

13. *Sinanoglu O.* Solvent effects on molecular associations // *Mol. assoc. in biology* / Ed. B. Pullman.— New York: Acad. press, 1968.— P. 427—445.
14. *Sinanoglu O., Abdulnur S.* Hydrophobic stacking of bases and the solvent denaturation of DNA // *Photochem. and Photobiol.*— 1964.—3, N 4.— P. 333—342.
15. *Equation of state calculations by fast computing machines* / N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth et al. // *J. Chem. Phys.*— 1953.—21, N 6.— P. 1087—1092.
16. *Журкин В. Б., Полтев В. И., Флорентьев В. Л.* Атом-атомные потенциальные функции для конформационных расчетов нуклеиновых кислот // *Молекуляр. биология.*— 1980.—14, № 5.— С. 1116—1130.
17. *Simulation of the interaction of nucleic acid fragments with solvent using atom-atom potential function* / V. I. Poltev, V. I. Danilov, M. R. Sharafutdinov et al. // *Stud. biophys.*— 1982.—91, N 1.— P. 37—43.
18. *Дьяконова Л. П., Маленков Г. Г.* Моделирование структуры жидкой воды методом Монте-Карло // *Журн. структур. химии.*— 1979.—20, № 5.— С. 854—861.
19. *Danilov V. I., Sharafutdinov M. R., Tolokh I. S.* Theoretical study of the stability of nucleotide base associates // *Stud. biophys.*— 1983.—93, N 3.— P. 193—196.
20. *Danilov V. I.* Nature of the stacking interactions of nucleic acid bases and their derivatives: theory and experiment // *Steric aspects of biomolecular interactions* / Eds G. Naray-Szabo, K. Simon.— Boca Raton: CRC press, 1987.— P. 235—242.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР,  
Киев

Получено 10.04.89

#### HYDRATION OF URACIL AND THYMINE METHYLDERIVATIVES: A MONTE CARLO SIMULATION

*V. I. Danilov, I. S. Tolokh*

Institute of Molecular Biology and Genetics,  
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

#### Summary

The performed simulation has shown that under methylation of uracil and thymine NH-groups the interaction energy between base and water ( $U_{wb}$ ) increases. It has also been detected that this energy increase is observed in the 1st and 3rd sectors. These conclusions do not confirm the assumption made in literature about the character of interaction between methylated bases and water. According to this assumption, when the NH-group is methylated, the energy of  $U_{wb}$  in this sector decreases at the expense of the van der Waals interactions between the methyl group and water, whose energy compensates the  $U_{wb}$  energy increase due to the break of the H-bond. Regulation of water molecules near hydrophobic group under the hydration of polar molecules is detected for the first time.

УДК 577.3

**А. Т. Карапетян, П. О. Вардеванян, М. Д. Франк-Каменецкий**

#### **ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ $[Na^+]$ НА ТЕПЛОТУ ПЕРЕХОДА СПИРАЛЬ — КЛУБОК ДНК \***

*Методом «скрепочной калориметрии» в сочетании с методом «площадей» определена энтальпия перехода спираль — клубок ( $\Delta H$ ) для ДНК различного GC-содержания. Экспериментально полученные данные показывают, что с увеличением GC-содержания ДНК наклон зависимости  $\Delta H$  от  $\lg[Na^+]$  уменьшается.*

**Введение.** Существует несколько экспериментальных методов определения теплоты перехода спираль — клубок ДНК ( $\Delta H$ ). Из них только калориметрический является прямым методом определения этой величины, при помощи которого была вычислена энтальпия плавления как для синтетических [1—3], так и для природных ДНК [4—6].

\* Представлена членом редколлегии В. И. Даниловым.

Уровень техники калориметрического эксперимента вполне достаточен для получения данных о тепловых свойствах биополимеров (см., например, [7]). Однако существенный интерес представляет измерение  $\Delta H$  методом, пусть не столь прямым, но позволяющим провести опыт при таких разбавлениях, когда заведомо можно пренебречь межмолекулярными взаимодействиями и влиянием денатурации на рН среды, что становится существенным для измерений при низких ионных силах.

