

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

Фазовая диаграмма цинкового комплекса ДНК в щелочном растворе

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины Д. Н. Говоруном)

Методом дифференційної УФ-спектроскопії вивчені особливості впливу концентрації іонів Zn^{2+} на перехід В-ДНК у металізовану форму у всій області температур існування подвійної спіралі (від 25 до 70 °С) у розчинах, які вміщують 0,01 М трис-буферу (рН 8,5), 0,005 М NaCl і перемінні концентрації $ZnCl_2$. Виявлено, що іони Zn^{2+} індують гіпохромізм всього спектра поглинання ДНК, найбільша величина якого у максимумі поглинання ДНК досягає 24%, що відповідає ступеню металізації $[m] = 100\%$. Остання реалізується тільки при нагріванні розчинів, які мають концентрацію $[Zn^{2+}] \geq 2 \cdot 10^{-4}$ М. Вперше отримана фазова діаграма цинкового комплексу ДНК, що складається із областей з різним характером залежності $[m]$ від температури і концентрації іонів Zn^{2+} .

В 1993 г. Ли с соавт. [1] обнаружили в щелочных растворах, содержавших хлориды цинка, никеля и кобальта, переход В-формы природных и синтетических ДНК разного нуклеотидного состава в новое, металлизированное (m) состояние, обладающее рядом необычных свойств. Таких, например, как быстрый перенос электронов вдоль макромолекулы, характерный для металлической проводимости [2–4]. В дальнейшем ее наличие в жгутах молекул ДНК длиной 15 мкм было зарегистрировано в работе [5].

В сочетании со способностью природных и синтетических полинуклеотидов к самосборке, основанной на фундаментальном принципе комплементарности, данные этих работ позволяют предполагать возможность использования металлокомплексов многоцепочечных полинуклеотидов для создания наноэлектронных устройств и биосенсоров [1, 3, 6–9]. Именно это обстоятельство стимулировало значительное количество экспериментальных и теоретических работ [1–10], посвященных исследованию различных (в том числе и термодинамических: термостабильности [1, 4], теплоты [10] $B \rightarrow m$ -перехода) свойств металлизированных полинуклеотидов и особенностей переходов B -, A - $\leftrightarrow m$.

Существенно важным параметром, влияющим на эффективность $B \rightarrow m$ -перехода, является температура раствора, поскольку, согласно существующим моделям, m -форма образуется путем замещения ионами Mt^{2+} иминопотонов AT - и GC -пар двойной спирали [1, 2, 9], требующего локальных раскрытий последних. В работах [1, 4, 10] получены определяющие долю металлизированных звеньев ДНК изотермы тушения флуоресценции этидиума, которые показали, что повышение температуры понижает необходимую для формирования m -ДНК концентрацию ионов Mt^{2+} [10]. Этот результат естественен для предложенной в [1, 2] модели образования m -ДНК, которая, по существу, является флуктуационной. Однако в работах [1, 10] рассмотрен узкий интервал низких температур (0–37 °С).

В связи с этим целью настоящей работы является получение фазовой диаграммы комплекса ДНК + Zn^{2+} , т. е. измерение зависимости температур конформационных переходов от концентрации цинка во всей температурной области существования двойной спирали.

Материалы. Натриевая соль ДНК спермы лосося ($[GC] = 41\%$, молекулярный вес $M_w = (4 \div 6) \cdot 10^6$ Да) (Serva, Germany); химически чистые соли $ZnCl_2 \cdot 6H_2O$ и NaCl (Pe-

