_{mN}) наблюдается при $\rho_{кр} = 4$ — ситуация, соответствующая полному заполнению мест связывания на ДНК (в отсутствие цинка). В области $\rho < \rho_{кр}$ повышение P приводит к возрастанию K_{mN} (и, соответственно, C_{mN}), обусловленному, по-видимому, тем, что в этом случае относительная концентрация ионов Mt^{2+} большая (например, при 10^{-5} МР отношение $[Zn^{2+}]/P = 20$, а $[EB]/P = 0,5$), что делает ионы сильным конкурентом красителю. При $\rho > \rho_{кр}$ величина K_{mN} начинает уменьшаться, по-видимому, из-за сдвига равновесия в конкурентном связывании с ДНК ионов Zn^{2+} и ЕВ в сторону последнего при уменьшении относительной концентрации цинка. При больших ρ степень металлизации достигает своего предельного значения (рис. 2, а).

Сложная зависимость K_{mN} от ρ превращается в линейную функцию от C_{mN} (рис. 2, б), отражая тот факт, что величина ΔG_{mN} прямо пропорциональна степени металлизации ДНК (рис. 1, б). Согласно этому рисунку, при концентрации ионов цинка, соответствующей началу перехода $B \rightarrow m$ ($C_{mN} = 0$), значения K_{mN} и ΔG_{mN} равны соответственно $625 M^{-1}$ и $-3,8$ ккал/моль · пар.

Ранее [9] нами были получены концентрационные зависимости изменения температуры плавления (δT_m) В- и m-ДНК, индуцированного взаимодействием ионов Zn^{2+} с ее азотистыми основаниями.

В соответствии с теорией “лигандов” [12] при $n_m = 0,5$ для переходов двойная спираль \rightarrow \rightarrow односторонней клубок (переходов $2 \rightarrow 1$) должны быть справедливы выражения:

$$[(\delta T_m)_{m \rightarrow 1}]_N = B \ln \frac{1 + K_{mN} A_f}{1 + K_{1N} A_f}, \quad (3)$$

$$[(\delta T_m)_{B \rightarrow 1}]_N = B \ln \frac{1 + K_{BN} A_f}{1 + K_{1N} A_f}, \quad (4)$$

где $B = RT_{m0} T_m / \Delta H_{2 \rightarrow 1}$; T_{m0} и T_m — температуры перехода $2 \rightarrow 1$ соответственно в отсутствие и присутствии ионов Zn^{2+} ; A_f — концентрация свободных ионов; $\Delta H_{2 \rightarrow 1}$ — эн-

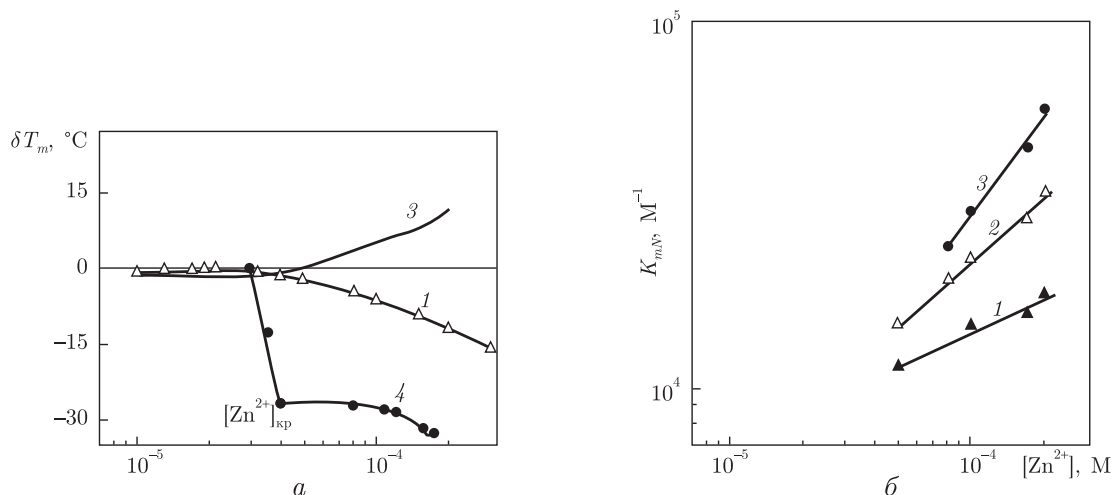


Рис. 3. Концентрационные зависимости изменения температур перехода спираль–клубок ДНК, обусловленные взаимодействием ионов Zn^{2+} с основаниями *B*- и *m*-форм (а) [9] и соответствующих констант связывания (б), рассчитанных по формулам (2)–(4):