Количественное рассмотрение действия различных лигандов на стабильность двухспиральной ДНК дало возможность предложить простой метод определения  $\Delta H$  [8]. В его основе лежит разработанная в работах [9, 10] и обобщенная в [11] теория перехода спираль — клубок комплексов ДНК с низкомолекулярными веществами. Было показано, что  $\Delta H$  можно определить из опыта по плавлению ДНК с лигандами при помощи весьма универсальной формулы [11]:

$$\Delta H = \lim_{c \rightarrow 0} f(c) = R \lim_{c \rightarrow 0} \{(\delta\Delta T/\delta T_m^2)/[\delta(1/T_m)]^2\} \cdot c, \quad (1)$$

где  $\delta T_m = T_0 - T_m$ ;  $\delta\Delta T = \Delta T - \Delta_0 T$ ;  $T_m$  и  $\Delta T$  — температура и ширина интервала плавления комплексов ДНК с лигандом;  $T_0$  и  $\Delta_0 T$  — те же параметры для «чистой» ДНК;  $c$  — относительная концентрация лиганда;  $R$  — газовая постоянная. Формула (1) не зависит от констант связывания лиганда с ДНК, числа мест связывания на полимере и др. Так как теория [9—11] была развита в случае лиганда, связывающегося с ДНК только одним способом, то для определения  $\Delta H$  необходим тщательный подбор условий опыта. Это подробно обсуждено в работах [12—16], где показано, что значения функции  $f(c) = R \cdot c \{(\delta\Delta T/\delta T_m^2)/[\delta(1/T_m)]^2\}$  дают удовлетворительные значения  $\Delta H$  для лигандов, связывающихся с ДНК только одним способом.

Анализ полученных в работах [9—11] результатов показал, что в случае преимущественного связывания лиганда с одной из конформаций ДНК (спираль или клубок) определение величины теплоты плавления из опытов весьма упрощается: достаточно сравнить теоретически полученную формулу с опытом либо для приращения температуры  $\Delta T_m$ , либо ширины интервала плавления  $\delta\Delta T$ .

Настоящая работа посвящена определению  $\Delta H$  из опытов по плавлению комплексов ДНК с красителем акридинового ряда — бромистым этидием (БЭ). Константа связывания этого лиганда с нативной ДНК намного превышает эту величину для денатурированной ДНК [12, 13], что позволяет при малых его концентрациях ( $c \rightarrow 0$ ) в сочетании с предложенным нами недавно методом «площадей» [17, 18] определить  $\Delta H$  при разных концентрациях  $[Na^+]$  с большой точностью.

**Материалы и методы.** В опытах использованы дополнительно очищенные по [19] ДНК *Clostridium perfringens* и *Micrococcus lysodeicticus* фирмы «Sigma» (США), БЭ фирмы «Serva» (ФРГ). Комплексы готовили, как описано в [12]. Во всех образцах концентрация ДНК была  $2,5 \cdot 10^{-5}$  М пар оснований (п. о.), что определяется величиной молярного поглощения для ДНК *Cl. perfringens*  $A_{280} = 7400 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$  и *M. lysodeicticus* —  $A_{260} = 6800 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$  [20]. Исходный раствор содержал БЭ в концентрации  $5 \cdot 10^{-5}$  М, определенной по величине молярного поглощения  $A_{480} = 5600 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$  [21]. Растворы готовили на дважды дистиллированной деионизированной воде. Все изучаемые препараты растворяли в цитратном буфере с пятью разными концентрациями ионов  $[Na^+]$  ( $10^{-3}$ ;  $5 \cdot 10^{-3}$ ;  $10^{-2}$ ;  $5 \cdot 10^{-2}$  и  $10^{-1}$  М), учитывая добавление 1,0 М NaOH до рН 7,0 и концентрацию ЭДТА  $5 \cdot 10^{-5}$  М во всех исследуемых образцах.