ахим., Россия). Буферы: какодилат натрия (pH 6,5) и трис (pH 8,5) (оба Serva, Germany). Все растворы ДНК содержали 0,01 М буфера и 0,005 М NaCl. Чтобы избежать образования гидроокисей при pH 8,5 (в том числе и нерастворимых), в качестве базового использовали раствор ZnCl₂ в трижды дистиллированной воде (pH 6,65). Концентрацию ZnCl₂ ([Zn²⁺]) определяли по весу и контролировали методом трилонометрического титрования. Различия в значениях [Zn²⁺], определенных обоими методами, не превышало 2%. Необходимую концентрацию ZnCl₂ получали добавлением в кювету с раствором ДНК в какодилатном или трис-буферах соответствующего количества базового раствора, имевшего концентрацию 0,03 М Zn²⁺. При этом кислотность растворов ДНК в трисе сохраняла свое значение в пределах 0,025 ед. pH вплоть до 6 · 10⁻⁴ М Zn²⁺. Ошибка определения [Zn²⁺] при всех указанных процедурах не превышала 0,5 %. Концентрацию фосфора ДНК (P), составлявшую (2 ± 0,1) · 10⁻⁵ М, определяли по коэффициенту молярной экстинкции ($\varepsilon_m = 6600 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) в максимуме ее поглощения ($\nu_m = 38500 \text{ см}^{-1}$). Ошибка определения кислотности растворов pH-метром "pH-340" (Россия) составляла ±0,025 ед. pH.

Методы. Дифференциальная УФ-спектроскопия. Дифференциальные УФ-спектры $\Delta A(\nu)$ измеряли при комнатной температуре $T_0 = 25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ на спектрофотометре UV VIS (Carl Zeiss Jena — Germany), используя четырехкюветную схему [11, 12]. ДУФ-спектры нормировали на концентрацию ДНК: $\Delta \varepsilon_{T_0}(\nu) = \Delta A_{T_0}(\nu)/P$. При больших концентрациях цинка ((2 ÷ 3) · 10⁻⁴ М) ДУФ-спектры показывали довольно сильную зависимость от времени инкубации, достигая равновесных формы и интенсивности через 30 мин после введения ZnCl₂ в раствор ДНК. При дальнейшей инкубации в течение 150 мин изменение $\Delta \varepsilon_{T_0}$ не превышало 100 М⁻¹ · см⁻¹. Приведенные в работе ДУФ-спектры и значения $\Delta \varepsilon_{T_0}$ при различных концентрациях ZnCl₂ соответствуют инкубации растворов при $T = T_0$ в течение 180 мин. Можно отметить, что в изученном диапазоне концентраций цинка ([Zn²⁺] ≤ 3 · 10⁻⁴ М) изменение оптической плотности растворов ДНК в длинноволновой части спектра ($\nu < 30000 \text{ см}^{-1}$) не наблюдалось. Это свидетельствует об отсутствии образования рассеивающих свет нерастворимых гидроокисей Zn(OH)₂, так что концентрация ионов Zn²⁺ была близка к концентрации ZnCl₂.

Термическая денатурация. Температурные зависимости изменения поглощения растворов ДНК в отсутствие и присутствии ZnCl₂ регистрировали на том же спектрофотометре, что и ДУФ-спектры, при $\nu = \nu_m = 38500 \text{ см}^{-1}$. Эта регистрация осуществлялась по двухкюветной схеме [11]. После 180 мин предварительной выдержки при $T = T_0$ эталонную кювету термостатировали при $T = T_0 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$, а рабочую — медленно нагревали со скоростью 0,25 град/мин для того, чтобы максимальным образом обеспечить термодинамическое равновесие. Температуру растворов определяли с ошибкой, не превышающей 0,5 °С. Регистрация ДУФ-спектров, а также зависимостей $\Delta A(T)$ в форме $h(T)$ и дифференцирование последних по температуре осуществлялись присоединенным к спектрофотометру персональным компьютером, который рассчитывал температурную зависимость

$$h(T) = h_{T_0} + \Delta h(T) = \left\{ \frac{[\Delta \varepsilon_{T_0} + \Delta \varepsilon(T)]}{\varepsilon_m} \right\}_{\nu_m},$$

где $h_{T_0} = h$ при $T = T_0$ ($\Delta \varepsilon(T)$ — изменение поглощения ДНК при нагревании).

