

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ  
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԹՈՐՈՍՅԱՆ ՄԱՐԳԱՐԻՏԱ ԱՆԴՐԵՅԻ

ՀԱՐԹՔՐՈՍՈՖՈՐՈՎ Լ ԻԳԱՆԴՆԵՐԻ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ  
ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՀԵՏ

Գ.00.02 ԿԵՆՍԱՖԻԳԻԿԱԿԱՆ ԿԵՆՍԱՓՆՆՖՈՐՄԱՄԻԿԱ

Ֆիզիկամաթեմատիկական գիտություններին թեկնածուի գիտական  
աստիճանի հայցման

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅՈՒՆ

Գիտական ղեկավար՝

Ֆիզիկամաթեմատիկական  
գիտություններին դոկտոր,  
պրոֆեսոր Ա.Թ.Կարապետյան

ԵՐԵՎԱՆ 2018  
Բովանդակություն

<b>Գլ ու խ 1. Գրական ակնարկ</b>	8
1.1. ԴՆԹ-մոլեկուլի կառուցվածքային առանձնահատկությունները	8
1.1.1 ԴՆԹ-ի կառուցվածքային դասական ձևերը. A, B ձևի երկշղթա պարույրներ:	8
1.1.2. Z ԴՆԹ:	12
1.1.3. Եռաշղթա ԴՆԹ (տրիպլեքսներ):	15
1.1.4. H-ԴՆԹ:	17
1.1.5. Քառաշղթա ԴՆԹ (G-քվադրուպլեքս):	19
1.2. Կառուցվածքային անցումները ԴՆԹ-ում:	22
1.2.1. ԴՆԹ-ի պարույր-կծիկ անցումը:	25
1.2.2. ԴՆԹ-ի B→Z անցումը:	30
1.3. ԴՆԹ-ի հետլիզանդների կոմպլեքսների կառուցվածքները:	32
1.3.1. ԴՆԹ-ի հետլիզանդների կոմպլեքսագոյացումը ինտերկալացիայի եղանակով:	33
1.3.2. ԴՆԹ-ի հետլիզանդների կովալենտ կապերը:	37
<b>Գլ ու խ 2. Հետազոտության նյութերը և մեթոդները:</b>	39
2.1. Օգտագործված նյութերը:	39
2.1.1. Կրկնակի պարուրային poly(G)·poly(C) պոլիմերի բնույթի և կառուցվածքի պատրաստումը:	41
2.2. Փորձարարական մեթոդները:	44
Սպեկտրոֆոտոմետրիա:	44

Շրջանային				դիքրոիզմ:
45				
2.3.3	ալման	դիֆերենցիալ	կորերի	կառուցումը:
46				
Գլուխ	3.	Արդյունքները	և	դրանց քննարկումը:
47				
Չարթ	քրոմոֆորով	լիզանդների	փոխազդեցությունը	և նուկլեինաթթուների
հետ:	..... 47			
3.1.	Միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը նուկլեինաթթուների			
հետ:	..... 49			
3.1.1.	Միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը երկշղթա պարուրային			
	poly(A)·poly(U)			
	և poly(G)·poly(C) սինթետիկ պոլիմերների հետ:			
51				
3.1.2.	Միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը poly(G)-ի հետ:			
57				
3.2.1.	AT- և GC- զույգերի հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության			
	ընտրողականության հետազոտումը:			
68				
3.2.2	AT- և GC- զույգերի հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության			
	ընտրողականության հետազոտումը ԴՆԹ-ի հալման դիֆերենցիալ			
	կորերի			
միջոցով:	..... 64			
3.2.3	ԴՆԹ-ի AT- և GC- զույգ հիմքերի հետ միտոքսանտրոնի			
	ընտրողականության ուսումնասիրությունը կոմպլեքսի			
	կլանման սպեկտրների միջոցով:..... 69			
3.3	B→Z անցման առանձնահատկությունները poly(dG-dC)·poly(dG-dC)			
	պոլիմերների հետ միտոքսանտրոնի առկայությունը:			
74				
3.4	Էթիդիոլ մ բրոմիդի փոխազդեցությունը սինթետիկ			
	պոլիմերների երկշղթա պարուրային հետ:			
82				

3.4.1 Էթիդիոլ մ բրոմիդի փոխազդեցությունը սինթետիկ երկշղթա poly(A)-poly(U) պոլիմերներում կլեոտիդի հետ:

82

3.4.2 ԷԲ-ի փոխազդեցությունը սինթետիկ երկշղթա poly(G)-poly(C) պոլիմերներում կլեոտիդի հետ:

87

3.5 Կապման ջերմադինամիկական պարամետրերի որոշումը կապման իզոթերմից:.....93

3.6 Էթիդիոլ մ բրոմիդի և միտոքսանտրոնի երկշղթա նուկլեինաթթուների

հետեռաբաղադրիչ կոմպլեքսագոյացման ուսումնասիրությունը  
98

Եզրահանգում .....104

Եզրակացություններ

105

Գրականություն .....108

### **Ներածություն**

**Թեմայի արդիականությունը:** Ժամանակակից մոլեկուլային կենսաֆիզիկայի հիմնախնդիրներից է նուկլեինաթթուների (ՆԹ) հետ ցածրամոլեկուլային կենսաբանական ակտիվ միացությունների՝ լիզանդների, փոխազդեցության առանձնահատկությունների պարզաբանումը: Այս հարցի արդիականությունը պայմանավորված է այն հանգամանքով, որ շատ հակաբիոտիկներ, կոնցերագեններ և մոլտագեններ in vivo ազդում են բջջային ՆԹ-ի վրա, անմիջական կապվելով նրա հետ [71]:

ԲՆԹ-ի և կենսաբանական ակտիվ միացությունների փոխազդեցության բնույթի, կառուցվածքի և ջերմադինամիկայի բացահայտմանը նվիրված են բազմաթիվ փորձարարական և տեսական աշխատանքներ [62, 71], որտեղ մանրամասն ներկայացված են տարբեր լիզանդների ՆԹ-ի հետ փոխազդեցության հիմնական

օրինաչափ ափու թյ ու ն ն երի ու ս ու մ ն ա ս ի թ ու թ յ ու ն ն երի արդյ ու ն ք ն երը: Այ ս լ ի գ ա ն դ ն երի շ ար ք ու մ յ ու թ օ թ ի ն ա կ տեղ է գ բ աղ ե ց ն ու մ հ ա կ ա ու ճ ու ց ք ա յ ի ն ա ն տր ա ց ի կ լ ի ն ա յ ի ն ա ն տի ք ի ո տի կ մ ի տո ք ս ա ն տր ո ն ը, որը պ ար ու ն ա կ ու մ է հ ար թ ք թ ո մ ո Ֆ ո թ և ու ն ի եր կ ու կ ող մ ն ա յ ի ն ա լ ի ֆ ա տի կ խ մ բ եր: Մ ի տո ք ս ա ն տր ո ն ի փ ո խ ա զ դ ե ց ու թ յ ու ն ը Դ Ն Թ-ի հ ե տ հ ա մ ե մ ա տ ա ք ար լ ա վ է ու ս ու մ ն ա ս ի թ վ ա ծ [52], ս ա կ ա յ ն Ռ Ն Թ-ի (A-ձ և), Z-ձ և ի և ք վ ա դ թ ու ա լ ե ք ս ի հ ե տ գ ո թ ծ ն ա կ ա ն ու մ ու ս ու մ ն ա ս ի թ վ ա ծ չ է: Յ ա յ տ ն ի է, որ ո չ կ ա ն ո ն ի կ Ն Թ-ն եր ի կ ա ճ ու ց վ ա ծ ք ն երը գ գ ա լ ի տ ար բ եր վ ու մ ե ն B-ձ և ի ց և ն մ ա ն տ ար բ եր ու թ յ ու ն ն երը կ ար ող ե ն ու ն ե ն ա լ ս կ գ բ ու ն ք ա յ ի ն ն շ ա ն ա կ ու թ յ ու ն լ ի գ ա ն դ-Ն Թ փ ո խ ա զ դ ե ց ու թ յ ա ն պր ո ց ե ս ու մ:

Առ ա ն ձ ն ա հ ա տ ու կ ու շ ա դ թ ու թ յ ա ն է ար ժ ա ն ի ն ա ն հ ար թ ք թ ո մ ո Ֆ ո թ պ ար ու ն ա կ ող մ ի ք ա ն ի լ ի գ ա ն դ ն երի հ ա մ ա տեղ փ ո խ ա զ դ ե ց ու թ յ ու ն ը Ն Թ-ն եր ի հ ե տ: Այ ս հ ա ց ը ա ճ ա վ ե լ ար ժ ե ք ա վ ո թ է, ք ա ն ի որ Ն Թ-ն երը բ ջ ջ ու մ շ թ ջ ա պ ա տ վ ա ծ ե ն տ ար բ եր մ ի ա ց ու թ յ ու ն ն եր ո վ, որ ո ն ք մ ի ա ժ ա մ ա ն ա կ կ ար ող ե ն կ ա պ վ ե լ Ն Թ-ն եր ի հ ե տ ի ն չ ա ք ս մ ե կ, ա յ ն ա ք ս է լ մ ի ք ա ն ի ձ և եր ո վ:

**Ատե ն ա փ ո ս ու թ յ ա ն ն ա պ ա տ ա կ թ և ի ն դ ի թ ն եր թ:** Ա շ խ ա տ ա ն ք ի ն ա պ ա տ ա կ ն է ու ս ու մ ն ա ս ի թ ե լ ի ն տ եր կ ա լ յ ա ց ի ա յ ի մ ե խ ա ն ի գ մ ո վ մ ի տո ք ս ա ն տր ո ն ի փ ո խ ա զ դ ե ց ու թ յ ա ն առ ա ն ձ ն ա-հ ա տ կ ու թ յ ու ն ն երը եր կ շ ղ թ ա պ լ ի ճ ի բ ո ն ու կ լ ե ո տ ի դ ն եր ի և ք ա ա շ ղ թ ա [poly(G)]<sub>4</sub>-ի հ ե տ, որ ո շ ե լ կ ո մ ա լ ե ք ս ա գ ո յ ա ց մ ա ն ջ եր մ ա դ ի ն ա մ ի կ ա կ ա ն պ ար ա մ ե տր եր ը, ի ն չ ա ք ս ն ա ն ու ս ու մ ն ա ս ի թ ե լ մ ի տո ք ս ա ն տր ո ն ի և է թ ի դ ի ու մ բ թ ո մ ի դ ի (ԷԲ) հ ա մ ա տեղ փ ո խ ա զ դ ե ց ու թ յ ու ն ը Ն Թ-ն եր ի հ ե տ: Յ ա շ վ ի առ ն ե լ ո վ մ ի տո ք ս ա ն տր ո ն ի յ ու թ օ թ ի ն ա կ կ ա ճ ու ց վ ա ծ ք ի առ ա ն ձ ն ա հ ար կ ու թ յ ու ն ն երը, բ ա ց ա հ ա յ տե լ մ ի տո ք ս ա ն տր ո ն ի ա զ դ ե ց ու թ յ ու ն ը ա ղ ի բ ար ձ թ կ ո ն ց ե ն տր ա ց ի ա յ ո վ հ թ ա հ թ վ ա ծ B→Z ա ն ց մ ա ն վ թ ա:

Ն շ վ ա ծ ն ա պ ա տ ա կ ն եր ի ի թ ա կ ա ն ա ց մ ա ն հ ա մ ար ձ և ա կ եր պ վ ա ծ ե ն հ ե տ ն յ ա լ հ ի մ ն ա կ ա ն ի ն դ ի թ ն եր թ:

- Ս ա ք ե կ տր ո Ֆ ո տ ո մ ե տր ի կ մ ե թ ո դ ո վ ու ս ու մ ն ա ս ի թ ե լ եր կ շ ղ թ ա Դ Ն Թ-ի, ս ի ն թ ե տի կ poly(G)poly(C) և poly(A)·poly(U) պ լ ի ճ ի բ ո ն ու կ լ ե ո տ ի դ ն եր ի հ ե տ մ ի տո ք ս ա ն տր ո ն ի փ ո խ ա զ դ ե ց ու թ յ ու ն ը տ ար բ եր ջ եր մ ա ս տ ի ճ ա ն ն եր ի և ի ո ն ա կ ա ն ու ժ եր ի պ ա յ մ ա ն ն եր ու մ: Յ ա մ ե մ ա տե լ

ստացված արժեքները էԲ-ի համանման փոխազդեցությունների արդյունքում ստացված արժեքների հետ:

- Ուսումնասիրել քառազղթա [poly(G)]<sub>4</sub>-ի հետ միտոքսանտրոնի կապումն առանձնահատկությունները:
- Պարզել AT և GC զույգերի նկատմամբ միտոքսանտրոնի ընտրողականության առանձնահատկությունները:
- Ուսումնասիրել B→Z անցումը միտոքսանտրոնի առկայությամբ:
- Ուսումնասիրել ՆԹ-ների հետ միտոքսանտրոնի և էԲ-ի համատեղ կապումը: Ստանալ միտոքսանտրոն-ՆԹ-ԷԲ եռաբաղադրիչ կոմպլեքսների հալման ջերմադինամիկական պարամետրերը:

Այս խնդիրների արդյունավետ լուծման համար կատարվել են ուսումնասիրություններ սպեկտրի տեսանելի և ուլտրամանուշակագույն տիրույթում, շրջանային դիֆրոմի և սպեկտրոֆոտոմետրիկ մեթոդներով:

**Աշխատանքի նորույթը և նշանակությունը:** Աշխատանքում առաջին անգամ ուսումնասիրվել է երկզղթա, քառազղթա պլիմերներն ու կլեոտիդների հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը և միտոքսանտրոն-ՆԹ-ԷԲ եռաբաղադրիչ կոմպլեքսի ջերմակայունությունը: Որոշվել են ՆԹ-ի հետ միտոքսանտրոնի կապման ջերմադինամիկական պարամետրերը և AT, AU և GC զույգ հիմքերի նկատմամբ ընտրողականությունը: Ստացված արդյունքները համեմատվել են էԲ-ի կապման համար ստացված տվյալների հետ: Ուսումնասիրվել է միտոքսանտրոնի ազդեցությունը B→Z անցման վրա: Ստացվել են միտոքսանտրոն-ՆԹ-ԷԲ եռաբաղադրիչ կոմպլեքսների հալման պարամետրերը:

**Պատասխանության են ներկայացվում ատենախոսության հետևյալ հիմնական դրույթները:**

1. Երկզղթա և քառազղթա պլիմերներն ու կլեոտիդների հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության փորձնականորեն որոշված ջերմադինամիկական պարամետրերը:
2. Հալման դիֆերենցիալ կորերի միջոցով բացահայտված միտոքսանտրոնի ընտրողականությունը GC և AT զույգ հիմքերի նկատմամբ:

3. poly(dG-dC)poly(dG-dC) մուլտիպլի B→Z անցման վրա միտոքսանտրոնի ազդեցությունը:
4. Երկշղթա ՆԹ-ների հետ միտոքսանտրոնի և ԷԲ-ի համատեղ փոխազդեցության փորձարարական ուսումնասիրությունների արդյունքները:

**Աշխատանքի գիտական և գործնական արժեքը:** Հակաուռուցքային անտրացիկլինային դեղամիջոց միտոքսանտրոնը մեծ կիրառություն ունի կլինիկական քիմիաթերապիայում: Այս լիգանդը թափանցելով բջիջ, կապվում է երկշղթա ԴՆԹ-ի հետ և արգելակում է ռեպլիկացիայի և տրանսկրիպցիայի պրոցեսները: Աշխատանքում առաջին անգամ ուսումնասիրված է միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը երկշղթա և բազմաշղթա ՆԹ-ների հետ: Որոշված է կոմպլեքսագոյացման ջերմադինամիկական պարամետրերը: Ստացված փորձարարական տվյալները կարող են օգտագործվել ավելի արդյունավետ հակաուռուցքային դեղամիջոցների ստեղծման գործում: Այս տվյալները մասամբ լրացնում են ինտերկալյատոր-լիգանդների ռիբոնուկլեինաթթուների հետ փոխազդեցությունների վերաբերվող այժմ գոյություն ունեցող բազմաթիվ հարցերի շարքում նկատվող բացը: Ստացված գիտական արդյունքները կարող են օգտագործվել ԵՊՀ-ի ֆիզիկայի և կենսաբանության ֆակուլտետների ուսումնական ծրագրերում, ինչպես նաև ուռուցքների քիմիաթերապիայով զբաղվող մասնագետների կողմից:

**Աշխատանքի նախապատվությունը:** Առենախոսական աշխատանքի նյութերը ներկայացվել են International workshop on ionizing and non-ionizing radiation influence on structure and biophysical properties of living cells (Tsaghkadzor, Armenia, 2015), Conversation on Biomolecular Stereodynamics, (Albany, USA, 2015), ինչպես նաև ՃԾՀԱՀ-ի ֆիզիկայի և էլեկտրաոնիկայի ամբիոնի սեմինարներում, ԵՊՀ-ի կենսաֆիզիկայի ամբիոնում:

**Հրատարակումները:** Առենախոսության վերաբերյալ հրատարակված են թվով 9 գիտական աշխատանքներ:

**Աշխատանքի կառուցվածքը և ծավալը:** Առենախոսությունը բաղկացած է ներածություն, գրական ակնարկ, հետազոտության մեթոդներ և

նյութեր, հետազոտության արդյունքներ և դրանց քննարկումներ բաժիններից, ինչպես նաև ամփոփումից և եզրակացություններից:

Ատենախոսությունը շարադրված է 118 էջի վրա և պարունակում է 5 աղյուսակ, 37 նկարներ, գրականություն, որը պարունակում է 114 անվանում:

## **ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ**

### ***1.1 ԴՆԹ մոլեկուլի կառուցվածքային առանձնահատկությունները:***

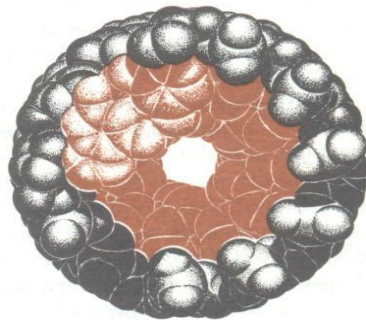
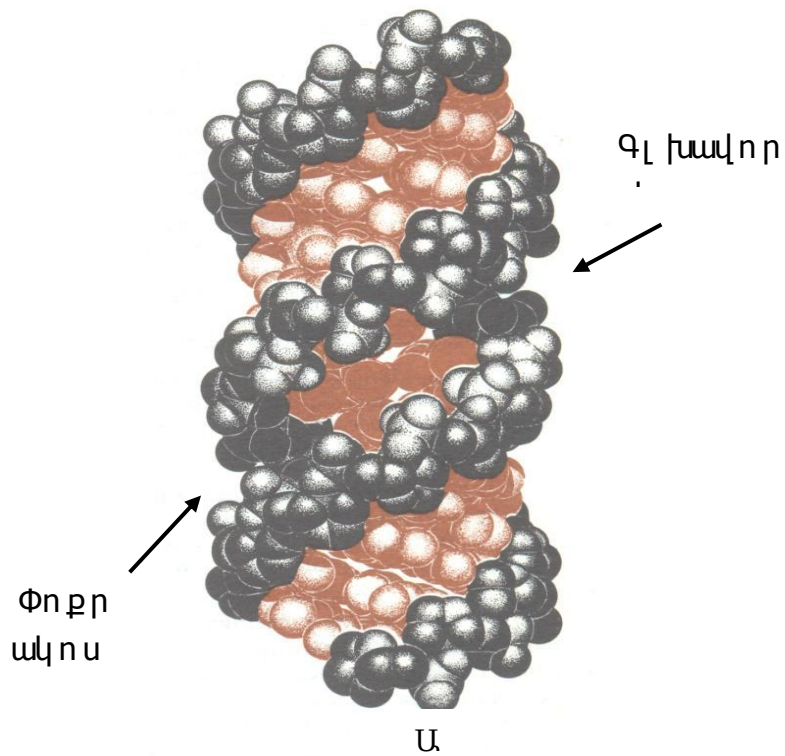
Կենդանի օրգանիզմներում բոլոր փոփոխությունները առաջին հերթին կապված են բջիջների կորիզների հետ, քանի որ այստեղ է գտնվում ժառանգական ինֆորմացիա կրող և այն սերնդից սերունդ փոխանցող լամենակարևոր § մոլեկուլը՝ ԴՆԹ-ն [1]: Անտարակույս, կենդանի օրգանիզմում իրականացվող բոլոր պրոցեսները կապված են այս մոլեկուլի կառուցվածքային փոփոխությունների հետ, որոնք կենսաբանական ակտիվ մոլեկուլների՝ լիզանդների հետ փոխազդեցության արդյունք են: Բջջի կենսագործունեությունը



դեկավարվում է լիգանդների հետ ԴՆԹ-ի ակտիվ փոխազդեցության շնորհիվ, որը ընթանում է ժառանգական մակրոմոլեկուլի կառուցվածքի շարունակական փոխարկումների առկայությամբ:

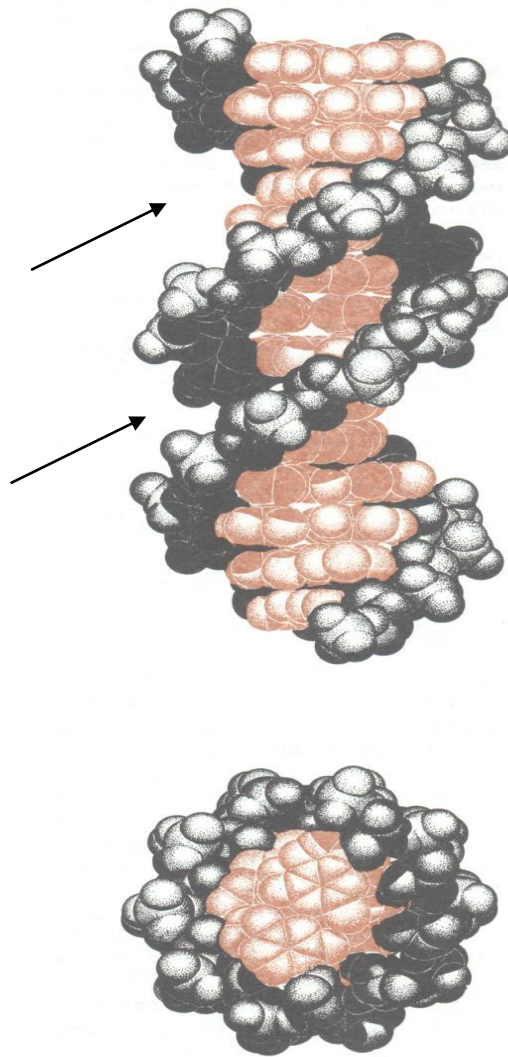
Ստորև համառոտակի կքննարկենք ԴՆԹ-ի և լիգանդների կոմպլեքսագոյացման ջերմադինամիկայի, կառուցվածքների և կառուցվածքային փոխարկումների վերաբերյալ այժմ գոյություն ունեցող տվյալները, որոնք կօգնեն մեր կողմից ստացված տեսական և փորձարարական արդյունքների վերծանմանը և դրանց հիման վրա որոշակի եզրահանգումներ կատարելուն:

**1.1.1 ԴՆԹ-ի կառուցվածքային դասական ձևերը. A, B ձևի երկշղթապարույրներ:** Անցյալ դարի 50-ական թվականներին ֆիզիկոս Կրիկը և կենսաբան Ուոտսոնը, վերծանելով Ուիլկինսի կողմից ստացված ռենտգենագրամները, առաջարկեցին ԴՆԹ-ի երկրորդային կառուցվածքի մոդելը [2]: Համաձայն այդ մոդելի դեզօքսիռիբոսուկլեինաթթուն բյուրեղային վիճակում կարող է լինել երկշղթապարույրի երկու տարբեր ձևերում: Հարաբերական փոքր խոնավության պայմաններում ԴՆԹ-ն A ձևում է (Նկար 1ա) [3], խոնավության մեծացման դեպքում այն ընդունում է B ձևը (Նկար 1բ): Միջավայրի հարաբերական խոնավության փոփոխության և փորձի տարբեր պայմաններում հայտնաբերվել են երկշղթապարույրի այլ տարատեսակներ ևս B, C, D,



Նկար 1ա. ԴՆԹ-ի A ձևի կառուցվածքը:  
 Ներկայացված են տեսքը կողքից (Ա) և վերևից (Բ): A-ԴՆԹ-ի մեկ լրիվ պարույրը պարունակում է նուկլեոտիդային հիմքերի 11 զույգ: Նուկլեոտիդային զույգերին տարած ուղղահայացի նկատմամբ  $20^\circ$  թեքվածության և  $4.7 \text{ \AA}$  շեղվածության հետևանքով պարույրի առանցքը անցնում է գլխավոր ակոսով (մեծ ակոս): Կառուցվածքը սնամեջ է: Այդ է պատճառը, որ գլխավոր ակոսը խորն է, իսկ փոքրը՝





*Նկար 1բ: ԴՆԹ-ի B ձևի կառուցվածքը:*

*Ներկայացված են տեսքը կողքից (Ա) և վերևից (Բ): B-ձևում երկշղթա պարույրի առանցքը անցնում է նուկլեոտիդային զույգերի միջով, այդ պատճառով գլխավոր և փոքր ալոսները պարզ արտահայտված չեն: Ալոսների խորուրդները շատ չեն տարբերվում միմյանցից, սակայն լայնությունները տարբերվում են. գլխավոր ալոսը ավելի լայն է, քան փոքր ալոսը: Մեկ լրիվ պարույրը պարունակում է նուկլեոտիդային հիմքերի 10 զույգեր [3]:*

Ե աջ պարուրային ձևեր և Z, Z' ձախ պարույր ձևեր: Աջ պարույր բոլոր ձևերը ընդգրկված են A կամ B դասի մեջ: Այս տարանջատումը պայմանավորված է ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կազմի մեջ մտնող հնգանկյուն շաքարի կոնֆորմացիայով. A ընտանիքին հատուկ է C<sub>3'</sub>-Էնդո

կոնֆորմացիա, իսկ B ընտանիքին՝ C<sub>2</sub>'-Էնդո կոնֆորմացիան [4]: Շաքարի կոնֆորմացիայի այս տարբերությամբ է պայմանավորված միևնույն պոլիմերային շղթայի երկու հարևան ֆոսֆատների միջև եղած հեռավորությունը 5.9 Å (C<sub>3</sub>' Էնդո կոնֆորմացիա) և 7.0 Å (C<sub>2</sub>' Էնդո կոնֆորմացիա), որի հետևանքով երկշղթա պարույրները տարբեր կառուցվածքներ ունեն (Նկար 1-ի (ա) և (բ)) [3]: Հատկանշական է, որ A-ձևի պոլիմերային շղթաներն ունեն խիստ պահպանողական կառուցվածք (A-ՌՆԹ և A-ԴՆԹ), իսկ B ընտանիքի պարույրները ի տարբերություն A ընտանիքի, հատուկ է միայն ԴՆԹ-ի մոլեկուլին:

A և B ընտանիքի պարույրները տարբերվում են նաև երկու՝ գլխավոր և փոքր ակոսների և պարույրի առանցքից հիմքերի շեղվածության մակրոսկոպիկ առանձնահատկություններով: Պարույրի առանցքից գույգի մեծ շեղվածությունը բերում է նրան, որ A ձևի պոլիմերային շղթաները ժապավենի նման շրջահոսում են ԴՆԹ-ի մակրոմոլեկուլը՝ նրա ներսում առաջացնելով ~3,5Å վանդերվալսյան տրամագծով սնամեջ գլանաձև կառուցվածք (Նկար 1(ա)): Այդ պատճառով A-ԴՆԹ-ի մոլեկուլը առանձնանում է շատ խորը և նեղ գլխավոր, ոչ խորը ակոսներով (Նկար 1(ա)): B տիպի ԴՆԹ-ի մոլեկուլներում պարույրի առանցքը անցնում է գույգերի հարթությունների միջով, որի պատճառով ակոսները այստեղ հստակ չեն արտահայտված: Դրանց խորությունները մոտավորապես նույնն են, բայց լայնությամբ տարբերվում են. գլխավոր ակոսը փոքրից լայն է: A և B տիպի մակրոմոլեկուլների ակոսների երկրաչափական չափերի տարբերությունով են պայմանավորված ցածրամոլեկուլային միացությունների հետ ԴՆԹ-ի կոմպլեքսագոյացման շատ առանձնահատկություններ: Հատկանշական է, որ ցածրամոլեկուլային միացությունների և ԴՆԹ և ՌՆԹ մոլեկուլների հետ փոխազդեցության պրոցեսում կարևոր դեր է խաղում ոչ միայն ակոսների երկրաչափական համապատասխանությունը, այլև դրանց և լիզանդների էլեկտրաստատիկ համապատասխանությունը: ՌՆԹ-ի կրկնակի աջ պարույրները կարող են գտնվել միայն A տիպի կառուցվածքում, իսկ ԴՆԹ-ն ենթարկվում է տարբեր կառուցվածքային