Для получения равновесных кривых плавления как чистой ДНК, так и ее комплексов с БЭ переход спираль — клубок осуществляли дискретным, как это описано в [12], а также непрерывным повышением температуры с разной скоростью нагрева. Сравнение кривых плавления показало, что оптимальной для низких концентраций  $[Na^+]$  ( $10^{-3}$  и  $5 \cdot 10^{-3}$  М) является скорость 0,05 град/мин, так как в этих условиях кривая совпадает в пределах ошибки опыта с кривой, полученной дискретным повышением температуры. В остальных же случаях кривые находили при помощи непрерывного нагрева образцов со скоростью 0,1 град/мин, применяя программное устройство SP-876-2. Температуру измеряли непосредственно в кюветах платиновым резистором. Площадь, ограниченную кривой плавления ДНК или ее комплекса с БЭ, вычисляли, используя программируемый калькулятор HP-97S 1/0, по формуле Симпсона.

Температуру плавления чистой ДНК  $T_0$  определяли графически из нормированной кривой перехода спираль — клубок, принимая, что этой температуре соответствует точка на кривой, где степень спиральности  $\theta(T_0) = 0,5$ .

Все опыты проводили на спектрофотометре Pye-Unicam SP-8-100. Использовали односантиметровые кварцевые кюветы с тефлоновыми пробками. Во избежание испарения пробки смазывали вакуумной смазкой.

**Результаты и обсуждение.** По мере увеличения концентрации лиганда кривые плавления комплексов ДНК с БЭ сдвигаются в область высоких температур и уширяются по сравнению с кривой плавления чистой ДНК [12]. Это является показателем того, что БЭ стабилизирует спиральное состояние ДНК. В работе [11] показано, что при малых концентрациях такого типа лиганда (скрепки) с точностью до первого члена разложения по  $c = 2D/p$  приращения температуры и ширины интервала плавления определяются как:

$$\delta T_m = \Lambda (RT_0^2/\Delta H) \cdot c; \quad (2)$$

$$\delta \Delta T = \Lambda^2 (RT_0^2/\Delta H) \cdot c. \quad (3)$$

Для коэффициента  $\Lambda$  получено следующее выражение:

$$\Lambda = 2 \frac{(r_1/r_2)p - 1}{(r_1/r_2)p + 1} \frac{(K_1/r_1)P + (K_2/r_2)P}{4 + (K_1/r_1)P + (K_2/r_2)P}, \quad (4)$$

где  $r_2$  и  $r_1$  — число мест связывания;  $K_2$  и  $K_1$  — константы связывания скрепки со спиральным и клубкообразным состояниями ДНК соответственно;  $P$  — концентрация фосфатных групп ДНК,  $p = K_2/K_1$ . Единственным требованием применимости формул (2) и (3) является соблюдение условия  $c \ll 1$ . Из формулы (4) видно, что при выполнении условий  $(K_1/r_1) \cdot P \gg 4$  или  $(K_2/r_2) \cdot P \gg 4$  и  $(r_1/r_2) \cdot p \gg 1$  вместо (2) и (3) имеем:

$$\delta T_m = 2 (RT_0^2/\Delta H) \cdot c; \quad (5)$$

$$\delta \Delta T = 4 (RT_0^2/\Delta H) \cdot c. \quad (6)$$

Формулы (5) и (6) свидетельствуют о том, что если константа связывания лиганда с одной из конформаций полинуклеотида намного превосходит константу связывания с другой формой, то приращение ширины интервала плавления  $\delta \Delta T$  вдвое превосходит такое же приращение температуры перехода  $\delta T_m$ . В этом случае  $\Delta H$  можно определить независимо по изменению каждого параметра при помощи либо формулы (5), либо (6). И, наоборот, экспериментально подтвержденный