Результаты и обсуждение. Дифференциальные УФ-спектры. В В-форме наиболее стерически доступными и обладающими максимальным молекулярным электростатическим потенциалом являются атомы N7 пуриновых оснований, взаимодействие с которыми катионов (в том числе и ионов Mt²⁺, имеющих *d*-электроны на внешних орбиталях)

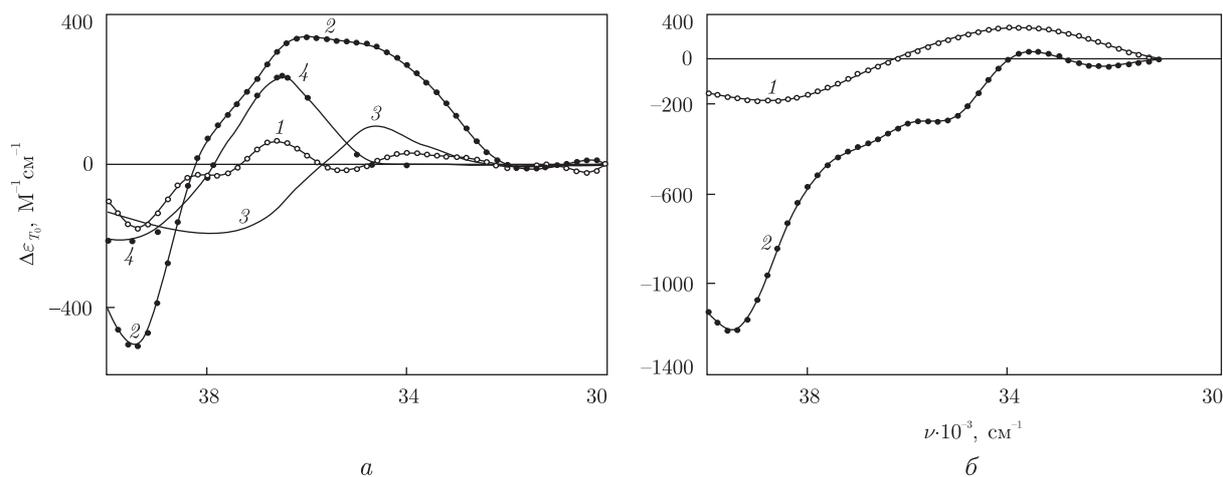


Рис. 1. Дифференциальные УФ-спектры ДНК, индуцированные ионами Zn^{2+} при комнатной температуре ($T_0 = 25 \pm 2$ °C): *a* — $9,9 \cdot 10^{-5}$ M Zn^{2+} ; 1 — pH 6,5; 2 — pH 8,5; 3 — GMP + $6 \cdot 10^{-3}$ M Ni^{2+} [13]; 4 — AMP + $2,5 \cdot 10^{-3}$ M Ni^{2+} [11] (интенсивности этих спектров уменьшены в соответствии с относительным содержанием нуклеотидов в ДНК: $[G] = 0,2$; $[A] = 0,3$); *б* — $2 \cdot 10^{-4}$ M Zn^{2+} ; 1 и 2 — то же, что и на рис. 1, *a*

надежно зарегистрировано самыми различными методами [11–13]. Это взаимодействие приводит к изменению энергии электронных переходов в азотистых основаниях и, как следствие, к сдвигу их полос поглощения, индуцирующему дифференциальные спектры, форма которых определяется не столько электронной структурой катионов, сколько природой связывающих их атомов азотистых оснований [11–13].

Как видно из рис. 1, при pH 6,5 интенсивности ДУФ-спектров ДНК, индуцированных ионами Zn^{2+} , очень малы и превышают ошибку измерения $\Delta\varepsilon$ ($100 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) только при $2 \cdot 10^{-4}$ M Zn^{2+} . Тем не менее, наблюдаемые положительная и отрицательная составляющие на спектре 1 рис. 1, *б* свидетельствует о наличии, хотя и слабого, внутрисферного взаимодействия ионов Zn^{2+} с азотистыми основаниями ДНК.