փոփոխությունների, ընդունելով A, B, C, D և Z ձևերը: ԴՆԹ-ի կառուցվածքը հիմնականում պայմանավորված է աղերի և սպիրտի գոյությամբ, նուկլեոտիդների հաջորդականությամբ և պարունակությամբ: Հայտնի է, որ ռիբոնուկլեոտիդների C<sub>3</sub>՝ Էնդոկոնֆորմացիայից C<sub>2</sub>՝ Էնդոանցումը կապված է մեծ Էներգիայի ծախսի հետ, քանի որ մեծ Էներգետիկ վիճակի պետք է փոխարկել շղթայի բոլոր օղակները: Ամենայն հավանականությամբ, մեծ Էներգետիկ ծախսերի պատճառով ՌՆԹ-ն չի կարող գտնվել B ձևում: Այդ է պատճառը, որ մինչ այժմ միևնույն մոլեկուլում միաժամանակ A և B ձևերով հատվածներ չեն հայտնաբերվել: Նշված մեծ Էներգետիկ խոչնդոտների պատճառով B ձևի ԴՆԹ-ն մինչև ՌՆԹ-ԴՆԹ հիբրիդ առաջացնելը պետք է անցնի A ձևի, որը և իրականանում է տրանսկրիպցիայի ժամանակ [3,4]:

**1.1.2 Z ԴՆԹ** ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի աջ պարույրների մոդելները առաջարկվել են այդ մակրոմոլեկուլների թելիկների ռենտգենազրամների հիման վրա: Հայտնի է, որ ռենտգենազրամները չեն կարող տարբերակել որևէ առարկայի սեփական և նրա հայելային արտապատկերը, մասնավորապես աջ պարույրը՝ ձախից: Տեսական հաշվարկները ցույց են տալիս, որ ստանդարտ կոնֆորմացիա ունեցող նուկլեոտիդների միջոցով կարելի է կառուցել ինչպես աջ, այնպես էլ ձախ պարույրներ [2, 5-7]: Անցյալ դարի 70-ական թվականներին, ուսումնասիրելով հերթափոխող հաջորդականությամբ poly (dG-dC) պոլիմերները, հայտնաբերվեց մինչ այդ անհայտ կառուցվածքային մի ձև, որը իր տարածական տեսքով հանդիսանում էր զիգագաձև մակրոմոլեկուլ [8-11]: Այս փորձարարական տվյալը առիթ հանդիսացավ նոր պարույրը անվանել Z-ԴՆԹ (Նկար 2): Հետագա ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ ի տարբերություն աջ պարույրի A ԴՆԹ և ՌՆԹ, B C, D, E -ԴՆԹ, որտեղ բոլոր նուկլեոտիդները գտնվում են նույն կոնֆորմացիայում, ձախ պարույրում dG և dC նուկլեոտիդների կոնֆորմացիաները տարբերվում են: Այդ պատճառով, չնայած այն հանգամանքին, որ

շղթաները զուգահեռ են, բայց հակառակ ուղղված և զույգերը կազմում են ուռտսոն-կրիկի զույգեր, ինչպես աջ պարույրում

այ  
նպ  
ես  
ել  
ծա  
խ  
պա  
րո  
ւյ  
րո  
ւմ  
նո  
ւկ  
լե  
ոտ  
իդ  
նե  
րը  
գտ  
նվ  
ու  
մ



Նկար 2. Ձախ երկշղթա պարույրի մոլեկուլային կառուցվածքը:

Ի տարբերություն աջ պարույրով ԴՆԹ-ի, այստեղ նուկլեոտիդները գտնվում են մեկ սին մեկ անտի կոնֆորմացիաների հաջորդականության տեսքով, որի հետևանքով 2-րդ կարգի առանցքը, որը անցնում է զույգով, բացակայում է, իսկ շաքարի մնացորդները հաջորդաբար

կոնֆորմացիաներում, որի հետևանքով 2-րդ կարգի առանցքը, որը անցնում է զույգով, բացակայում է: Բացի այդ, շաբարի մնացորդները այստեղ հաջորդաբար ուղղորդված են մեկ վերև, մեկ ներքև, ի տարբերություն աջ պարույրի, որտեղ բոլորը ուղղված են միևնույն կողմը [3]: Ձախ պարույրը տրամագծորեն տարբերվում է աջից՝ ֆոսֆորային մնացորդների դիրքերով: Աջ պարույրներում ֆոսֆատները պարույրի առանցքից գտնվում են միևնույն հեռավորության վրա: Նրանք հավասարազոր են, իսկ ձախպարույրում d(CG) զույգի առանցքից ունեցած հեռավորությունը փոքր է (~6,2Å) համեմատած d(GC) զույգի հետ (~7,6Å), որի պատճառով նրանք հավասարազոր չեն [2]: Հատկանշական է, որ ձախպարույր կառուցվածքում գլխավոր ակոսը բացակայում է: Ինչ վերաբերում է փոքր ակոսին, որով անցնում է պարույրի առանցքը, ապա այն ավելի շատ նման է C և D ԴՆԹ-ի ակոսին՝ նեղ և խորն է և երկու կողմերից սահմանափակված է ֆոսֆատային խմբերով:

Z ԴՆԹ-ի հայտնագործմամբ ծագեց մի հարց, որի պատասխանը մինչև այժմ չի ունի պարզաբանված չէ: Գոյություն ունի Z ԴՆԹ-ն *in vivo* և եթե այո, ապա ո՞րն է նրա դերը: Չնայած այս հարցի ուղղակի և միարժեք տվյալները Z ԴՆԹ-ի *in vivo* գոյության մասին բացակայում են, մեծ թվով հետազոտողներ են պնդում, որ ձախ ԴՆԹ-ն կարելի է հայտնաբերել բազմացող բջիջներում, և որ այն մասնակցում է կարևոր կենսաբանական պրոցեսների [11]:

B և A ԴՆԹ-ների ընտանիքներին պատկանող կառուցվածքները աջ պարույրներ են, Z-ընտանիքի ԴՆԹ-ները՝ ձախ պարույրներ են [11]: Z տիպի պարույրները *in vitro* չվնասված, հատուկ պայմաններում անջատված ԴՆԹ-ում հանդիպում են մեկ անգամ մոտավորապես 3000 զույգ հիմքերից հետո [13] և հավանաբար այն թուլացնում է տրանսկրիպցիայով ինդուկտված լարվածությունը գերպարույրներում [14]: Տեսականորեն և փորձնական ճանապարհով ցույց է տրված, որ ֆիզիոլոգիական պայմաններում (0.15 մոլ Na<sup>+</sup>) Z-ԴՆԹ պարույրը կայունացվում է [2]:

Վերը քննարկվեցին ԴՆԹ-ի կրկնակի պարույրի A, B և Z ձևերի կառուցվածքների վերաբերյալ գոյություն ունեցող տվյալները

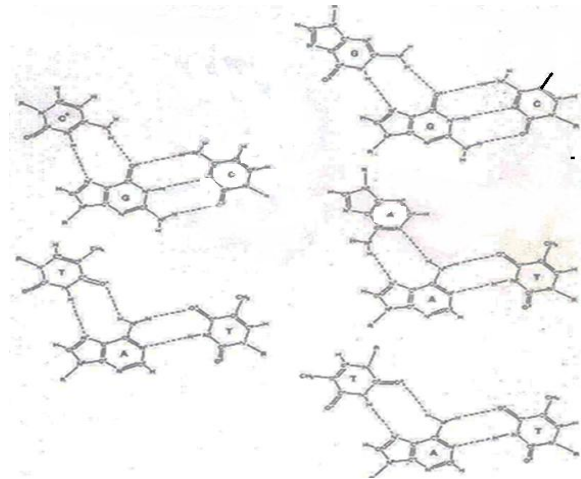


Խիստ համառոտակի: Մանրամասն տեղեկություններ կարելի է ստանալ [1-4,14] ակնարկային հոդվածներում, որոնք պատկանում են այս բնագավառում ճանաչված գիտնականների գրչին:

Այժմ քաջ հայտնի է, որ բացի վերը քննարկված ձևերին, ԴՆԹ-ն կարող է հանդես գալ նաև եռաշղթա [19], քառաշղթա [20-24], զուգահեռ պարույրների [25] և խաչաձև կառուցվածքների [26] տեսքով: ԴՆԹ-ի այս ոչ դասական ձևերի կառուցվածքները ճիշտ նույն տիպի են ինչ կրկնակի պարույրինն է, միայն նրանք ստեղծվում են որպես երկու և ավել միաշղթա ԴՆԹ-ի ինքնահավաքմամբ ոչ դասական եղանակով: Այդ ոչ դասական կառուցվածքները համառոտ կքննարկենք հաջորդ ենթաբաժնում:

**1.1.3 Եռաշղթա ԴՆԹ(տրիպլ եքսներ):** Մինչ այժմ քննարկվում էին ԴՆԹ-ի երկշղթա կառուցվածքները: Անցյալ դարի 60-70-ական թվականներին խմորասնկերի ֆենիլալանինի տրանսպորտային ՌՆԹ-ում (տՌՆԹ) հայտնաբերվեցին եռաշղթա պարույր ֆրագմենտներ [17], իսկ հետո հայտնաբերվեցին ՌՆԹ-ԴՆԹ-ի և ԴՆԹ-ի եռաշղթա պարույրները (տրիպլ եքսներ, տես [26]): Եռաշղթա պայույրի մոդելը պարզ նուկլեոտիդային շղթաների ռենտգեն կառուցվածքային անալիզի տվյալների արդյունք էր, ըստ որի երեք շղթաներից մեկը, գտնվելով դուալ եքսի գլխավոր ակոսում՝ պարուրում էր այն (տրիպլ եքսը): Այդ շղթան A տիպի կառուցվածք ուներ և կրկնակի պարույրի պուրինների հետ փոխազդում էր Յյուզստենյան կապերի միջոցով (Նկար 3) [19]: Յետաքրքրականն այն էր, որ երկու պիրիմիդինային և մեկ պուրինային շղթաներով տրիպլ եքսներում երրորդ շղթան զուգահեռ է պուրինային շղթային (Նկար 4): Այսպիսի կառուցվածքներ կարող են հայտնաբերվել ԴՆԹ, ՌՆԹ և ԴՆԹ-ՌՆԹ հիբրիդներում [25]:

**1.1.4 H-7ևԹ:** Այս տերմինը առաջին անգամ հնչել է Ֆրանկ-



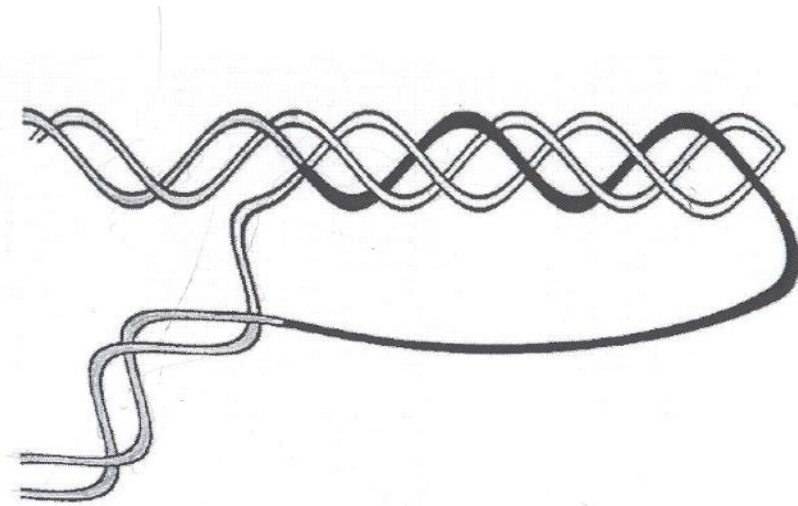
*Նկար 3. Զյուգստեղծ անկապերով եռյակներ: Այս եռյակները ապահովում են տրիպլեքսում ամուր ստեկինգ փոխազդեցու թյուղնները [19]:*



*Նկար 4. poly(dT)-poly(dA)-poly(dT) եռակի պարույրը, որը ստացվել է պոլիմերային թելիկների ռենտգեն կառուցվածքային անալիզի միջոցով. ըստ այդ տվյալների, poly(dA) և poly(dT) թելիկներից մեկը ունի A ձևին մոտ կառուցվածք, poly(dT)-ի երրորդ թելիկը (գուհավոր ներկված) շրջափյուղված է այդ պարույրի փոքր ակոսում [4]:*

Կամենեցկու խմբում և գրականության մեջ հայտնվել է 1985 թվականին [27]: Զեդինակները առաջարկեցին H- ձևի մոդելը

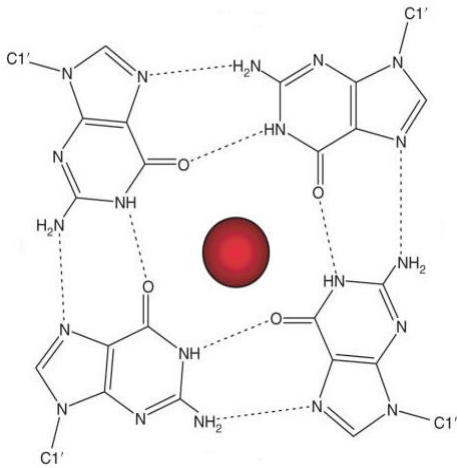
հենվելով այն հայտնի փաստի վրա, որ էուկարիոտների գեները կարգավորող որոշ տիրույթներ գերզգայուն են միաշղթա ԴՆԹ-ի սպեցիֆիկ նուկլեազների և քիմիկատների նկատմամբ: Այս տիրույթները տեղայնացված են հոմոպոլիմեր-հոմոպոլիմերի հաջորդականություններում: Յամադերելով  $d(G-A)_{16}d(T-C)_{16}$  հաջորդականության համար ստացված երկչափ էլեկտրաֆորեզի արդյունքները, և տվյալները համեմատելով նրանք տեսության հետ, առաջարկվեց H ԴՆԹ-ի մոդելը, ըստ որի այդ ձևի գլխավոր մասնաբաժինը միջմոլեկուլային եռաշղթան է (Նկար 5) [19]: Այն կազմված է մեկ լրիվ պիրիմիդային շղթայից (սպիտակ ժապավեն) և կես պոլիմերային շղթաներից (սև ժապավեն): Պոլիմերային թելիկի մյուս կեսը մնում է միաշղթա վիճակում (միաշղթա մոխրագույն ժապավեն): Ինչպես երևում է Նկար 5-ում բերված մոդելից, ԴՆԹ-ի երկու կոմպլեմենտար շղթաները H ԴՆԹ-ի կառուցվածքի մաս է են կազմում: Եռաշղթա պարոլյրի կայունությունը պայմանավորված է GG\*C\* և TAT\* եռյակներով (Նկար 3): Այս եռյակները իզոմորֆ միացություններ են, որոնք ապահովում են տրիպլեքսում ամուր ստեկինգ փոխազդեցությունները [21 և այնտեղի հղումները]: H-ԴՆԹ-ի այս տիպը բնական ԴՆԹ-ի մոլեկուլներում բազմաշղթա կառուցվածքների համար դարձավ նախատիպ և սկսած 1988 թվականից այս տիպի ուսումնասիրությունները գտան համաշխարհային տարածում: Մասնավորապես *in vivo* փորձերում H-ԴՆԹ-ի դերը ռեպլիկացիայի և տրանսկրիպցիայի ժամանակ պլիմերիզացիայի պրոցեսներում դարձավ հասկանալի և նրանք գտան իրենց համապատասխան բացատրությունը: Չնայած այն հանգամանքներին, որ H-ԴՆԹ-ի ընտանիքի մինչ այժմ հայտնաբերված 4 ներկայացուցիչների (H-y, H-r, H-yr և H-dy) կառուցվածքային առանձնահատկությունները պարզված են բավական մանրամասնորեն, այս տիպի կառուցվածքների կենսաբանական նշանակությունը դեռ բավարարող ուսումնասիրված չէ ([19] և այնտեղի հղումները):