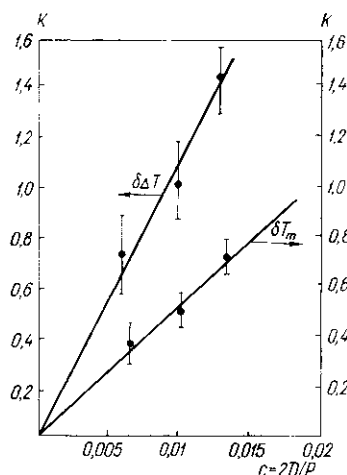


Рис. 1. Зависимости сдвига ( $\delta T_m$ ) и уширения кривой ( $\delta \Delta T$ ) плавления комплексов ДНК *Cl. perfringens* с БЭ от концентрации скрепки при концентрации ионов  $[Na^+] 5 \cdot 10^{-2}$  М

Fig. 1. The dependences of the shift ( $\delta T_m$ ) and widening of the melting curve ( $\delta \Delta T$ ) of the complexes of the *Cl. perfringens* DNA with EB on the ligand concentration at the  $[Na^+] 5 \cdot 10^{-2}$  M

факт удвоенного по отношению к сдвигу приращения ширины доказывал бы справедливость неравенства  $(r_1/r_2) \cdot p \gg 1$ . На рис. 1 приведены зависимости средних из шести опытов значений  $\delta T_m$  и  $\delta \Delta T$  от  $c$ . Аналогичные результаты получены при концентрациях  $[Na^+]$ , равных  $10^{-3}$ ,  $5 \cdot 10^{-3}$ ,  $10^{-2}$  и  $10^{-1}$  М. Из рис. 1 видно, что отношение наклона кривой приращения ширины к наклону кривой приращения температуры соответствует 2 : 1. Следовательно, теплоту плавления  $\Delta H$  можно найти

при помощи простых формул (5) и (6). Точность вычисления  $\Delta H$  зависит от точности вычисления из опытов  $\delta T_m$  и  $\delta \Delta T$  при разных значениях концентрации скрепки. Данные рис. 1 показывают, что эти величины из опыта определяются со значительными ошибками. Поэтому  $\Delta H$ , найденная по формуле (1), получится с большой ошибкой  $\sim 1,5-2$  ккал/моль п. о. [12—16].

Ранес нами был предложен простой метод определения температуры плавления ДНК, который был успешно применен для исследования особенностей взаимодействия гистонов различного происхождения с ДНК [17], а также для определения среднего GC-содержания ДНК из разных организмов [18]. Метод заключается в следующем. Известно, что температура плавления ДНК отвечает точке, где расплавлена половина полинуклеотида — т. е. точке на кривой плавления, соответствующей половине степени спиральности —  $\vartheta(T_0) = 0,5$ . Таким способом была определена температура плавления чистой ДНК в настоящей работе, и это является основным методом определения  $T_0$  для ДНК с квазислучайным распределением нуклеотидов вдоль молекулы [22]. Кривые плавления таких полимеров однофазны, и из нормированной кривой плавления не представляется трудным определить температуру, при которой  $\vartheta(T_0) = 0,5$ . Однако в случае ДНК с блочной гетерогенностью, имеющих тонкую структуру плавления, а также для комплексов ДНК с лигандами этот способ вносит существенное искажение в определение  $T_0$ , так как кривые перехода спираль — клубок в указанных случаях не гладкие. В общем случае для  $T_0$  нужно воспользоваться первым моментом функции  $\vartheta(T)$  и температуру плавления представить как

$$T_0 = \int_{T_{AT}}^{T_{GC}} -(\partial\vartheta/\partial T) \cdot T dT. \quad (7)$$

Такое определение  $T_0$  даст среднюю температуру плавления ДНК независимо от типа распределения нуклеотидов вдоль молекулы биополимера.