1 — атомы N7 пуринов *B*- и, вероятно, *m*-ДНК (K_{BN}); 2 — гетероатомы азотистых оснований одонитевой ДНК (K_{1N}); 3 — атомы азота в межнитевых хелатах в структуре *m*-формы; 4 — изменение температуры начала кооперативного перехода $B \rightarrow m$ [9]. Условия: $[EB] = 0$; $P = 2 \cdot 10^{-5}$ М

тальгия перехода $2 \rightarrow 1$; K_{mN} — константа связывания, соответствующая образованию межнитевых хелатных мостиков [11]; K_{BN} — константа связывания ионов с атомами N7 пуринов *B*- и *m*-ДНК. K_{1N} — константы связывания ионов с гетероатомами азотистых оснований ДНК1, находящейся в конформации полностью разупорядоченного клубка. Поскольку $[Zn^{2+}]$, по меньшей мере, в 2,5 раза больше P , полагали, что $A_f = [Zn^{2+}]$. Согласно [13], в изученных ионных условиях $\Delta H_{2 \rightarrow 1} = 8$ ккал/моль · пар осн.

Для определения K_{mN} и K_{BN} необходимо знать величину K_{1N} , концентрационная зависимость которой была рассчитана по формуле (2) при замене K_{mN} на K_{1N} и C_{mN} на C_{1N} (табл. 1). При расчете K_{mN} и K_{BN} по формулам (3) и (4) полагали, что $(\delta T_m)_{теор} = (\delta T_m)_{эксп}$ во всей области концентраций ионов Zn^{2+} , где $(\delta T_m)_{эксп}$ — концентрационные зависимости изменения термостабильности различных форм ДНК (рис. 3, а).

Данные рис. 3, б показывают, что образование хелатных цинковых мостиков в структуре *m*-формы дает наибольший выигрыш в величине ΔG_{mN} системы по сравнению с образованием комплексов цинка с азотистыми основаниями ДНК1 ($K_{mN} > K_{1N}$). Именно это обстоятельство, согласно формуле (3), обеспечивает дополнительное повышение термостабильности ДНК при переходе из *B*- в *m*-форму. Взаимодействие ионов Zn^{2+} с основаниями *B*-, *m*- и одонитевой ДНК характеризуется положительной кооперативностью (производная $\gamma = d \lg K / d [Zn^{2+}] > 0$) (рис. 2, б и 3, б).

При переходе ДНК в *m*-форму ее спектры поглощения и кругового дихроизма почти не меняются — свидетельство того, что структуры *m*- и *B*-форм отличаются незначительно [1]. Поэтому наиболее вероятной причиной положительной кооперативности связывания цинка с обеими формами является, по-видимому, рост энтропии системы из-за дегидратации ионов Zn^{2+} и азотистых оснований при образовании внутрисферных координационных связей, наблюдаемых и в случае ДНК1. Их количество в последней должно быть больше, чем в *B*-форме: $\gamma_2 > \gamma_1$ (соответственно кривые 2 и 1, рис. 3, б). При образовании *m*-ДНК про-

исходит дополнительное освобождение иминопротонов, принадлежащих $N3T$ и $N1G$ [1, 11]. Соответственно γ_3 имеет наибольшее значение (кривая 3 рис. 3, б). Наконец, в присутствии EB дополнительным фактором возрастания положительной кооперативности должно быть увеличение концентрации его свободных молекул при металлизации ДНК. Действительно, для кривой 1 (рис. 2, б) производная $\alpha = d \lg K_{mN} / dC_{mN} = 1,9$, а для кривой 3 (рис. 2, б) $\alpha = 1,3$. При этом значения K_{mN} в присутствии и отсутствие EB существенно отличаются (примерно на порядок при $2 \cdot 10^{-4}$ М Zn^{2+} — см. рис. 1, а и 3, б).