Можно сравнить ДУФ-спектр, индуцированный $9,9 \cdot 10^{-5}$ M Zn^{2+} при pH 8,5 (рис. 1, *a*) с полученными ранее в нейтральных растворах комплексов GMP и AMP с ионами Ni^{2+} , поскольку таковые в присутствии ионов Zn^{2+} в литературе отсутствуют. Однако взаимодействие ионов Zn^{2+} и Ni^{2+} с ДНК должно быть подобным, так как основное отличие между этими ионами — разное число электронов на внешних *d*-орбиталях. Во всяком случае оба иона координируют N7 пуриновых мономеров [14]. Таким образом, несмотря на малую интенсивность ДУФ-спектров металлокомплексов, согласие между спектрами 3, 4 и спектром 2 (рис. 1, *a*) позволяет предположить взаимодействие ионов Zn^{2+} с теми же атомами оснований и при pH 8,5. Однако повышение концентрации цинка индуцирует гипохромизм всего спектра поглощения ДНК (рис. 1, *б*). При этом наиболее интенсивный минимум на спектре 2 расположен при $\nu = 39400 \text{ cm}^{-1}$, т. е. вблизи положения максимума поглощения ДНК.

Как видно из рис. 2, концентрационные зависимости $\Delta\varepsilon_{T_0}$, полученные при pH 6,5 (*a-b*) и pH 8,5 (*a-c-d*), резко отличаются. Поскольку зависимость *a-b* обусловлена координацией ионов Zn^{2+} с N7 пуринов ДНК, наиболее вероятной причиной дополнительного гипохромизма ее поглощения в растворе, содержащем $ZnCl_2$, при изменении pH от 6,5 до 8,5 является переход полинуклеотида из *B*- в *m*-форму, обнаруженный в присутствии ионов Zn^{2+} в многочисленных работах [1–4, 5, 7, 10]. В этом случае общая для кривых *a-b* и *a-c* точка *a*

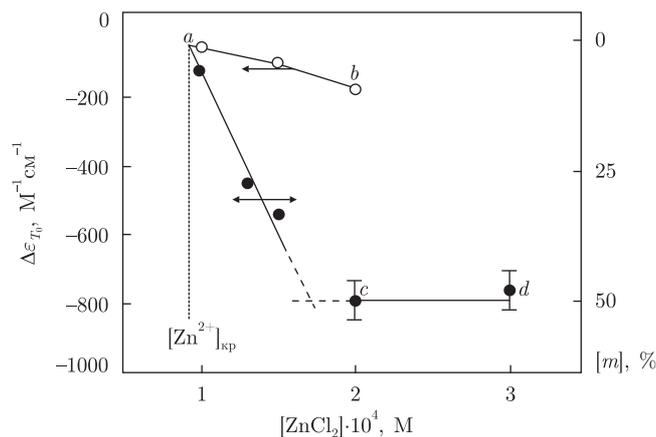


Рис. 2. Концентрационная зависимость изменения поглощения ДНК при $T = T_0$ и $\nu = 38500 \text{ см}^{-1}$: $a-b$ — рН 6,5; $a-c-d$ — рН 8,5; $[\text{Zn}^{2+}]_{\text{кр}} = (9,4 \pm 0,2) \cdot 10^{-5} \text{ М}$; $[m]$ — доля звеньев B -ДНК, перешедших в m -форму

определяет критическую концентрацию ионов Zn^{2+} ($[\text{Zn}^{2+}]_{\text{кр}}$), меньше которой в изученных ионных условиях и времени инкубации m -форма не образуется. На участке $c-d$ (рис. 2) $|\Delta\varepsilon_{T_0}|$ сохраняет свое максимальное значение ($\sim 800 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), что свидетельствует о достижении равновесного уровня степени металлизации ДНК ($[m]$). С другой стороны, согласно данным флуоресцентного анализа, в сопоставимых ионных условиях, при комнатной температуре и рН 8,4–8,5 в диапазоне концентраций $(2 \div 3) \cdot 10^{-4} \text{ М}$ Zn^{2+} в m -форму переходит 50% звеньев ДНК различного нуклеотидного состава, включая ДНК тимуса теленка ($[GC] = 42\%$) [4].