Учитывая, что  $(\partial\vartheta/\partial T) dT = d\vartheta$ , выражение (7) после интегрирования по частям дает:

$$T_0 = T_{GC} - \int_{T_{AT}}^{T_{GC}} (1 - \vartheta) dT, \quad (8)$$

где  $S = \int_{T_{AT}}^{T_{GC}} (1 - \vartheta) dT$  численно равняется площади, ограниченной кривой плавления ДНК  $(1 - \vartheta(T))$ , осью температур и прямой  $T = T_{GC}$ . Так как в (8) входит  $T_{GC}$ , которая при данных условиях опыта постоянна, то  $T_0$  может меняться, если изменяется форма или положение кривой плавления.

При добавлении в раствор ДНК скрепки меняется форма и положение кривой плавления комплекса. В этом случае температура плавления комплекса  $T_m$  определяется как:

$$T_m = T_{GC} - \int_{T_{AT}}^{T_{GC}} (1 - \vartheta^*) dT, \quad (9)$$

где  $T$  — температура;  $(1 - \vartheta^*)$  — кривая плавления комплекса.

Учитывая (8) и (9), для приращения температуры перехода спираль — клубок имеем:

$$\delta T_m = T_m - T_0 = \int_{T_{AT}}^{T_{GC}} (1 - \vartheta) dT - \int_{T_{AT}}^{T_{GC}} (1 - \vartheta^*) dT. \quad (10)$$

Обозначая  $S^* = \int_{T_{AT}}^{T_{GC}} (1 - \vartheta^*) dT$  площадь, ограниченную кривой плавления комплекса ДНК со скрепкой, осью температур и прямой  $T = T_{GC}$ , для  $\delta T_m$  окончательно получим:

$$\delta T_m = S - S^* = \delta S, \quad (11)$$

где  $\delta S$  есть площадь, ограниченная кривыми плавления ДНК (левая кривая) и ее комплекса с лигандом (правая кривая) (рис. 2). Подставляя (11) в (5) для теплоты плавления, находим:

$$\Delta H = 2(RT_0^2/\delta S) \cdot c. \quad (12)$$

В работе [12] показано, что определенная из опыта величина  $\Delta H$  дает хорошие результаты при низких концентрациях скрепки ( $c \leq 3 \times 10^{-2}$  М). В указанном интервале изменения концентрации лиганда  $\Delta H$  не зависят от  $c$ . В настоящей работе для нахождения величины теплоты плавления были выбраны три концентрации скрепки  $c_1 = 0,0066$ ;  $c_2 = 0,01$ ;  $c_3 = 0,013$  М. Сравнение данных, полученных в разных ионных условиях, показывает, что при концентрации ионов  $[Na^+] 10^{-3}$  М

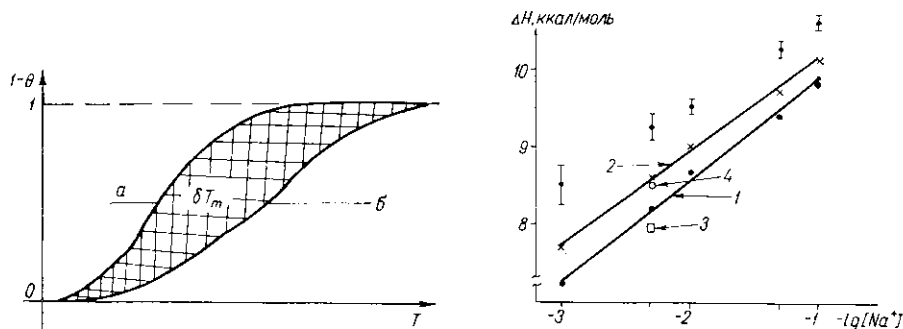


Рис. 2. Площадь, ограниченная кривыми плавления чистой ДНК (а) и ее комплекса с лигандом (б), численно равна приращению температуры плавления ( $\delta T_m$ )

Fig. 2. The area enclosed by the melting curves of DNA (a) and DNA-ligand complex (b) is numerically equal to the increment of the melting temperature ( $\delta T_m$ )