Նկար 5. H ԴՆԹ-ի մոդելը: Ներկայացված են հոմոպուրինի (սև), հոմոպիրիմիդինի (սպիտակ), հարակից ԴՆԹ-ի կրկնակի պարույրի (մոխրագույն) թելիկները [19]: Եռաշղթա պարույրի կայունությանը պայմանավորված է  $CG^*C^*$  և  $TAT^*$  եռյակներով (Նկար 3): Այս եռյակները իզոմորֆ միացություններ են, որոնք ապահովում են տրիպլեքսում ամուր ստեկինգ փոխազդեցությունները [27]:

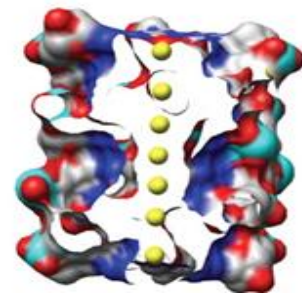
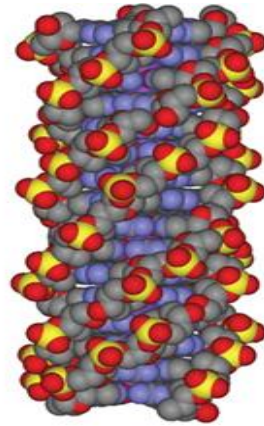
**1.1.5 Քառաշղթա ԴՆԹ(G- քվադրուպլ եքս):** Վերը նշվեց, որ ԴՆԹ-ն կարող է գտնվել բազմաթիվ կառուցվածքներում՝ սկսած կրկնակի՝ A, B, C, D և Z ձևերից մինչև եռաշղթա ձևերը: Վերջին տասնամյակներին մեծ ուշադրության է արժանանում քառաշղթա պարույրը՝ G-քվադրուպլ եքսը, որը քառաթելիկ կառուցվածք է և բաղկացած է չորս համահարթ Դյուստենյան ջրածնական կապերով միացած գուանիններից (Նկար 6ա): Քառաշղթա ԴՆԹ-ն հայտնաբերվել է դեռ անցյալ դարի 60-ական թվականներին [20]: Սակայն այն մնաց սովորում, մինչև պարզվեց, որ էուկարիոտների քրոմոսոմում ԴՆԹ-ի թելումերային հատվածներում գուանինով հարուստ հաջորդականությունները կարող են ֆիզիոլոգիական պայմաններում փոխազդել միմյանց հետ՝ կազմելով դիսկրետ քառաշղթա կառուցվածքներ (նրանց անվանում են նաև G-քառյակներ, քվադրուպլ եքսներ կամ G4 կառուցվածքներ): Քվադրուպլ եքսները ինտեգրվում էին հիմնական կառուցվածքների ընտանիքում և ունեին ոչ-պակաս քան երկու, միմյանց հետ փոխազդող G-քառյակ, որոնք խրցածն դասավորվում էին (stack) մեկը մյուսի վրա [21-23], (Նկար 6բ)): Կազմավորված հաջորդականությունները արտամղվում են որպես միաթել օղակներ (բայց քառյակները կարող են նաև օղակներ չստեղծել): Օղակների մեծության և հաջորդականության թիվը տատանվում է, բայց նրանք սովորաբար փոքր են (1-7 նուկլեոտիդ) և որքան փոքր է օղակը, այնքան կայուն է G4 կառույցը: Այս տիպի կառուցվածքները կայունացվում են միավալենտ կատիոնների միջոցով (Նկար 6ա)), որոնք չեզոքացնում են գուանինների խոռոչի դեպի ներս դասավորված թթվածնի բացասական լիցքերը [22,23,28]: G4 կառուցվածքները կարող են լինել տարբեր տոպոլոգիական վիճակներում և նրանց կարելի է դասակարգել որպես տարբեր խմբերի ներկայացուցիչներ՝ կախված նրանց կազմի մեջ մտնող ԴՆԹ-ի շղթաների փոխադարձ կողմնորոշումից: Այդ շղթաները լինում են գուգահեռ, հակագուգահեռ կամ խառը (Նկար 7): Բացի այդ, նրանք կարող են կազմավորվել մեկ շղթայում (մոնոմոլեկուլային) կամ բազմաշղթաներում (միջմոլեկուլային): Նրանց գոյությունը

հնարավոր է նաև տարբեր օղակներում [28]: G4 կառուցվածքները կարող են խիստ կայուն լինել, չնայած նրանց տոպոլոգիան և կայունությունը շատ գործոններից է կախված: Այդ գործոնները հիմնականում արտացոլում են G4 միավորների հաջորդականությունը և նրանց երկարությունը, գուանինների միջև օղակների չափը, թելիկների ստեխիոմետրիան



ակոս

ա



Նկար 6 G4-քվարտրուալ էքսի տոպոլոգիան և կառուցվածքը [20]:  
 (ա). Չորս գուանիններով կազմված հարթ միավորները իրենց նման միավորների հետ ստեղծում են փոխազդեցության շնորհիվ կարող են ձևավորել աջակողմյան պարույր քվարտրուալ էքս կառուցվածք:

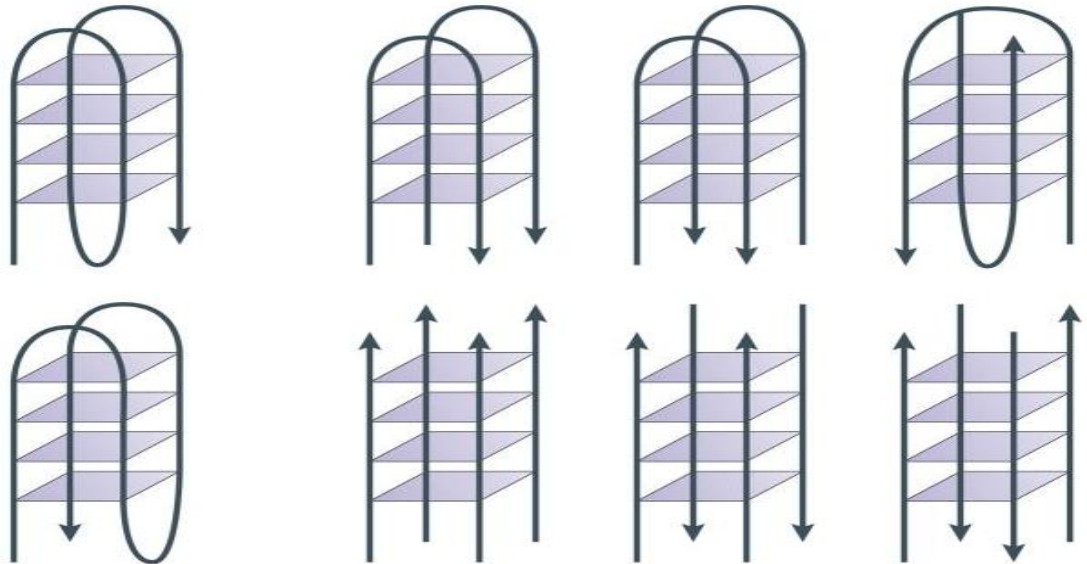
Ջրածնային կապերը ցույց են տրված ընդհատ գծերով: Նկարում էրևում են նաև չորս ակոսները:

(բ). Ջրածնային կապերով կապված չորս գուանինով G-քուադրուալ էքսի մոդելը:  $K^+$ -ի իոնը (բ) կորդինացնում է G-ն ԴՆԹ քվարտրուալ էքսի հիմքը գուանինների դեպի կենտրոն ուղղված կարբոնիտային խմբի թթվածինները (կարմիր):

(գ). G-քվարտրուալ էքսի մակերևույթը: Ցույց է տրված մետաղական շարքով կենտրոնական ակոսը (դեղին) [20]:

[22] և նրանց հետկապվող կատիոնների բնույթը [23]:

**1.2 Կառուցվածքային անցումները ԴՆԹ-ում:** Այստեղ համառոտ կդիտարկենք այն հարցերը, որոնք առաջանում են ԴՆԹ-ի մի ձևից



*Նկար 7. G4 կառուցվածքները կարող են լինել տարբեր տարվոգիական վիճակներում, որոնց կարելի է դասակարգել որպես տարբեր խմբերի ներկայացուցիչներ կախված նրանց կազմի մեջ մտնող ԴՆԹ-ի շղթաների փոխադարձ կողմնորոշումից: Այդ շղթաները լինում են գոլ գահեռ, հակագոլ գահեռ կամ խառը [20]:*

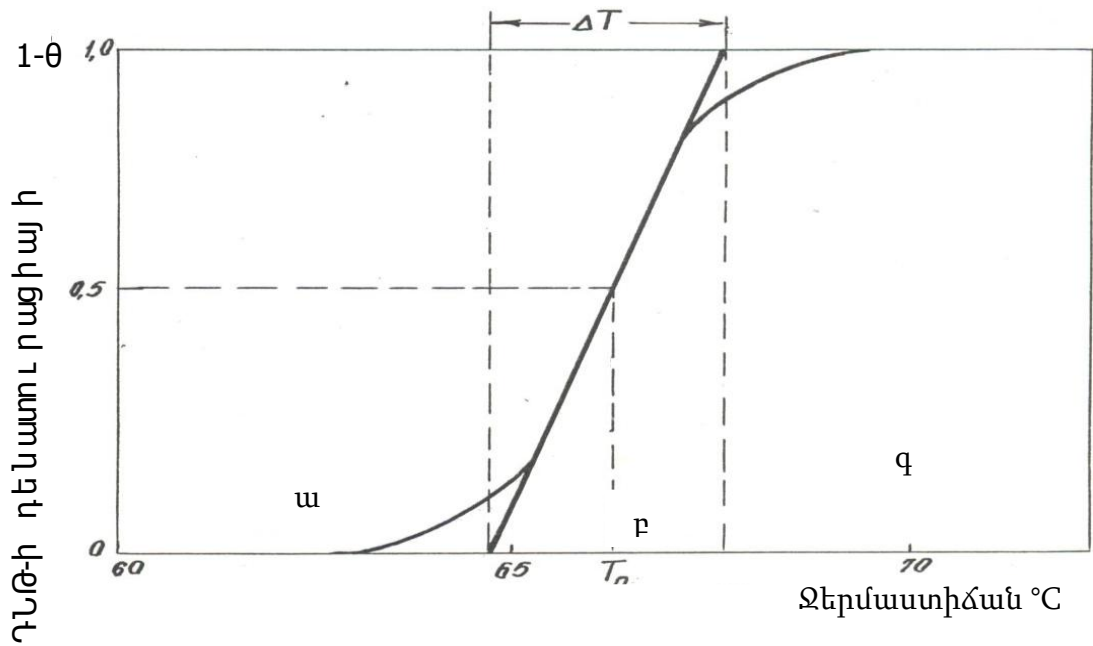
մեկ այլ ձևի անցման ժամանակ:

Նույն էինաթթուներում փոփոխվող այն անցումները ընթանում են սկզբունքորեն միմյանցից խիստ տարբեր եղանակներով: Նրանցից մեկը պայմանավորված է երկշղթա կառուցվածքի խզմամբ (պարունյր-կծիկ անցում), մյուսը՝ իրականանում է առանց շղթաների խզման՝ նույն երկշղթա կառուցվածքի սահմաններում (B-A, B-Z և այլ

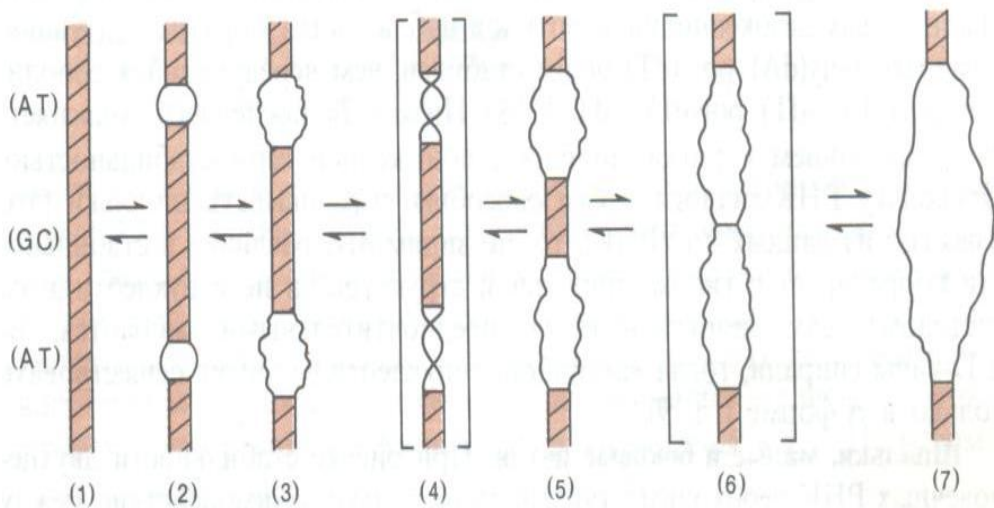


անցումներ): Այս փուլային անցումները շերմադիսամիկայի տեսանկյունից նման են. դրանք կրում են կոոպերատիվ բնույթ: Փուլային անցումների ընդհանուր տեսության համաձայն, երկար պլինոկլեոտիդների կառուցվածքային փոխարկումը մի ձևից մյուսին, չնայած նման է եռաչափ բյուրեղներում տեղի ունեցող փուլային անցումներին, բայց նրանցից տարբերվում է նրանով, որ տեղի է ունենում վերջավոր (ոչ գրոյական) միջակայքում և ոչ թե “ամեն ինչ կամ ոչինչ” սկզբունքով. մոլեկուլը անցման միջակայքում բաժանվում է միմյանց հաջորդող փուլերի. B և կծիկ, B և A, B և Z և այլն (տես Նկար 8): Այստեղ ներկայացված է անցման տիրույթում պլինոկլեոտիդի երկշղթա պարույր, Z, միաշղթա կծիկ միմյանց հաջորդող փուլերի տրոհման պրոցեսը: Պլինոկլեոտիդներում փուլային անցումների նկարագրված բնույթը երկու միմյանց հակադիր պրոցեսների մրցակցության պատճառ է. մակրոմոլեկուլի առանձին գոյգի կամ գոյգերի կարճ հատվածի՝ մի փուլից մյուսին անցումը թերմոդիսամիկորեն շահեկան չէ և պահանջում է սահմանային լրացուցիչ ազատ էներգիայի ծախս, որի մեծություները նվազում է փուլային անցում կատարող շղթայի տեղամասի երկարությամբ. որքան մեծ թվով գոյգեր են միաժամանակ անցնում մի փուլից մյուսը, այնքան փոքր է պահանջվող լրացուցիչ էներգիան. փուլային այս տիպի անցումները կոոպերատիվ անցումներ են: Մյուս կողմից, որքան կարճ է անցնում կատարող հատվածը, այնքան այն շահեկան է էներգիայի տեսակետից: Մակրոմոլեկուլի ցանկացած տեղամասում այս