Таким образом, можно считать, что гипохромизм $\Delta\varepsilon_{T_0} = -800 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ($h_{T_0} = -0,12$) соответствует $[m] = 50\%$, а кривая $a-c-d$ представляет собой зависимость $[m]$ от концентрации ионов Zn^{2+} .

Температурные зависимости поглощения ДНК. Зависимости $h(T)$ при рН 8,5 (рис. 3, a) в отсутствие цинка и при концентрациях $[\text{Zn}^{2+}] < [\text{Zn}^{2+}]_{\text{кр}} = 9,4 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ имеют обычную форму, характерную для таковых в нейтральных растворах. В этом случае при нагревании наблюдается только гиперхромизм поглощения ($h > 0$), обусловленный разрушением двойной спирали ДНК. Однако температурные зависимости h и их производных по температуре при $[\text{Zn}^{2+}] > [\text{Zn}^{2+}]_{\text{кр}}$ имеют совершенно иную форму. Различие между зависимостями $h(T)$, наблюдаемыми при рН 6,5 и рН 8,5, особенно четко видно при больших концентрациях цинка. Так, при $3 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ Zn^{2+} вместо единственного кооперативного возрастания h при рН 6,5, наблюдаемого при $T > 60 \text{ }^\circ\text{C}$, в случае рН 8,5 нагревание индуцирует в диапазоне температур от T_0 до T_{s2} гипохромизм поглощения ДНК ($h < 0$), дополнительный по отношению к наблюдаемому при $T = T_0$ (рис. 3, a). В рамках сделанного выше предположения этот гипохромизм обусловлен возрастанием степени металлизации ДНК при повышении температуры, что вполне согласуется с существующими моделями образования m -формы [1, 2, 9]. Из полученных данных следует, что нагревание приводит к тому, что отношение $h_m/h_{T_0} = 2 \pm 0,3$ при всех значениях $[\text{Zn}^{2+}] > [\text{Zn}^{2+}]_{\text{кр}}$ (h_m — максимальный гипохромизм, достигаемый при нагревании). Этот результат отлично согласуется со сделанным выше предположением о том, что значение $h = -0,12$ ($\Delta\varepsilon = -800 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) соответствует переходу в m -форму 50% звеньев ДНК и, таким образом, при $[\text{Zn}^{2+}] \geq 2 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ нагревание приводит к полному переходу B -ДНК в металлизированную форму.