Рис. 3. Зависимости энтальпии перехода спираль — клубок  $\Delta H$  от концентрации ионов  $[Na^+]$  для ДНК *Cl. perfringens* (1) и ДНК *M. lysodeicticus* (2). Приведены калориметрически определенные значения  $\Delta H$  для ДНК *Cl. perfringens* (3) и ДНК *M. lysodeicticus* (4) согласно [5]

Fig. 3. The dependence of the enthalpy of the helix-coil transition of DNA on the  $[Na^+]$  for the *Cl. perfringens* DNA (1) and *M. lysodeicticus* DNA (2). The calorimetric values of  $\Delta H$  are represented for the *Cl. perfringens* DNA (3) and *M. lysodeicticus* DNA (4) [5]

ошибка в определении  $\delta S$  составляет всего 5—6 %, а при  $[Na^+] 5 \times 10^{-3}$  М — не более 2 %. Вычисленные по формуле (12) значения теплоты плавления  $\Delta H$  определяются с меньшей ошибкой по сравнению со значениями, рассчитанными по формуле (1). С другой стороны, значения  $\Delta H$ , как и ожидалось, в пределах ошибки опыта не зависят от выбранных концентраций лиганда. Следовательно, величины  $\Delta H$  можно получить, усредняя все значения независимо от  $c$  (табл. 1). Построенные зависимости  $T_0$  от  $[Na^+]$  дают наклоны линейных зависимостей, хорошо согласующихся с аналогичными величинами, полученными из эмпирической формулы [23]:

$$T_0 = 176 - (2.6 - x_0)(36,0 \pm 7,04 \lg[Na^+]) \quad (13)$$

для использованных в настоящей работе ДНК, GC-содержание которых составляет 31 % ( $x_0 = 0,31$ ) и 72 % ( $x_0 = 0,72$ ).

Данные табл. 1 показывают, что как  $\Delta H$ , так и  $\Delta S$  увеличивается с повышением ионной силы.

Усредненные по всем опытам параметры при разных концентрациях  $[Na^+]$   
 The averaged values of  $\Delta H$ ,  $T_0$ ,  $\Delta S$  at different concentrations of  $[Na^+]$

$[Na^+]$ , М	$-\lg[Na^+]$	<i>Cl. perfringens</i>			<i>M. lysodeicticus</i>		
		$T_0$ , °С	$\Delta H$ , ккал/моль	$\Delta S$ , энт. ед.	$T_0$ , °С	$\Delta H$ , ккал/моль	$\Delta S$ , энт. ед.
$1 \cdot 10^{-3}$	3,0	45,1	$7,2 \pm 0,5$	22,6	68,4	$7,7 \pm 0,4$	22,5
$5 \cdot 10^{-3}$	2,3	56,3	$8,2 \pm 0,3$	24,9	77,6	$8,6 \pm 0,3$	24,5
$1 \cdot 10^{-2}$	2,0	61,0	$8,7 \pm 0,2$	26,0	81,8	$9,0 \pm 0,2$	25,4
$5 \cdot 10^{-2}$	1,3	72,5	$9,4 \pm 0,2$	27,2	91,0	$9,7 \pm 0,2$	26,6
$1 \cdot 10^{-1}$	1,0	77,3	$9,8 \pm 0,2$	28,0	94,9	$10,1 \pm 0,2$	27,4

Определенные нами зависимости  $\Delta H$  от ионной силы с большой точностью можно аппроксимировать уравнениями (рис. 3):

$$\Delta H_1 = 10\,900 \pm 1200 \lg [Na^+] \text{ кал/моль}, \quad (14)$$

$$\Delta H_2 = 11\,000 \pm 1\,100 \lg [Na^+] \text{ кал/моль}. \quad (15)$$

Калориметрические исследования для  $\Delta H$  дают хорошо согласующиеся с нашими данными величины энтальпии плавления как для ДНК *Cl. perfringens*, так и *M. lysodeicticus* [5]. Величины  $\Delta H$  при низких ионных силах определяются с ошибками, в 2—3 раза превышающими их по сравнению с высокими концентрациями. Вероятно, это является следствием неравновесности процесса плавления в указанных условиях.