կամ այն փուլի առաջացման հավանականությունը բերում է նրան, որ մի փուլից մյուսին անցած հատվածի միջին երկարության փոքրացման հետմիասին փուլային անցման



Նկար 8.  $C_D$  Ֆազի ԴՆԹ-ի հալ ման կորը  $10^2 \text{ M Na}^+$ -ի դեպքում:  $\vartheta$ -ն ԴՆԹ-ի պարունակածությամբ աստիճանն է [29]: ԴՆԹ-ի լրիվ պարունակ,  $\vartheta=1$  ( $\omega$ ),  $T < 65^\circ\text{C}$ ), պարունակ և կծիկ հալ ման տիրույթում,  $0 < \vartheta < 1$  ( $\rho$ ),  $65^\circ\text{C} < T < 75^\circ\text{C}$ ) լրիվ հալված,  $\vartheta=0$  ( $\phi$ ) վիճակները հալ ման պրոցեսի համապատասխան ջերմաստիճաններում:



Նկար 9. ԴՆԹ-ի մոլեկուլում պարունակ կծիկ անցման սխեմատիկ պատկերը: Անցուման տիրույթում ԴՆԹ-ի մոլեկուլը տրոհվում է միմյանց հաջորդող երկշղթա և միաշղթա տեղամասի [3]:

միջակայքում մեծանում է տվյալ վիճակի իրականացման եղանակների թիվը՝ փոփոխության սահմանափակումների միախառնման գործոնը, որի բացակայությամբ հատուկ է առաջին կարգի փոփոխյի անցումներին: Տեսականորեն այս երևույթը նկարագրվել է դեռևս անցյալ դարի 20-ական թվականներին [30] և ցույց է տրված, որ երկու միասեռ, մի կետում հավոդ փոփոխության միջև շերմադինամիկական հավասարակշռությունն հնարավոր է, որքան էլ նրանց չափերը (երկարությունները) մեծ լինեն: Այս դրույթը ապացուցելու համար դիտարկվում է միմյանց հերթափոխող երկու փոփոխյի հաջորդականություն: Ընդունենք, որ երկու փոփոխյի գումարային թվի շերմադինամիկական պոտենցյալը  $\Phi_0$  է, առանց այդ փոփոխյի միջև գոյություն ունեցող համակցության կետերի հաշվառման: Եթե հաշվի առնենք այդ կետերի թիվը ապա համակարգի շերմադինամիկական պոտենցյալը կունենա հետևյալ տեսքը՝

$$\Phi = \Phi_0 + nKT \ln \frac{n}{sL} + n\Psi$$

որտեղ  $n$ -ը երկարության վրահաման կետերի թիվն է: Այստեղից՝

$$\frac{\partial \Phi}{\partial n} = kT \ln \frac{n}{L} + \Psi :$$

Հավոդ փոփոխյի հատվածների ոչ մեծ խտության՝ համար  $\ln \frac{n}{L}$ -ը իր բացարձակ արժեքով մեծ թիվ է: Հետևաբար  $\frac{\partial \Phi}{\partial n} < 0$  և փոքրանում է  $n$ -թվի մեծացման հետ միասին: Ուրեմն  $n$ -թիվը կձգտի մեծանալ, մինչև  $\frac{\partial \Phi}{\partial n}$ -ի դրական դառնալը, որը նշանակում է երկու փոփոխյի միմյանց հետ խառնվելը կշարունակվի նրանց (փոփոխյի) հատվածների շարունակական փոքրացմամբ, այսինքն այդ հատվածները չեն կարող գոյատևել որպես առանձին շերմադինամիկական փոփոխյի: Այս թեորեմը փորձնականորեն հաստատվել է սպիտակուցներում և նույն կերպ թերթերում՝ գծային բյուրեղ-կծիկ անցման երևույթի ուսումնասիրությունների շնորհիվ (գծային բյուրեղներ, այսպես են ներկայացվել այս կենսաբանական մակրոմոլեկուլները Շրեդինգերի՝ Կենդանի բջիջը ֆիզիկայի տեսանկյունից՝, ցավոք

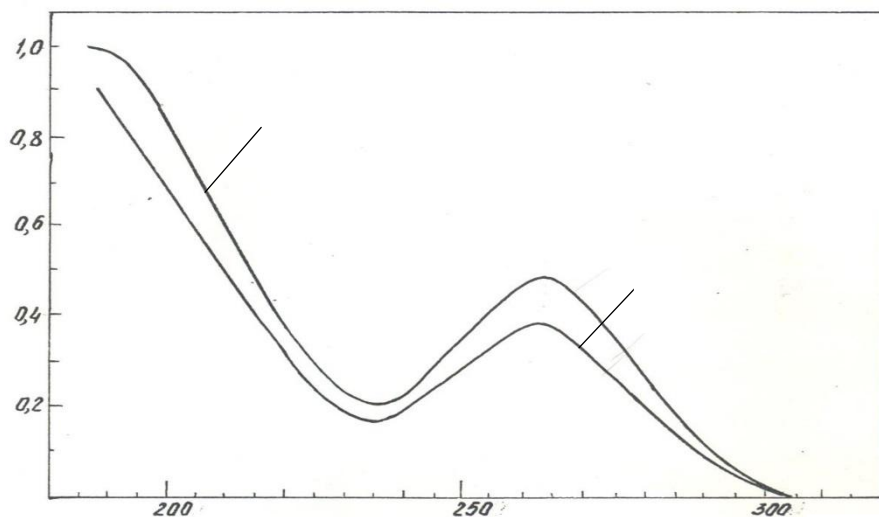
իր հայերեն թարգմանությունը չունեցող գրքում): Նշված կենսաբանական մակրոմոլեկուլների, մասնավորապես նուկլեինաթթուների վարքը շրային լուծույթներում և դրանց ֆիզիկական, քիմիական հատկությունների բացատրությունները հանդիսանում են կարևոր արդիական հարցեր, որոնց պատասխանները օգնում են բջիջներում պարփակված ժառանգական ինֆորմացիայի պահպանման և փոխանցման երևույթները բացահայտելու և հասկանալու համար:

**1.2.1 ԴՆԹ-ի պարույր-կծիկ անցումը:** Առավել մանրամասն ուսումնասիրված է ԴՆԹ-ի պարույր-կծիկ անցումը, որը հաճախ անվանում են ԴՆԹ-ի հալում կամ դենատուրացիա: Ֆիզիոլոգիական լուծույթներում, չեզոք pH-ի, չափավոր իոնական ուժի և սենյակային ջերմաստիճանին մոտ պայմաններում ԴՆԹ-ն գտնվում է B ձևում, որը որոշվել է ռենտգենյան հետազոտությունների տվյալներով: Այս պնդումը հաստատում են տարբեր ֆիզիկական մեթոդներով պոլիմերի լուծույթի ուսումնասիրությունները՝ շրջանային դիֆրոհիզմ, ռենգենակառուցվածքային անալիզ, միջուկային մագնիսական ռեզոնանս (ՄՄՌ) և այլն:

Ջերմաստիճանի բարձրացման, pH-ի արժեքի թթվային կամ հիմնային շեղման դեպքում տեղի է ունենում ԴՆԹ-ի պարույր-կծիկ անցում, որի ժամանակ մոլեկուլի երկու շղթաները անցնում են ոչ կարգավորված կծիկանման վիճակի: Անցման տիրույթում ԴՆԹ-ի մոլեկուլը տրոհվում է միմյանց հաջորդող երկշղթա պարույր և միաշղթա կծիկ տեղամասերի (Նկար 9) [3]: Եթե երկպարույր շղթան իրենից ներկայացնում է բավական կոշտ կառուցվածք (պարույրի պերսիստենտային երկարությունը 150 գույգ նուկլեոտիդ), ապա հալված տեղամասերը բավականին ճկուն են (պերսիստենտային երկարությունը մոտավորապես 3-4 նուկլեոտիդ): Ճկունությունը բերում է նրան, որ այդ տեղամասերը լուծույթում իրենց դրսևորում են ինչպես ստատիկ կամ գաուսյան կծիկներ: Համակարգի արտաքին պարամետրերի սկզբնական վիճակին վերադարձի դեպքում, կոմպլեմենտար գույգերի միջև հալման ժամանակ անջատված

ջրածնային կապերը վերականգնվում են՝ ձևավորելով ԴՆԹ-ի երկապրույր կառուցվածքը, որը ջերմադինամիկայի տեսակետից ոչնչով չի տարբերվում մինչև հալումը եղած կառուցվածքից: Այսպիսով պարույր-կծիկ անցումը իրենից ներկայացնում է դարձելի պրոցես՝ ԴՆԹ-ի մոլեկուլը էներգետիկ գերադասելի համակարգված պարույր վիճակից անցնում է ոչ համակարգված էնթրոպիապես գերադասելի հեղուկ վիճակի: ԴՆԹ-ի պարույր-կծիկ անցման փորձարարական և տեսական ուսումնասիրությունները համար առավել հարմար է փոփոխել արտաքին պարամետրերից՝ ջերմաստիճանը: Ջերմաստիճանի բարձրացման դիտվում է պարույր կծիկ անցում (կրկնակի պարույրի դենատուրացիա): Այս պրոցեսը ընթանում է ջերմության կլանմամբ և համակարգի էնթրոպիայի աճով: Այսպիսի անցումը բերում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլի մեծ թվով ֆիզիկական հատկությունների փոփոխության: Յետևաբար պարույր-կծիկ անցումը կարելի է գրանցել տարբեր ֆիզիկական մեթոդների միջոցով՝ օպտիկական, միկրոկալորիմետրիկական, հիդրոդինամիկական և այլն (տես Գլուխ 2):

Առավել հաճախ կիրառվում է ԴՆԹ-ի լուծույթի կլանման չափումը էլեկտրամագնիսական ալիքների սպեկտրի



Նկար 10. Չորթի ուռցագեղձի ԴՆԹ-ի մոլեկուլի կծիկ (ա) և պարույր (բ) վիճակների համապատասխանող կլանման կորերը էլեկտրամագնիսական ալիքի սանդղակի ուղղությամբ շաղկապող նտրությունում [31]:

ուլ տրամանուշակագույն տիրույթում (260 նմ շրջակայքում), որտեղ պարույր-կծիկ անցման ժամանակ նկատվում է ԴՆԹ-ի կլանման աճ (հիպերքրոմային էֆեկտ) (Նկար 10): Այս տիրույթում է տեղի ունենում հարևան գույգերի ստեկինգ փոխազդեցության վերացումը [2]: Եթե  $D$ -ն լուծույթի օպտիկական խտությունն է տվյալ ջերմաստիճանում, անցումը հրահրող պարամետրերի (ջերմաստիճան,  $pH$ , իոնների կոնցենտրացիայի և այլն) տվյալ արժեքի դեպքում, իսկ  $D_{min}$ -ը և  $D_{max}$ -ը համապատասխանաբար լրիվ պարույր և լրիվ կծիկ վիճակների կլանման արժեքներն են,

$$1 - \vartheta = \frac{D - D_{min}}{D_{max} - D_{min}} \quad 1.1$$

$\vartheta$  -ն պարուրվածության աստիճանն է, իսկ  $1 - \vartheta$ -ն բնափոխման աստիճանն է: Ջերմաստիճանից կախված փուլային անցման կորերը անվանում են ԴՆԹ-ի մոլեկուլի պարույր-կծիկ անցման կամ հալման կորեր, (Նկար 8), որոնք հարմար է բնութագրել երկու ջերմադինամիկական պարամետրերով՝ հալման ջերմաստիճանով ( $T_m$ ) և հալման ջերմաստիճանի միջակայքով ( $\Delta T$ ): Հալման ջերմաստիճանը ընդունված է համարել կորի այն կետին համապատասխանող ջերմաստիճանը, որտեղ պարուրվածության աստիճանը՝  $\vartheta$ -ն հավասար է 50%: Ի տարբերություն իրական փուլային անցման պարույր-կծիկ փոխակերպումը կրում է կոոպերատիվ բնույթ և նկարագրվում է անցման միջակայքով ( $\Delta T$ ), որը  $T_0$ -ից կախված չէ և որոշվում է (1.2) բանաձևով,

$$\Delta T = \left| \frac{\partial \vartheta}{\partial T} \right|_{T=T_m}^{-1} \quad 1.2$$

( $\Delta T$ )-ն ջերմաստիճանների այն տարբերությունն է, որոնց դեպքում հալման կորին  $T_0$  կետում տարած շոշոփողը հատում է ջերմաստիճանի առանցքը  $\vartheta = 0$  և  $\vartheta = 1$  կետերում: Բնական ԴՆԹ-ների համար այն սառանվում է 3- 15°C-ի սահմաններում:

Բազմաթիվ փորձերի արդյունքները ցույց են տվել, որ հալման ջերմաստիճանը (հալման կորի շրջադարձի կետ) կախված է շրջապատի պայմաններից՝ իոնական ուժից, pH-ի մեծությունից, կատիոնների տեսակից և այլն: Կրկնակի պարույրի կայունությունը աճում է GC պարունակության աճին զուգընթաց: Տարբեր օրգանիզմներից անջատված և միմյանցից տարբեր նուրբ կենտոդային պարունակությամբ ԴՆԹ-ի ջերմակայունությունը աճում է գծային, կախված նրանում GC-զույգերի պարունակությունից: Փորձնական ճանապարհով ստացված հալման ջերմաստիճանի կախումը GC-պարունակությունից մաթեմատիկորեն կարելի է ներկայացնել (1.3) բանաձևի միջոցով և այն օգտագործել որպես արգագույն մեթոդ GC զույգերի  $X_0$  պարունակությունը ԴՆԹ-ի պարույրում որոշելու համար՝

$$T_m = T_{AT} + x(T_{GC} - T_{AT}) \quad 1.3$$

որտեղ  $T_{AT}$ -ն և  $T_{GC}$ -ն AT և GC զույգերի հալման ջերմաստիճաններն են: Ելնելով գրականության մեջ գոյություն ունեցող փորձարարական տվյալներից առաջարկվում է էմպիրիկ բանաձև, որը չեզոք pH-ի դեպքում (pH7)  $Na^+$  իոնների կոնցենտրացիայի որոշակի արժեքներից կախված ներկայացվում է (1.4) տեսքով:

$$T_m = 176.0 - (2.60 - x)(36.0 - 7.04 \lg[Na^+]) \quad 1.4$$

Հալման ջերմաստիճանի արժեքը ( $T_m$ ) կարելի է որոշել  $\theta$ -ի  $T$ -ից կախված Ֆոլենկիայի առաջին մոմենտից,

$$T_m = \int_{T_{AT}}^{T_{GC}} \left( -\frac{\partial \theta}{\partial T} \right) \cdot T dT \quad 1.5$$

Անկախ նուրբ կենտոդային բաշխման տեսակից՝  $T_0$ -ի համար կունենանք.

$$T_m = T_{GC} - \int_{T_{AT}}^{T_{GC}} (1 - \theta) dT \quad 1.6$$

$$S = \int_{T_{AT}}^{T_{GC}} (1 - \theta) dT$$

այն մակերեսն է, որը սահմանափակված է ԴՆԹ-ի հալման կորով, ջերմաստիճանների առանցքով և  $T = T_{GC}$  ուղղահայացով: Նշենք, որ այս եղանակով որոշված  $T_0$ -ի արժեքը կախված չէ պարունյր-կծիկ անցման կորի ձևից: Գիտենալով երկու տարբեր նմուշների ԴՆԹ-ի GC-պարունակությունը ( $X_1, X_2$ ) և փորձնականորեն որոշելով համապատասխան մակերեսների թվային արժեքները  $S_1$  և  $S_2$ , կարելի է որոշել պարունյր-կծիկ անցման կարևոր  $T_{GC} - T_{AT}$  ջերմադինամիկական մեծությունը, օգտվելով (1.3) և (1.6) հավասարումներից.