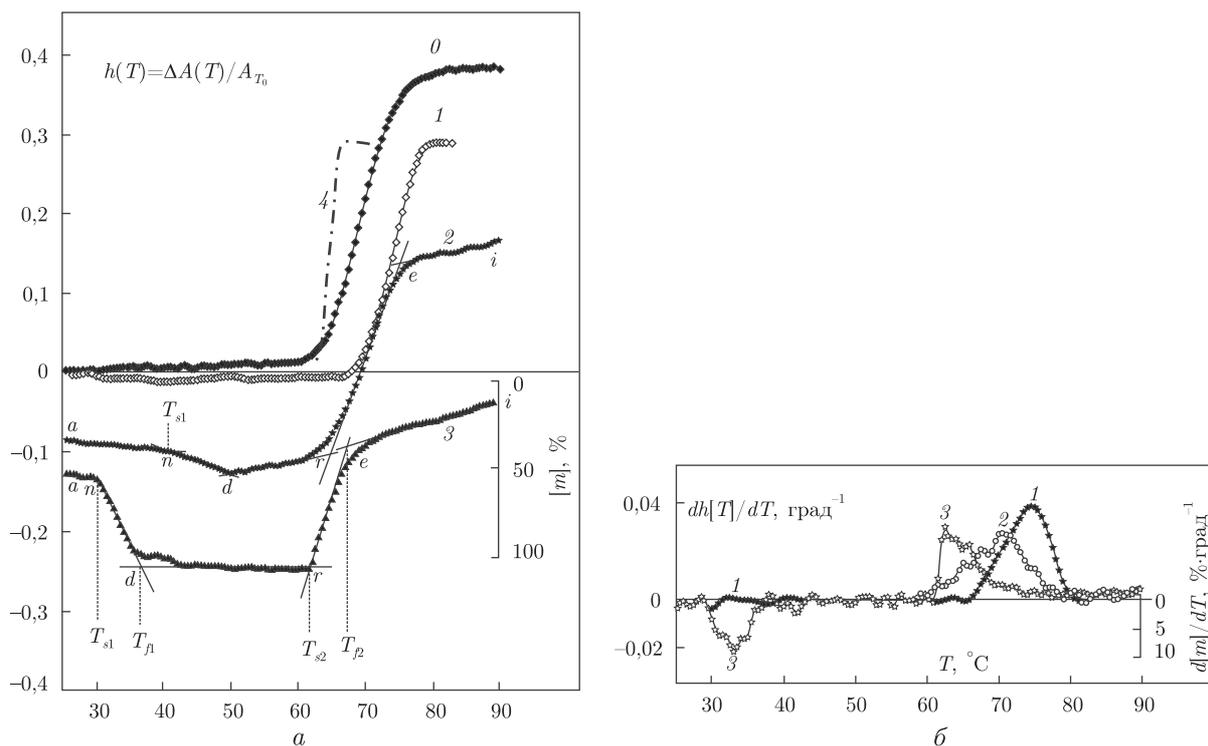


Рис. 3. Температурные зависимости изменения поглощения ДНК (*a*) и их производных по температуре (*б*) при рН 8,5 и $\nu = 38500 \text{ см}^{-1}$: A_{T_0} — оптическое поглощение ДНК при $T = T_0$; 0 — $[\text{Zn}^{2+}] = 0$; 1 — $6,5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$; 2 — $1,5 \cdot 10^{-4} \text{ М}$; 3 — $3 \cdot 10^{-4} \text{ М Zn}^{2+}$; 4 — кривая плавления ДНК в какодилатном буфере (рН 6,5) в присутствии $3 \cdot 10^{-4} \text{ М Zn}^{2+}$; T_{s1} — температура, при которой происходит резкое увеличение скорости металлизации ДНК; T_{f1} — температура окончания перехода в *m*-форму; T_{s2} и T_{f2} — соответственно температура начала и окончания разрушения двойной спирали ДНК; $[m]$ — то же, что и на рис. 2

Интенсивность перехода $B \rightarrow m$ зависит не только от концентрации цинка, но и от температуры. Так, при нагревании от $T = T_0$ до $T = T_{s1}$ (точки *n* на кривых 2, 3 и 4 рис. 3, *a*) величина производной $\beta(T) = d[m]/dT$ составляет 0,4–0,8%/град (рис. 3, *б*). Однако при $T > T_{s1}$ происходит резкое возрастание этой производной, максимальное значение которой увеличивается на порядок (рис. 3, *б*). Последнее позволяет предположить, что при $T > T_{s1}$ меняется характер металлизации ДНК: от флуктуационного к кооперативному, обусловленному появлением притяжения между металлизированными звеньями ДНК [1].

И, наконец, последнее замечание. Хотя условием металлизации ДНК является повышение рН, необходимое для того, чтобы приблизить кислотность раствора к pK_a депротонирования иминопотонов, принадлежащих N1 гуанина и N3 тимина соответственно в GC- и AT-парах, значения pK_a для этих атомов нуклеотидов (9,9–10 для TMP и 9,5–9,7 для dGMP) существенно больше pH_m 8,4–8,5 ($pH_m = \text{pH}$, при которой в *m*-форму переходит 50% звеньев ДНК) [4]. Причина такого различия, по-видимому, состоит в том, что, как показано методом ПМР-спектроскопии [15], ионы Mn^{2+} , образующие координационные связи с атомами N7 пуринов, понижают константу ионизации N1: связывание ионов Zn^{2+} и Cu^{2+} с N7 нуклеозидов Ado, Ino и Guo уменьшает pK_a атома N1 на 0,7–1,1 ед., так что наблюдаемые значения pH_m действительно оказываются близкими к величинам pK_a депро-