Для проверки степени влияния неравновесности процесса плавления на точность определения  $T_0$  кривые плавления ДНК были получены двумя методами: непрерывным и дискретным повышением температуры (см. «Материалы и методы»). Совпадение кривых плавлений в двух случаях позволяет нам использовать скорость нагрева 0,05 град/мин. Соответствующие опыты были проведены также для комплексов ДНК с лигандом. Наблюдаемый минимальный разброс в опытных значениях свидетельствует в пользу того, что кривые плавления при низких ионных силах близки к равновесным. Выбор  $v=0,1$  град/мин связан с тем, что при концентрации  $[Na^+]$   $10^{-2}$  М равновесная температура плавления может отличаться от экспериментальной на  $\sim 0,1$  градуса [24], что не может существенно влиять на точность определения  $\delta S$ .

Полученные в настоящей работе данные показывают, что предложенный метод «площадей» позволяет из опыта определить энергетические параметры плавления ДНК с большой точностью, если сочетать его с методом «скрепочной калориметрии». Обладая должной простотой и доступностью, он еще и абсолютен, а также в противоположность микрокалориметрии, не требует градуировки. Метод основан на измерениях разностных экспериментальных величин, что приводит к исключению систематических ошибок.

Авторы выражают благодарность Ю. С. Лазуркину, А. В. Вологодскому и А. В. Луканину за обсуждение результатов и ценные замечания.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Krauter H., Sturtevant J. M. Heats of the helix-coil transition of poly(A)-poly(U) complexes // *Biopolymers*.— 1968.— 6, N 4.— P. 491—512.
2. Wartell R. M. The helix-coil transition of poly(dA)·poly(dT) and poly(dA·dT) // *Ibid*.— 1972.— 11, N 4.— P. 745—762.
3. Gruenwedel D. W. Salt effects on the denaturation of DNA. A calorimetric study of the helix-coil conversion of the alternating copolymer poly(dA-T) // *Biochim. et biophys. acta*.— 1975.— 395, N 2.— P. 246—257.
4. Pivulov P. L., Pliitsin O. B., Birshtein T. H. Determination of stability of the DNA double helix in aqueous medium // *Biopolymers*.— 1969.— 8, N 11.— P. 559—571.