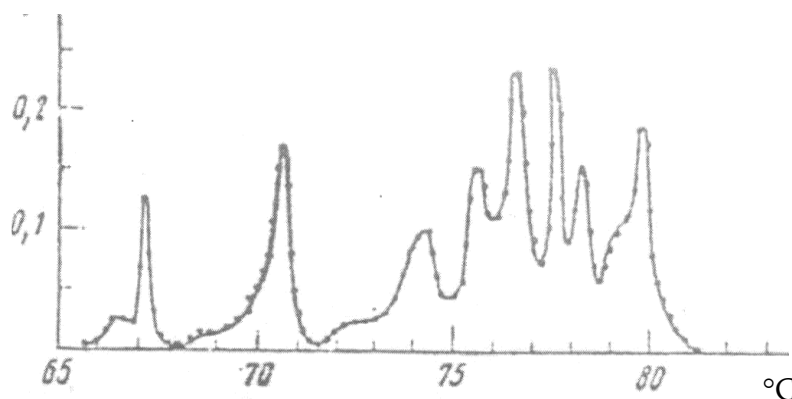
$$T_{GC} - T_{AT} = \frac{S_2 - S_1}{X_1 - X_2} \quad 1.7$$

$T_{GD} - T_{AT}$  որոշման այս եղանակը բավականին պարզ է և ինչպես ցույց են տալիս հաշվարկները, ավելի ճշգրիտ է [7]: Մակերեսների մեթոդը հնարավորություն է տալիս փորձի միջոցով ճշգրիտ որոշել ԴՆԹ-լիզանդ կոմպլեքսների հալման ջերմաստիճանը և ԴՆԹ-ի պարունյր-կծիկ անցման ենթալպիան  $Na^+$  իոնների տարբեր կոնցերտրացիաների դեպքում: Վերը բերված տվյալները վերաբերում են գծային բարձրամուլեկուլային կամ օղակաձև ԴՆԹ-ին: Պոլիմերի բավական մեծ ֆրագմենտացիայի դեպքում հալման ջերմաստիճանը փոքրանում է և աճում է հալման միջակայքը, որը արտահայտվում է այսպես կոչված «եզրային էֆեկտով»՝ պայմանավորված կարճ պարունյրի եզրային հիմնային մնացորդների փոխազդեցությամբ [29]:



ԴՆԹ-ի անջատման մեթոդների զարգացումը, ռեստրիկտազի հայտնաբերումը, որը գծայնացնում է փակ օղակաձև ԴՆԹ-ն, ինչպես նաև նուկլեոտիդային հաջորդականության որոշման ճշգրիտ մեթոդները, բացահայտեցին որոշակի երկարություն և որոշակի հաջորդականություն ունեցող ԴՆԹ-ի պարունյր-կծիկ անցման նուրբ կառուցվածքը: Հատկանշական է, որ յուրաքանչյուր բնական ԴՆԹ ունի իր և միայն իր պարունյր-կծիկ անցման յուրահատուկ բնութագիրը, որը արտահայտվում է ԴՆԹ-ի դենատուրացման կորի առաջին կարգի ածանցիալի միջոցով՝ ըստ ջերմաստիճանի: Ներկայացման այսպիսի ձևը կոչվում է հալման դիֆերենցիալ կոր, որը իրենից ներկայացնում է սուր գագաթների համախումբ: ColE1 պլազմիդի հալման դիֆերենցիալ կորը (ՅԴԿ), որը ստացված է փորձնական ճանապարհով, պատկերված է Նկար 11-ում: Դրանց ստացման մեթոդները կարող են լինել տարբեր՝ գրաֆիկական, մեքենայացված կամ ավտոմատ դիֆերենցում չափումների ընթացքում: Վերջինները իրականացվում են երկու փորձանոթների կլանման տարբերությամբ, որոնց միջև պահպանվում է ջերմաստիճանի տարբերություն ( $\approx 0.1^\circ$ ): Լայն կիրառություն է գտել մեկ ուրիշ մեթոդ, որի ժամանակ փորձանոթի ջերմաստիճանը մնում է հաստատուն, սակայն լուծույթների մեջ ստեղծվում է փոքր ջերմաստիճանային տարբերություն աղի քանակության տարբերության միջոցով [32]:

**1.2.2 ԴՆԹի B-Z անցումը:** Նուկլեոտիդների որոշակի հաջորդականությամբ ԴՆԹ-ի վառ արտահայտված պոլիմորֆիզմի

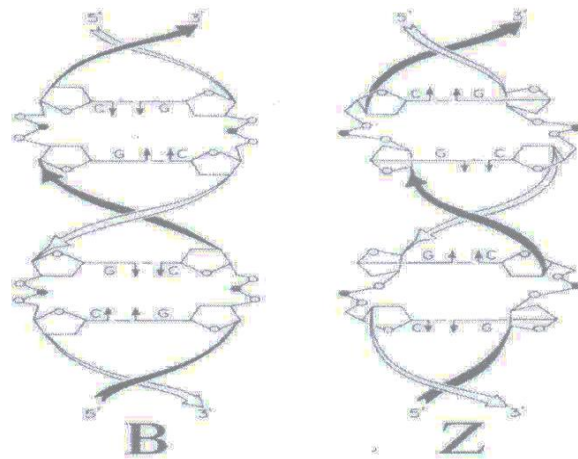


Նկար 11. ColE1 պլազմիդի հալման դիֆերենցիալ

հատկություններին է համարվում լուծույթներում միջդասային կոնֆորմացիոն անցումը (աջակողմյան B-ձևից ձախակողմյան Z-ձևին):

Բազմաթիվ ֆիզիկա-քիմիական հետազոտություններ ցույց են տվել, որ առավել հեշտ B-Z անցումը կատարում է GC հաջորդականություն ունեցող պոլիսուկլեոտիդներում: Տեսական աշխատանքները [29] ցույց են տվել, որ Z ձևի անցման համար պարհիս-պիրիմիդին հաջորդականության առկայությունը բացարձակ անհրաժեշտություն է հանդիսանում: Որպես կանոն B-ձևը հանդիսանում է ԴՆԹ-ի հավասարակշռված վիճակ, իսկ Z-ձևի կայունացման համար պահանջվում են հատուկ պայմաններ: Z-ձևում ֆոսֆատային խմբերը հակադիր թելիկներում տեղակայված են ավելի մոտ, քան B-ձևում: ԴՆԹ-ի Z-ձևի միակ ակոսում ֆոսֆատների ամենամոտ հեռավորությունը կազմում է 6,6 Å, իսկ B-ձևի համար այդ մեծությունը հավասար է 11,7 Å [3]: Այդ պատճառով, զարմանալի է, որ Z-ձևը առաջին անգամ հայտնաբերվել է ադիմեծ կոնցենտրացիա ունեցող լուծույթներում (~3,5÷4 մոլ NaCl), որը չեզոքացնում է ֆոսֆատային խմբերի վանողական ուժերը [7]: Բազմաթիվ ֆիզիկական և քիմիական գործոններ կայունացնում են այս ձևը: Դրանցից մեկը համարվում է ցիտոզինի մեթիլացումը: Այս մոդիֆիկացիան բերում է նրան, որ պոլիմերը անցնում է կայուն Z-ձևի ֆիզիոլոգիական պայմաններում: Չմեթիլացված պոլիսուկլեոտիդի Z-ձևի կայունացման համար անհրաժեշտ են մեծ իոնական ուժեր, կամ  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Co(NH_3)^{3+}$  իոնների ներկայություն: Չմեթիլացված և մեթիլացված պոլիմերները էապես չեն տարբերվում միմյանցից [9-10]: Ցիտոզինի մեթիլե նային խմբերի տեղակայման դիրքերով է պայմանավորված B և Z ձևերի տարբերությունը, որը կարևոր դեր ունի Z-ձևի կայունացման համար [11,12]: Կայուն Z-ձևի գոյությունը polyd(G-m<sup>5</sup>C)-պոլիմերում ցածր իոնական ուժի պայմաններում հնարավորություն է տալիս ուսումնասիրել B↔Z անցումները ֆիզիոլոգիական պայմաններում և, մասնավորապես, պարզեցնում է ցածրամոլեկուլային տարրերի՝ լիզանդների Z ձևի ԴՆԹ-ի հետ փոխազդեցության ուսումնասիրությունը:

Քիմիական մոդիֆիկացիաներից բացի գոյություն ունեն բազմաթիվ մոնո, դի և պոլիվալենտային կատիոններ, որոնք կայունացնում են ԴՆԹ-ի Z ձևը, իսկ միավալենտ կատիոնները  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$  փոխում են  $\text{B} \leftrightarrow \text{Z}$  հավասարակշռությունը: Օրինակ,  $\text{Na}^+$ -ի իոնի դեպքում  $\text{B} \leftrightarrow \text{Z}$  կիսասանցման կետը գտնվում է 2,3 մոլի շրջակայքում: Երկվալենտ իոնների դեպքում հավասարակշռությունը իրականանում է ավելի ցածր կոնցենտրացիաների դեպքում: Օրինակ,  $\text{Mg}^{2+}$  դեպքում անցումը իրականանում է արդեն 0,7 մոլի պայմաններում: Ինչ վերաբերում է պոլիկատիոններին, ապա Z ձևը կայունանում է միլիմոլային կոնցենտրացիաների առկայությամբ [29] և այնտեղի հղումներ): Բազմաթիվ տարրեր, որոնք փոխում են լուծույթի դիէլեկտրիկ հատկությունները, նույնպես կայունացնում են ԴՆԹ-ի Z ձևը: Այդ նյութերից են սպիրտը, էթանոլը, մեթանոլը, էթիլենգլիկոլը և տրիֆտուլ էթանոլը [33,34]: Երբ աղային լուծույթի էքստրեմալ կոնցենտրացիաներում հայտնաբերվեց ԴՆԹ-ի ձախարոլյր (Z-ձևը), պարզվեց, որ այն կարող է հեշտ ձևավորվել ֆիզիոլոգիական պայմաններում, եթե պարին-պիրիմիդին հաջորդականությունը բերվի գերպարուրված վիճակի [35]: Պարզվում է, որ գերպարուրումը համարվում է ամենաարդյունավետ ճանապարհը ոչ կանոնիկ կառուցվածքների առաջացման համար: Յատկանշական է, որ կրկնակի պարուլյրի B և Z հատվածների սահմանագծի էներգիան  $F_j$  կազմում է 4-5 կկալ /մոլ, իսկ էներգիայի փոփոխությունը GC-գույգերի Z ձևի անցման համար շատ փոքր է և կազմում է ընդամենը  $-\Delta F_{BZ} = 0.3 - 0.5$  կկալ /մոլ [36,37]:



*Նկար 12. B և Z ԴՆԹ-ի հիմքերի միջև փոխդասավորվածության սխեմատիկ ներկայացումը [37]:*

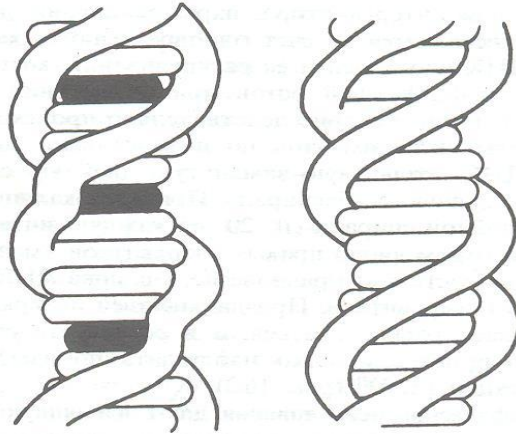
Չնայած ԴՆԹ-ի Z և B ձևերի կառուցվածքային առանձնահատկությունները կարելի է համարել լավ ուսումնասիրված, սակայն ոչինչ հայտնի չէ  $B \leftrightarrow Z$  անցման մանրամասների մասին: Ներկայումս առաջարկվում է անցման երկու մեխանիզմ, որոնցից մեկում նման անցումը կարող է տեղի ունենալ կոմպլեմենտար զույգերի ջրածնային կապերի քանդման արդյունքում, երբ ԴՆԹ-ն կարող է շրջվել  $180^\circ$ -ով (Նկար 12) [37]: Այս հարցի մյուս մոտեցումը առաջարկվել է անցյալ դարի վաղ 80-ականներին [38] և քննարկվում է մինչ այժմ [39-41], որտեղ ենթադրվում է, որ  $B \rightarrow Z$  ձևերի անցման ժամանակ բոլորովին անհրաժեշտ չէ ջրածնային կապերի տրոհումը: Մոդելային ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, որ անցումը կարող է տեղի ունենալ առանց ջրածնային կապերի տրոհման և նման մեխանիզմը լավ նկարագրում է դիտարկվող անցման կինետիկան, որը շատ անգամ փոքր է, քան ջրածնային կապերի տրոհման դեպքում:

**1.3 ԴՆԹ-ի հետլիզանդների կոմպլեքսների կառուցվածքները:**

Ուոթսոնի և Կրիկի կողմից ԴՆԹ-ի երկշղթա պարույրի հայտնագործմանը հաջորդեցին նոր բացահայտումներ, կապված այս կենսաբանական մակրոմոլեկուլի կառուցվածքային