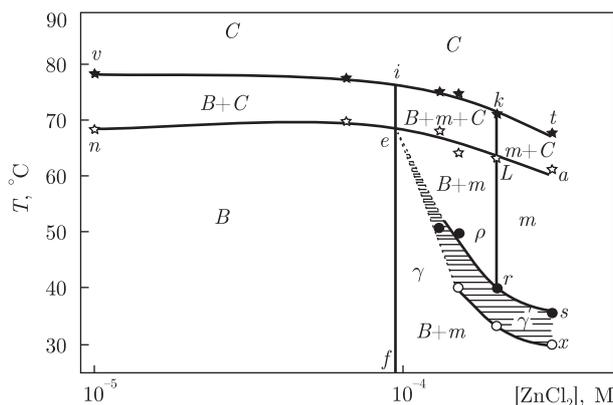


Рис. 4. Фазовая диаграмма комплекса ДНК с ионами Zn^{2+} при pH 8,5: B и m — области существования двухспиральной ДНК, соответственно, только в B - и m -формах; C — область существования одностранных ДНК; γ — область, в которой нагревание сдвигает равновесие между B - и m -формами в сторону увеличения доли последней. В заштрихованной ее части (γ') происходит резкое увеличение скорости металлизации (рис. 3, б); ρ — область, в которой нагревание не изменяет соотношения между B - и m -фазами

тонирования пуринов. Таким образом, не только повышение pH, но и взаимодействие ионов Mt^{2+} с N7 пуринов способствует реализации $B \rightarrow m$ -перехода в природной ДНК при pH 8–9.

Форма зависимостей $h(T)$ при pH 8,5 позволяет построить диаграмму фазового равновесия между B - и m -формами ДНК (рис. 4). Из нее следует, что двойная спираль сохраняется во всей изученной области концентраций цинка ниже кривой $n-e-L-a$, а выше кривой $v-i-k-t$ ДНК находится в одностранный конформации. Слева от прямой $e-f$ существует только B -форма, а в области, ограниченной линиями $a-L$, $L-r$ и $r-s$ — только m -форма. В остальной части фазовой диаграммы (области γ и ρ) B - и m -формы двухспиральной ДНК находятся в термодинамическом равновесии друг с другом. В области γ при заданной концентрации цинка и повышении температуры доля звеньев ДНК, находящихся в m -форме, возрастает, достигая максимального значения при температурах, соответствующих кривой $e-r-s$ (T_{f1} на рис. 3, а). При повышении концентрации $ZnCl_2$ эта температура быстро понижается и составляет при $3 \cdot 10^{-4}$ М Zn^{2+} всего $35^\circ C$, тогда как при 10^{-4} М Zn^{2+} $T_{f1} \sim 68^\circ C$. Однако в этом случае изменение $[m]$ при нагревании находится в пределах ошибки ее определения. В области γ существует участок, ограниченный кривыми $e-r-s$ и $e-x$ (T_{s1} на рис. 3, а), в котором процесс металлизации ДНК идет гораздо быстрее, чем при $T < T_{s1}$. Как уже отмечалось выше, эта область соответствует, предположительно, изменению характера металлизации ДНК. В отличие от области γ , в области ρ (рис. 4) нагревание не изменяет соотношения между количеством звеньев, находящихся в обеих формах, вплоть до достижения температур, при которых начинается разрушение двойной спирали (кривая $e-L-a$, соответствующая T_{s2} на рис. 3, а), заканчивающееся на кривой $i-k-t$, соответствующей T_{f2} на рис. 3, а.

Основные результаты. 1. Образование m -формы сопровождается гипохромизмом спектра поглощения ДНК. Установлена количественная связь между его величиной и степенью металлизации двойной спирали ($[m]$). 2. Существует температура, выше которой скорость металлизации ДНК увеличивается в несколько раз, однако дальнейшее нагревание приводит к равновесному для каждой концентрации значению $[m]$, которое достигает 100% лишь при $[Zn^{2+}] \geq 2 \cdot 10^{-4}$ М.