5. Klump H., Ackermann T. Experimental thermodynamics of the helix-random coil transition. Influence of the base composition of DNA on the transition enthalpy // *Ibid.*— 1971.— 10, N 3.— P. 513—522.
6. Gruenwedel D. W. Salt effects on the denaturation of DNA. A calorimetric investigation of the transition enthalpy of calf thymus DNA in Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solutions of varying ionic strength // *Biochim. et biophys. acta.*— 1974.— 340, N 1.— P. 16—30.
7. Мревлишвили Г. М. Низкотемпературная калориметрия биологических макромолекул // *Успехи физ. наук.*— 1979.— 128, № 2.— С. 273—312.
8. Lasurkin Yu. S., Frank-Kamenetskii M. D., Trifonov E. N. Melting of DNA: its study and application as a research method // *Biopolymers.*— 1970.— 9, N 11.— P. 1253—1263.
9. Франк-Каменецкий М. Д. Рассмотрение перехода спираль — клубок в гомополимерах методом наиболее вероятного распределения // *Молекуляр. биология.*— 1968.— 2, № 2.— С. 408—419.
10. Франк-Каменецкий М. Д. Теория перехода спираль — клубок для дезоксирибонуклеиновой кислоты с дополнительными связями между цепями // *Высокомолекуляр. соединения.*— 1965.— 7, № 2.— С. 354—361.
11. Франк-Каменецкий М. Д., Карапетян А. Т. К теории плавления комплексов ДНК с низкомолекулярными веществами // *Молекуляр. биология.*— 1972.— 6, № 4.— С. 621—627.
12. Термодинамические исследования комплексов ДНК с красителями / А. Т. Карапетян, В. И. Пермагоров, М. Д. Франк-Каменецкий, Ю. С. Лазуркин // *Там же.*— № 6.— С. 867—873.
13. Карапетян А. Т., Пермагоров В. И., Франк-Каменецкий М. Д. Термодинамические характеристики ДНК и ее комплексов с красителями // *Конформацион. изменения биополимеров в растворе.*— М.: Наука, 1973.— С. 43—48.
14. Сидоренко Н. В., Косаганов Ю. Н. Физико-химические исследования взаимодействия ДНК с РНКазой А // *Там же.*— С. 57—67.
15. Карапетян А. Т., Пермагоров В. И. Термодинамические исследования комплексов ДНК с дианиновыми красителями // *Молекуляр. биология.*— 1974.— 8, № 1.— С. 12—16.
16. Термодинамические характеристики комплексов ДНК-С<sup>+</sup>, ДНК-А<sup>+</sup> / А. И. Полетаев, В. И. Иванов, Л. Е. Минченкова, А. К. Щелкина // *Там же.*— 1968.— 3, № 2.— С. 303—311.
17. Study of peculiarity of interaction between histones and DNAs of different origin / G. A. Panosyan, P. O. Vardevanyan, R. R. Vardapetyan, A. T. Karapetyan // *Stud. biophys.*— 1982.— 91, N 3.— P. 237—238.
18. Определение среднего нуклеотидного состава ДНК из кривых плавления ДНК / П. О. Вардеванян, Ю. С. Бабаян, Р. Р. Вардапетян и др.— // *Биофизика.*— 1983.— 28, № 1.— С. 130—131.
19. Marmur J. A. A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms // *J. Mol. Biol.*— 1961.— 3, N 2.— P. 208—218.
20. Felsenfeld G., Hirshman S. F. A neighbour interaction analysis of the hyperchromism and spectra of DNA // *Ibid.*— 1965.— 13, N 2.— P. 407—427.
21. Waring M. J. Complex formation between ethidium bromide and nucleic acids // *Ibid.*— P. 269—282.
22. Веденов А. М., Дыхне А. М., Франк-Каменецкий М. Д. Переход спираль — клубок в ДНК // *Успехи физ. наук.*— 1971.— 105, № 3.— С. 479—519.
23. Frank-Kamenetskii M. D. Simplification of the empirical relationship between melting temperature of DNA, its GC content and concentration of sodium in solution // *Biopolymers.*— 1971.— 10, N 12.— P. 2623—2624.
24. Kozyavkin S. A., Lyubchenko Yu. L. The nonequilibrium character of DNA melting: effect of the heating rate on the line structure of melting curves // *Nucl. Acids Res.*— 1984.— 12, N 10.— P. 4339—4349.

Кировский гос. пед. ин-т

Ереван. гос. ун-т

Ин-т молекуляр. генетики АН СССР, Москва

Получено 17.04.89

#### THE EFFECT OF [Na<sup>+</sup>] IONS CONCENTRATION ON THE ENTHALPY OF DNA HELIX-COIL TRANSITION

A. T. Karapetyan, P. O. Vardevanyan, M. D. Frank-Kamenetskii

State Pedagogical Institute, Kirovokan

State University, Yerevan

Institute of Molecular Genetics, Academy of Sciences, USSR, Moscow

#### Summary

The enthalpy ( $\Delta H$ ) of the helix-coil transition of different GC-content DNAs is obtained by means of the «tie calorimetry» and «areas» methods.

The data obtained experimentally show that the slope of the dependence of  $\Delta H$  on  $\lg[\text{Na}^+]$  decreases with an increase of the GC-content of DNA.