Для проверки корректности полученных расчетных данных была определена энтальпия перехода $B \rightarrow m$ по формуле, аналогичной формулам (3) и (4), записанной в удобной для расчета $\Delta H_{B \rightarrow m}$ форме:

$$\Delta H_{B \rightarrow m} = R \left(\frac{T_B^2}{\delta T_{B \rightarrow m}} + T_B \right) \ln \frac{1 + K_{BN}[Zn^{2+}]}{1 + K_{mN}[Zn^{2+}]}, \quad (5)$$

где T_B — температура, соответствующая концентрации цинка, ниже которой переход $B \rightarrow m$ отсутствует ($[Zn]_{кр}$ на рис. 3, а); $\delta T_{B \rightarrow m}$ — понижение температуры начала перехода $B \rightarrow m$ в диапазоне $[Zn^{2+}] = (0,8 \div 1,7) \cdot 10^{-4}$ М (рис. 3, а и 3, б). Рассчитанное по формуле (5) значение $\Delta H_{B \rightarrow m} = (3 \pm 1)$ ккал/моль · пар осн. в пределах ошибки удовлетворительно согласуется с данными изотермической титрующей калориметрии (ΔH), согласно которым в том же диапазоне содержания цинка энтальпия $B \rightarrow m$ перехода для ДНК тимуса телят составляет $2,2 \pm 0,5$ ккал/моль · пар [14]. Таким образом, $\Delta H_{B \rightarrow m}$ в 2–3 раза меньше $\Delta H_{2 \rightarrow 1}$. Из рис. 3, б видно, что $K_{BN} < K_{mN}$. Согласно формуле (5), это обстоятельство понижает температуру перехода $B \rightarrow m$ при повышении концентрации цинка (рис. 3, а, [1, 9]). Однако дополнительным фактором этого понижения является малая величина $\Delta H_{B \rightarrow m}$. Это обстоятельство является, по-видимому, причиной того, что флуктуационный переход B -ДНК в m -форму наблюдался даже при температурах (0–4) °С [1, 14].

Определенная калориметрически [14] энтальпия перехода $B \rightarrow m$ является, по существу, энтальпией образования металлических мостиков в m -форме. Таким образом, данные настоящей работы (рис. 2, б) показывают, что основной вклад в свободную энергию перехода (или образования комплекса) вносит ее энтропийный член.

Основные результаты. 1. Существует оптимальное для металлизации цинком соотношение между концентрациями ДНК и этидиума бромида.

2. Причиной повышения термостабильности B -ДНК при ее переходе в m -форму является большая величина константы образования межнитевых цинковых мостиков в комплементарных парах ДНК, по сравнению с таковой, характеризующей образование координационных связей с основаниями однонитевой ДНК.

3. Существенным фактором понижения температуры перехода $B \rightarrow m$ является малая величина энтальпии этого перехода, так что основной вклад в его свободную энергию вносит энтропийная составляющая.

4. Присутствие в растворе даже малого количества красителя (5 мкМ EB) на порядок уменьшает константу металлизации ДНК (при сопоставимой концентрации ионов цинка).

1. Lee J. S., Latimer L. J. P., Reid R. S. A cooperative conformational change in duplex DNA induced by Zn^{2+} and other divalent metal ions // *Biochem. Cell Biol.* — 1993. — **71**. — P. 162–168.
2. Rakitin A., Aich P., Papadopoulos C., Kobzar Yu. et al. Metallic conduction through engineered DNA: DNA nanoelectronic building blocks // *Phys. Rev. Letters.* — 2001. — **86**, No 6. — P. 3670–3673.