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. 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.
3. Wettig Sh. D., Li C.-Z., Long Y.-T. et al. M-DNA: A self-assembling molecular wire nanoelectronics and biosensing // *Analytical Sciences.* – 2003. – **19**. – P. 23–26.
4. 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.
5. Rakitin A., Aich P., Papadopoulos C. et al. Metallic conduction through engineered DNA: DNA nanoelectronic building blocks // *Phys. Rev. Lett.* – 2001. – **86**, No 6. – P. 3670–3673.
6. Delaney S., Barton J. K. Long-range DNA charge transport // *J. Org. Chem.* – 2003. – **68**, No 17. – P. 6475–6483.
7. Lindegaard D., Wood D. O., Wengel J., Lee J. S. Electron injection from the side of an M-DNA duplex // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2006. – **11**, No 1. – P. 82–87.
8. Bhalla V., Bajpai R. P., Bharadwaj L. M. DNA electronics // *Europ. Molec. Biol. Organ. Rep.* – 2003. – **4**, No 5. – P. 442–445.
9. Sanz Miguel P. J., Amo-Ochoa P., Castillo O. et al. Supermolecular chemistry of Metal-Nucleobase complexes // *Metal Complex-DNA Interactions*. Eds. N. Hadjiladis and E. Sletten. – New York: Wiley, 2009. – Ch. 4. – P. 95–132.
10. Wettig Sh. D., Wood D. O., Lee J. S. Thermodynamic investigation of M-DNA: a novel metal ion-DNA complex // *J. Inorg. Biochem.* – 2003. – **94**. – P. 94–99.
11. Sorokin V. A., Valeev V. A., Gladchenko G. O. et al. Ni^{2+} ion effect on conformations of single-, double- and three-stranded homopolynucleotides containing adenine and uracil // *Macromol. Biosci.* – 2001. – **1**. – P. 191–203.
12. Sorokin V. A., Valeev V. A., Gladchenko G. O. et al. Interaction of divalent metal ions with four-stranded polyriboinosinic acid // *Biophysics.* – 2000. – **45**. – P. 749–755.
13. Sorokin V. A., Valeev V. A., Gladchenko G. O. et al. The nature of differences in binding of 3d transition metal ions to guanosine – 5'-monophosphate // *Ibid.* – 1999. – **44**. – P. 38–44.
14. Aoki K. Nucleosides, nucleotides and metal ions // *Metalloproteins: Chemical properties and biological effects*. Eds. S. Otsuka, T. Yamanaka. – Amsterdam; Oxford; New York; Tokio: Elsevier, 1988. – Vol. 8, ch. 13. – P. 457–490.
15. Kim S.-H., Martin R. B. Binding sites and stabilities of transition metal ions with nucleosides and related ligands // *Inorg. Chim. Acta.* – 1984. – **91**. – P. 19–24.

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

Поступило в редакцію 29.11.2010

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

Phase diagram of a DNA-zinc complex in alkaline solution

The method of differential UV-spectroscopy is applied to study peculiarities of the effects of Zn^{2+} ion concentration on the B-DNA transition into the metallized form in the whole range of temperatures of the double helix existence (from 25 °C to 70 °C) in solutions containing 0.01 M Tris-buffer (pH 8.5), 0.005 M NaCl, and variable concentrations of $ZnCl_2$. It is revealed that Zn^{2+} ions induce hypochromicity of the whole absorption spectrum of DNA the limit value of which in the DNA absorption maximum runs up to 24%, which corresponds to the metallization degree $[m] = 100\%$. The last is realized at the heating of solutions being of $[Zn^{2+}] \geq 2 \cdot 10^{-4}$ M concentration. For the first time, the phase diagram has been obtained for the DNA-zinc complex, being composed of regions with different characters of the $[m]$ dependence on the temperature and the Zn^{2+} ion concentration.