3. Kasumov A. Yu., Kociak M., Gueron S. et al. Proximity-induced superconductivity in DNA // *Science*. – 2001. – **291** (5502). – P. 280–282.
4. Bhalla V., Bajpai R. P., Bharadwaj L. M. DNA electronics // *Europ. Molec. Biol. Organ. Rep.* – 2003. – **4**, No 5. – P. 442–445.
5. Wood D. O., Dinsmore M. J., Bare G. A., Lee J. S. M-DNA is stabilized in GC tracts or by incorporation of 5-fluorouracil // *Nucl. Acids Res.* – 2002. – **30**. – P. 2244–2250.
6. Ильичева И. А., Флорентьев В. Л. Четырехцепочечные комплексы олигонуклеотидов – квадруплексы // *Мол. биол.* – 1992. – **26**, № 3. – С. 512–531.
7. Henkel R., Bittner J., Weber R. et al. Relevance of zinc in human sperm flagella and its relation to motility // *Fertility and Sterility*. – 1999. – **71**, No 6. – P. 1138–1143.
8. Sanz Miguel P. J., Amo-Ochoa P., Castillo O. et al. Supermolecular chemistry of Metal-Nucleobase complexes // in: *Metal Complex-DNA interactions*. Eds. Hadjilias and E. Sletten. – New York: Wiley, 2009. – Ch. 4. – P. 95–132.
9. Sorokin V. A., Valeev V. A., Usenko E. L., Andrushchenko V. V. DNA conformational equilibrium in the presence of Zn^{2+} ions in neutral and alkaline solutions // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2012. – **50**. – P. 854–860.
10. Sorokin V. A., Valeev V. A., Usenko E. L., Andrushchenko V. V. Divalent metal ion effect on helix-coil transition of high molecular weight DNA in neutral and alkaline solutions // *Ibid.* – 2011. – **48**. – P. 369–374.
11. Aich P., Labiuk S. L., Tari L. W. et al. M-DNA: A complex between divalent metal ions and DNA which behaves as a molecular wire // *J. Mol. Biol.* – 1999. – **294**. – P. 477–485.
12. Sorokin V. A., Valeev V. A., Gladchenko G. O. et al. Mg^{2+} ion effect on conformational equilibrium of PolyA · 2PolyU and PolyAPolyU in aqueous solutions // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2003. – **31**. – P. 223–233.
13. Sorokin V. A., Gladchenko G. O., Galkin V. L. et al. Theories of “condensation” and “ligands” on describing the DNA helix-to-coil transition: comparative analysis // *Biophysics*. – 1996. – **41**. – P. 1233–1239.
14. Wettig S. D., Wood D. O., Lee J. S. Thermodynamic investigation of M-DNA: a novel metal-DNA complex // *J. Inorg. Biochem.* – 2003. – **94**. – P. 94–99.

Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б. І. Веркина
НАН України, Харків

Поступило в редакцію 24.07.2012

В. О. Сорокін, В. О. Валєєв, Є. Л. Усенко

Термодинаміка взаємодії іонів Zn^{2+} з природною ДНК за умов $B \rightarrow t$ переходу

Методами видимої та диференційної УФ-спектроскопії вивчено залежність ступеня металізації В-ДНК від її концентрації при фіксованих концентраціях етидіуму броміду (5 мкМ) та іонів Zn^{2+} (0,2 мМ) в тетраборатному буфері (рН 8,5), де має місце її перехід у металізовану (t) форму. Розраховано константи зв'язування іонів Zn^{2+} з двонитковою ДНК, що відповідають формуванню міжниткових металевих містків. Встановлено причину підвищення температури переходу спіраль-клубок ДНК (до 10 °С) при утворенні t-форми, а також сильного (до 30 °С) кооперативного зниження температури переходу $B \rightarrow t$. Етидіум бромід зменшує ефективність металізації ДНК.

V. A. Sorokin, V. A. Valeev, E. L. Usenko

Thermodynamics of Zn^{2+} ion interaction with natural DNA under conditions of the $B \rightarrow m$ transition

Methods of visual and differential UV-spectroscopies are used to study the dependence of the metallization degree of B-DNA on its concentration under fixed ethidium bromide concentrations ($5 \mu M$) and Zn^{2+} ions ($0.2 mM$) in tetraborate buffer ($pH 8.5$), where the B-DNA transition into the metallized (m) form takes place. Constants of Zn^{2+} ion binding to double-stranded DNA are calculated, corresponding to the formation of interstrand metal bridges. The cause of an increase in the DNA helix-coil transition temperature (up to $10^\circ C$) upon the m -form formation and that of the strong (up to $30^\circ C$) cooperative decrease in the temperature of the $B \rightarrow m$ transition are ascertained. Ethidium bromide decreases the effectiveness of DNA metallization.