առանձնահատկությունների հետ, ինչպես օրինակ՝ ռեպլիկացիան և տրանսկրիպցիան, իսկ լիզանդների և ԴՆԹ-ի փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունները հնարավորություն տվեցին բացահայտելու բնական և սինթետիկ նուկլեինաթթուների որոշ առանձնահատկությունները: Այստեղ իր ուրույն և չափազանց կարևոր գիտական նշանակություն ունեն ցածրամեկուկային միացությունների և նուկլեինաթթուների փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունները: Լիզանդները կապվում են նուկլեինաթթուների հետ կովալենտ և ոչ կովալենտ կապերով: Մինչ այժմ հայտնի լիզանդները, որոնք պլիսոկլետիդների հետ կապվում են ոչ կովալենտ կապերով, բաժանվում են երկու մեծ խմբի՝ ինտերկալյատորներ և ոչ ինտերկալյատորներ: Ոչ ինտերկալյատորները կապվում են պլիսոկլետիդի հետ արտաքինից և չեն խախտում նուկլեինաթթուների առաջնային և երկրորդային կառուցվածքները: Ի հակադրում ոչ ինտերկալյատորների՝ ինտերկալյատորները սեպիպես մխրճվում են հարևան հիմքերի գույգերի միջև, որը բերում է ԴՆԹ-ի կառուցվածքային փոփոխության՝ շաքարաֆոսֆատային խմբերի երկրաչափության փոփոխության կամ շղթայի կառուցվածքի երկարության մեծացման (Նկար 13): Հայտնի են դասական ինտերկալյատորներ՝ էթիդիոլմի բրոմիդը, միտոքսանտրոնը և ակտինոմիցին Դ-ն, կովալենտ կապով փոզազոդ՝ cis-դիամինդիքլորալատին (Նկար 14) [44-47]: Որոշ լիզանդներ ոչ ինտերկալյատորներ են, ինչպես՝ նետրոպսինը, դիստամիցինը, Hoechst 33258 (H33258), որոնք լուկալիզացվում են ԴՆԹ-ի ակոսներից մեկում գլխավոր առանցքի երկայնքով, առաջացնելով ջրածնային կապեր ազոտական հիմքերի հետ:

**1.3.1 ԴՆԹ-ի հետ լիզանդների կոմպլեքսազոյացումը ինտերկալացիոն եղանակով:** Ինտերկալացիայի եղանակով կամալ եկսազոյացման ընթացքում հարթ օղակը ներթափանցվում է ԴՆԹ-ի պարույրի երկայնքի հարևան նուկլեոտիդային գույգերի

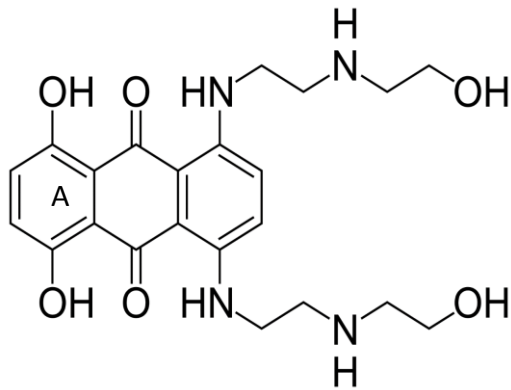


*Նկար 13 Հարթ քրոմոսոմով և իգանդների (սև սկավառակները) ինտերկալացիան ԴՆԹ-ի կրկնակի սարույրի հարևան գույգ նուկլեոտիդների հարթության նկատմամբ [3]:*

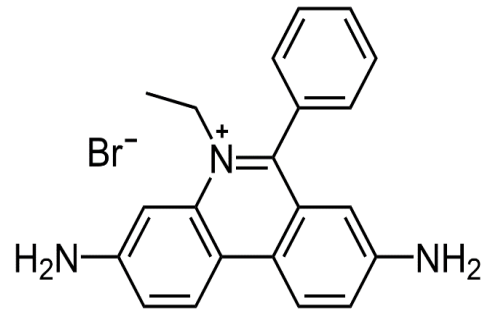
մեջև, որը և բացատրում է այդ լիգանդների մուտագեն ազդեցությանը [46,47]: Գոյություն ունեցող մեծ թվով ինտերկալատորները դասակարգվում են ըստ իրենց քրոմոսոմային և տարածական կառուցվածքի: Լիգանդների ինտերկալացիան բերում է ԴՆԹ-ի երկշղթա սարույրի երկարության մեծացմանը, որը արտահայտվում է համակարգի հիդրոֆոբային մեծության նկատմամբ՝ մածուցիկության և սեդիմենտացիայի

գործակիցների փոփոխությամբ: Պարզվում է, որ ԴՆԹ-ի լուծույթին միտոքսանտրոն, էթիդիոլմի բրոմիդ, պրոֆլավին կամ ալրիդին օրանժ (Նկար 14) ավելացնելու դեպքում դիտվում է մածուցիկության և սեդիմենտացիայի գործակիցների փոփոխություն, որը բերում է ԴՆԹ-ի երկարության կառուցվածքի փոփոխման: Հայտնի է, որ ինտերկալացված լիգանդը \$X\$-ուրեցենտոլ է: \$X\$-ուրեցենտոլ կոմպլեքսը առաջանում է, երբ լիգանդը փոխազդում է երկշղթա սարույրի կամ ավելի բարձրակարգ շղթաների հետ [48,49]: Այդ պատճառով ինտերկալացված լիգանդներին բացահայտելու համար շատ ուրիշ մեթոդների կողքին մեծ կիրառություն է գտել \$X\$-ուրեցենտային մեթոդը:

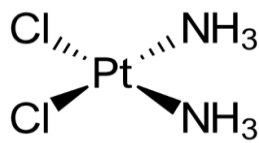
Ռենտգենկառուցվածքային անալիզի, միջուկային մագնիսական ռեզոնանսի, գծային դիֆրոիզմի և բևեռացված լյումինեսցենցենցիայի միջոցով ստացված տվյալները հանդիսանում են մինչ այդ եղած տեսականորեն ստացված արդյունքների լավագույն ապացույցները [46-48]: Ինտերկալացիայի



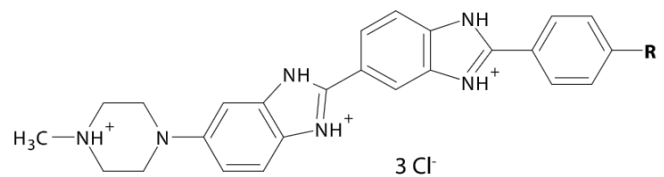
ա) Միտոքսանտրոն



բ) Էթիոնում բրոմիդ



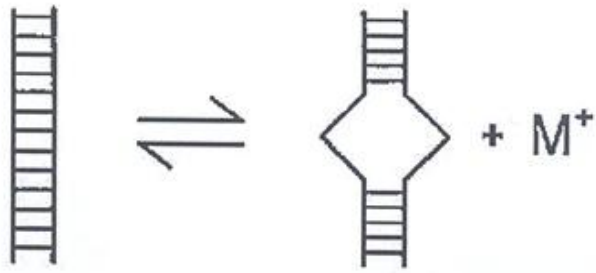
գ) Cis DDP



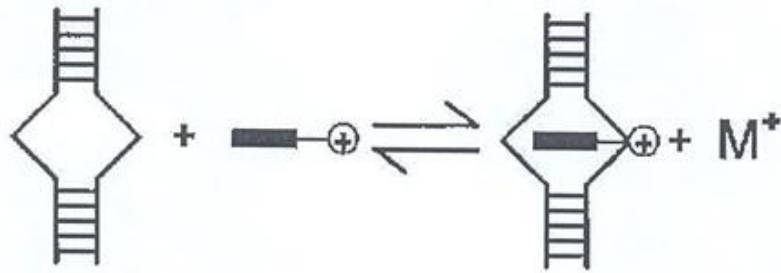
դ) Hoechst 33258

Նկար 14. Դասական ինտերկալատորներ՝ միտոքսանտրոնի (ա), Էթիոնումի բրոմիդի (բ), կովալենտ կապով փոխազդող՝ cis-դիամինդիքլորայլատինի (գ) և ակոսում կապվող Hoechst 33258 (դ) մոլեկուլային կառուցվածքները:

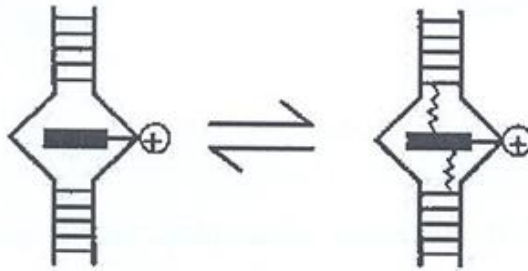
սխեմատիկ պրոցեսը պատկերված է Նկար 15-ում [48]: Ինտերկալացված կոմպլեքսի առաջացման համար ըստ գոյություն ունեցող մոդելի անհրաժեշտ են երեք փուլեր: Առաջինը՝ ԴՆԹ-ն պետք է կառուցվածքային անցում կատարի առաջացնելով ազատ խռոչ ինտերկալացիայի համար (Նկար 15(1)):



1.Կոնֆորմացիոն անցում  
( $\Delta G < 0$ )



2.Հիդրոֆոբ անցում  
( $\Delta G < 0$ )



3.Միջմուկ եկուլային կապերի  
անցում ( $\Delta G < 0$ )

Նկար 15. Ինտերկալացիայի ընդհանուր սխեման: (1) ԴՆԹ-ն ենթարկվում է կոնֆորմացիոն փոփոխության՝ ստեղծելով ազատ խռոչ ինտերկալացիայի համար, (2) տեղի է ունենում լիգանդի մուկեկուլյար հիդրոֆոբ անցում լուծույթից դեպի ինտերկալացիայի միջակայք, (3) ստեղծվում են մի շարք ոչ կովալենտ միջմուկային կապեր լիգանդի և հիմքերի մոտակա զույգերի միջև [60]:



Այս էտապում հիմքերի գույգերը պետք է տեղաշարժվեն՝ խոռոչներ ձևավորելու համար, որոնք կհամապատասխանեն ինտերկալացվող քրոմոֆորներին: Քանի որ հիքերի գույգերը հեռանում են միմյանցից, ապա ԴՆԹ-ի պարույրը ուղորվում է, որի արդյունքում մեծանում է ֆոսֆատային խմբերի հեռավորությունը և փոփոխվում է լույսի լիցքերի խտությունը: Այժմուհետև ինտերկալատորը տեղափոխվում է լուծույթից ինտերկալացման տիրույթ (Նկար 15(2)): Այս էտապը կոչվում է հիդրոֆոբ անցման պրոցես, քանի որ ինտերկալատորի ոչ բևեռացված հարթ օղակը տեղափոխվում է լուծույթից ԴՆԹ-ի երկպարույրի մեջ: Քանի որ ինտերկալատորը մխրճվում է հիմքերի գույգերի միջև, ապա հնարավոր է միշտ ոչ կովալենտ միջմոլեկուլային փոխազդեցությունների առաջացում:

Կարող են առաջանալ ջրածնային, վան-դեր-վալսյան, էլեկտրաստատիկ և ստեկինգ կապեր ԴՆԹ-ի լիգանդների միջև (Նկար 15(3)):

Նկար 15-ում պատկերված են այն հիմնական փոխազդեցությունները, որոնց արդյունքում առաջանում է ինտերկալացված կոմպլեքս: Իրականում կարող են առաջանալ բազմաթիվ և բազմաձև միջանկյալ փոխազդեցություններ՝ կախված ինտերկալատորի տեսակից, ինտերկալացիայի համար պոլիմերի կառուցվածքում առաջացած տեղից և այդ տեղի ազոտական մնացորդների տեսակից և նրանց հաջորդականությունից:

**1.3.2 ԴՆԹ-ի լիգանդների հետ կովալենտ փոխազդեցությունը:** ԴՆԹ-ի հետ կովալենտ կապերով կապված լիգանդների նկատմամբ հետաքրքրությունը շատ մեծ է: Օրինակ՝ cis-DDP ( $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ ) կապվում է կովալենտ կապով ԴՆԹ-ի հետ և հրահրում է նրա ռեալիկացիան: cis-DDP ունի հակառուռուցքային հատկություն [50,51]: Trans-DDP իզոմերը ևս ԴՆԹ-ի հետ միանում է կովալենտ կապերով, սակայն կլինիկապես ակտիվ չէ և քիչ թուլանալոր է քան cis-DDP-ն:

Կովալ Ենտկաավոդ լիգանդները ամուր և անդարձելի են միանում ԴՆԹ-ի որոշակի հատվածում և այլևս չեն վերաբաշխվում մոլեկուլի երկայնքով: Այդպիսի լիգանդների թվին են պատկանում ԴՆԹ-ի ֆունկցիոնալ խմբերի տարբեր քիմիական մոդիֆիկատորները, ինչպես նաև մի շարք կենսաբանորեն ակտիվ մոլեկուլներ, այդ թվում նաև տարբեր մետաղների պարունակող միացություններ: Դրանց թվին են պատկանում նաև պոլիպեպտիդները, հիստոնային սպիտակուցները, որոնք ԴՆԹ-ի հետ կովալ Ենտ են կապվում ցածր իոնական ուժի պայմաններում, քանի որ բարձր իոնական ուժերում վերջիններիս կապման բնույթը փոխվում է:

ԴՆԹ-ի հետ կովալ Ենտ կապված լիգանդները կայունացնում են կապման տեղամասերը ջերմային բնափոխման նկատմամբ, ուստի ջերմաստիճանի բարձրացմանը զուգընթաց սկզբից քանդվում են ազատ տեղամասերը: Միայն վերջիններիս ամբողջական հալումից հետո են սկսում բնափոխված լիգանդով կապված տեղամասերը: Չե տնաբար ԴՆԹ-ի հետ այդ միացությունների կոմպլեքսների հալման կորը դառնում է երկաստիճան. առաջին տեղամասը համապատասխանում է ազատ հատվածների հալմանը, իսկ երկրորդը՝ կոմպլեքսների:

Այս տիպի միացություններին այժմ մեծ թվով աշխատանքը են նվիրված, բացահայտված են նուկլեինաթթուների հետ դրանց փոխազդեցության առանձնահատկությունները, հատկապես հակառուռուցքային արտահայտումները միջավայրի իոնական ուժի, երկվալ Ենտ մետաղների առկայության պայմաններում [50 և այնտեղի հղումները]:

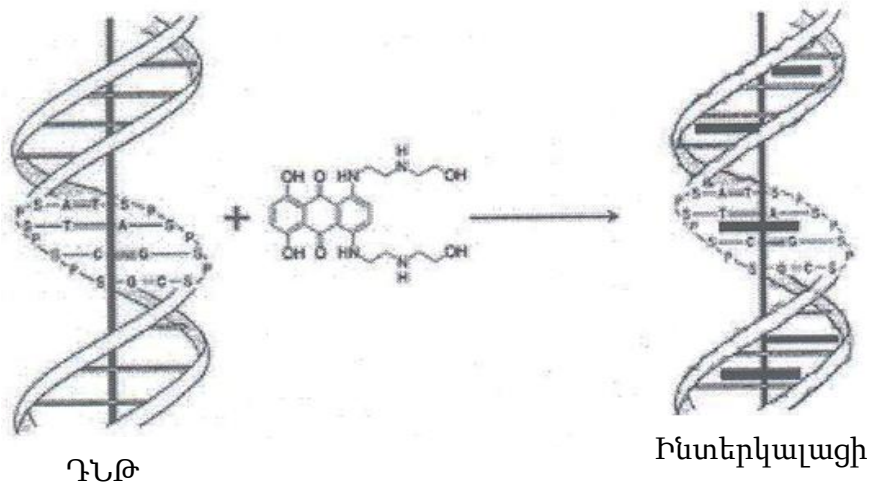
## ԳԼՈՒԽ 2.

### ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՆՅՈՒԹԵՐԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

**2.1 Օգտագործված նյութերը:** Աշխատանքում օգտագործվել են. Էթիդիոլումի բրոմիդ (Նկար 14բ Գլուխ 1) (“Sigma”-ֆիրմայի) հետագայում վերաբյուրեղացումից հետո օգտագործվել է առանց լրացուցիչ մաքրման: Փորձերում օգտագործվել են աղաջրային լուծույթները, որոնք ստացվել են կրկնակի թորած ջրում լուծված և մթնեցված ու 4°C-ում պահված բյուրեղների լուծույթից: Անհրաժեշտ ենք համարում նշել, որ բազմաթիվ փորձերի արդյունքում ապացուցվել է “Sigma” ֆիրմայից ստացված ԷԲ-ը կարելի է օգտագործել նաև առանց վերաբյուրեղացման համար պահանջվող ժամանակի ծախսի, քանի որ երկու դեպքում էլ ստացված փորձարարական տվյալները մեծ ճշտությամբ համնկնում են: ԷԲ-ի կոնցենտրացիաները որոշվել են  $\lambda=480$  նմ ալիքի երկարության տակ (ԷԲ-ի կլանման մաքսիմումին համապատասխանող ալիքի երկարության տակ) ընդունելով նրա կլանման մոլային էքստինկցիայի գործակցի արժեքը  $\epsilon_{480}=5800$  մոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup> ., [29]:

Միտոքսանտրոնը (Նկար 14ա Գլուխ 1) անտրացիկլինային դասին պատկանող սինթետիկ քիմիաթերապևտիկ նյութ է, որը լայնորեն օգտագործվում է տարբեր տիպի նորագոյացությունների բուժման համար [51]: Այն ստացվել է “Sigma” ֆիրմայից: Նրա լուծույթները ստացվել են համապատասխան կոնցենտրացիաներով, որոնք լուծված են եղել տվյալ փորձում օգտագործվող բուժերային լուծույթներում (նայիր համապատասխան նկարների համար գրառումները), ընդունելով կլանման մոլային էքստինկցիայի գործակիցը  $\epsilon_{659}=25090$  մոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup> . [51]: Հաշվի առնելով ինֆրակարմիր տիրույթում կատարված ուսումնասիրությունների և UV-Vis կլանման, շրջանային դիֆրոիզմի և FTIR (Fourier transform infrared) մեթոդների միջոցով ստացված փորձարարական տվյալները, առաջարկվել է միտոքսանտրոնի՝ ԴԼԹ-ի նուկլեոտիդային գույգերի

միջև ինտերկալացիայի մոդելը (Նկար 16) [52]: Յորթի ուրցագեղձի և *Micrococcus lysodeikticus*-ի ԴՆԹ-ները ստացվել են “Sigma”-ից: ԴՆԹ-ի նմուշները օգտագործվել են առանց հետագա մաքրման: Բոլոր ԴՆԹ նմուշների համար  $\frac{A_{260}}{A_{280}}$ -ը գտնվում է 1.8-1.9 տիրույթում, իսկ  $\frac{A_{260}}{A_{280}}$ -ը՝ 2.2-2.4 միջակայքում: Յետևաբար, կարելի է ընդունել, որ ԴՆԹ-ի նմուշներում սպիտակուցի և ՌՆԹ-ի պարունակությունները 1%-ից էլ քիչ են [53]: Սինթետիկ պուլիսուկկետոտիդներ. poly(G), poly(C), poly(A)·poly(U) (“Pharmacia”): Կրկնակի պարույր poly(G)·poly(C) պուլիմերիսուկկետոտիդը պատրաստվել է հավասար մոլայարույթամբ poly(G)-ի և poly(C)-ի խառնման միջոցով:



Նկար 16. UV-Vis էլեկտրոնային կլանման, շրջանային դիքրոիզմի և Ֆուրյե ձևափոխման ԻԿ (FTIR-Fourier transform infrared) մեթոդները բացահայտել են միտոքսանտրոնի մխրճվելը կրկնակի պարույրի գույգ նուկլեոտիդների հարթության միջև, ուղղահայաց պարույրի գլխավոր առանցքին, որտեղ միտոքսանտրոնը կապվում է գուանինի (N7) թիմինի (O2) և ցիտոզինի (O2) հետ: Իր կողմնային շղթաներով արտաքին կապ է ստեղծում ֆոսֆատաբարային հենքի հետ [52]:

ՆԹ-ի էլակետային լուծույթները պատրաստվել են  $10^{-3}$  մոլ NaCl-ի առկայությամբ և պահպանվել են  $0-2^{\circ}$  C ջերմաստիճանում: Նուկլեինաթթվի ուսումնասիրվող լուծույթը պատրաստվել է

սենյակային ջերմաստիճանում էլակետային լուծույթից, չափումից անմիջապես առաջ: Նուկլեինաթթվի վերջնական կոնցենտրացիան ճշտվել է սպեկտրոֆոտոմետրիկ մեթոդով ստացված կլանման սպեկտրներից, օգտվելով (2.1) բանաձևից`

$$c = \frac{A}{\epsilon d} \quad 2.1$$

որտեղ  $c$ -ն ներկայացնում է նուկլեինաթթվի կոնցենտրացիան լուծույթում մոլ/լ միավորով,  $\epsilon$ -ը` կլանման մոլային գործակիցը (մոլ<sup>-1</sup>·սմ<sup>-1</sup>),  $d$ -ն` կյուվետի օպտիկական ճանապարհի երկարությունը (սմ),  $A$ -ն կլանումն է սպեկտրի մաքսիմումին համապատասխանող պիքի երկարության տակ: Նուկլեինաթթուների կոնցենտրացիան հաշվելիս օգտվել ենք կլանման գործակցի հետևյալ արժեքներից` միտոքսանտրոն  $\epsilon_{659}=25090$  մոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup>.,  $E^F$   $\epsilon_{480}=5800$  մոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup>.,  $\gamma$ -ԼԹ  $M.lysodeikticus$   $\epsilon_{260}(p)=6800$  մոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup>.,  $\gamma$ -ԼԹ հորթի ուրցագեղձ  $\epsilon_{260}(p)=6550$  մոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup>., poly(A)·poly(U)  $\epsilon_{260}(p)=7140$  մոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup>., poly(G)·poly(C)  $\epsilon_{260}=7900$  մոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup>., poly(G) ( $\epsilon_{260}(p) = 9900$  մոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup>.),:

**2.1.1 Կրկնակի պարույր poly(G)·poly(C) պրիմիթիվ նուկլեոտիդի պատրաստումը:**

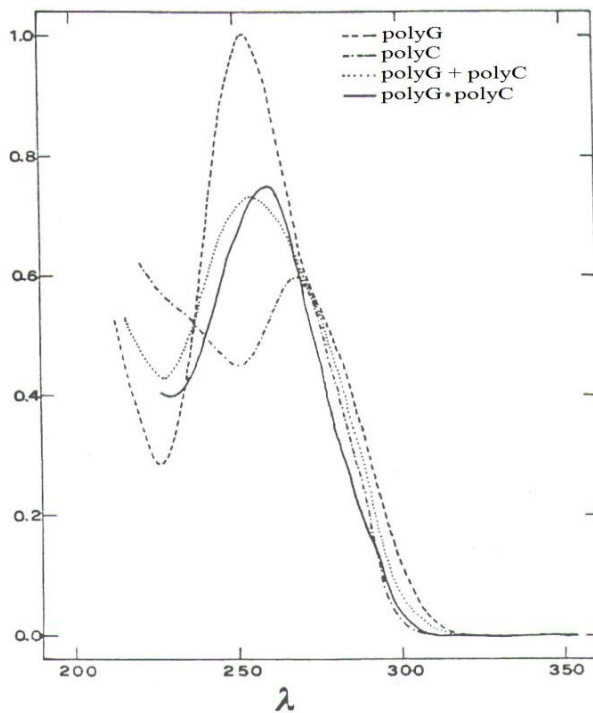
poly(G)-ի կառուցվածքը լուծույթում լրիվ պարզաբանված չէ: Հայտնի է, որ poly(G)-ն լուծույթում կախված միջավայրի իոնական ուժից, pH և ջերմաստիճանից կարող է առաջացնել բազմաշղթա (մինչև քառաշղթա) կառուցվածքներ [93]: poly(C)-ն լուծույթում գտնվում է միաշղթա կծիկանման վիճակում, որի որոշ տեղամասեր կարող են առաջացնել միաշղթա պարուրային տեղամասեր [3]: Միաջավայրում poly(G)-ի մոլեկուլները շատ կայուն են և միայն որոշակի պայմաններում է հնարավոր poly(G) և poly(C)-ի խառնուրդից ստանալ կրկնակի պարույր poly(G)·poly(C): Առանձին պատրաստվել է 10<sup>-2</sup> մոլ կոնցենտրացիայով poly(G)-ի և poly(C)-ի լուծույթներ, որից հետո պատրաստվել են poly(G)-ի և poly(C)-ի խառնուրդ լուծույթներ` բաղադրիչների տարբեր պարունակություններով (10 լուծույթներ): Ստացվել են կլանման

սպեկտրները պատրաստված լուծույթների համար: Պատրաստված լուծույթները 2 ժամ պահվել են  $100^{\circ}\text{C}$  ջերմաստիճանում և այնուհետև լուծույթները դանդաղ սառեցվել են մինչև սենյակային ջերմաստիճան և նորից չափվել են կլանման սպեկտրները: Փորձնական տվյալները ցույց են տալիս, որ խառնուրդի կլանման սպեկտրը մինչև տաքացնելը ներկայացնում է առանձին poly(G)-ի և poly(C)-ի սպեկտրների գումար (Նկար 17):

Տաքացնելուց և սառեցնելուց հետո կտրուկ փոխվում է կլանման սպեկտրի տեսքը (Նկար 17), որը հիմք է տալիս եզրակացնելու, որ poly(G)-ի և poly(C)-ի միջև առաջացել է նոր կառուցվածք: Միաժամանակ, կլանման սպեկտրներից հետևում է, որ պարուրացման մաքսիմալ աստիճանը գոյանում է, երբ poly(G)-ն և poly(C)-ն միանում են էկվիմոլային քանակություներով (Նկար 18):

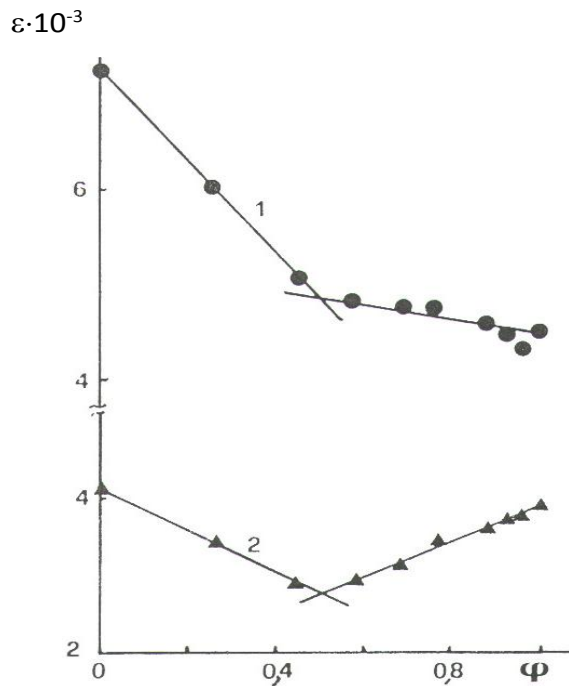
Ինչպես հետևում է Նկար 18-ից, որտեղ բերված լուծույթի էքսիսկցիայի գործակցի կախումը poly(C)-ից 2 ալիքի երկարություների (245 և 262 նմ) համար կլանումը մինիմալ է, երբ poly(G)-ի և poly(C)-ի քանակները հավասար են: Յետևաբար, տաքացման շնորհիվ poly(G) և poly(C) լուծույթից առաջանում են poly(G)·poly(C) երկշղթա պարուրային կառուցվածքը, որը ներկայացնում է A-տիպի երկշղթապարույր [3]:

$G_4$ -բվադրուլ էքսների ստացումը՝ չափումները կատարվել են ջուր-աղային լուծույթներում, որոնք պարունակում են 0.1 մոլ NaCl, 0.01 մոլ Tris և 0.5 մմոլ ՅԴՏԱ,



pH=7.4 (բուժեր Ա) և 0.01մոլ NaCl, 1 մմոլ Tris, 0.5 մմոլ ՅԴՏԱ, pH=7.4 (բուժեր Բ): Tris, ՅԴՏԱ և NaCl-ը հանդիսանում է ‘ ‘ Serva’ ’ ֆիրմայի պրեպարատներ:

Նույլ եինաթթուների հետ կենսաքանակական ակտիվ միացությունների (այդ թվում և քաղցկեղածին և հակաքաղցկեղային) կապման բնութագրերի ուսումնասիրության և հետևաբար, կապման հետևանքով համակարգի ջերմադինամիկական պարամետրերի հաշվման ժամանակ անհրաժեշտ է ընտրել լիգանդի այնպիսի կոնցենտրացիաներ, որոնց դեպքում կարելի է լիգանդի մոլեկուլների ինքնասոցիացիայի արոցեսն անտեսել:



Նկար 18. poly(G) և poly(C) պոլիհռիբոնուկլեոտիդների խառնուրդի կլանման մոլային գործակցի կախումը լուծույթում poly(C)-ի մասից ( $\phi$ ) բուժերում և  $25^{\circ}\text{C}$  ջերմաստիճանում  $\lambda=245$  նմ (1) և  $\lambda=262$  նմ (2) ալիքի երկարությանների համար: Պարոլը վաճույթ ան մաքսիմալ աստիճանը գոյանում է poly(G) և poly(C) էկվիմոլային քանակության դեպքում:

ԷԲ-ը և միտոքսանտրոնը պարունակում են այնպիսի ֆունկցիոնալ խմբեր, որոնք ընդունակ են միմյանց հետ առաջացնել ջրածնային կապեր, ինչի պատճառով հնարավոր է լիգանդների ասոցիատներ առաջացումը: Լիգանդների ինքնասոցիացիան կարող է պատճառ հանդիսանալ քանակական հաշվարկների անճշտության: Յետևաբար, մեր ուսումնասիրությունների համար ընտրվել են լիգանդի այնպիսի քանակներ, որոնց դեպքում ասոցիատների առաջացման պրոցեսը կարելի է անտեսել: Հաշվարկները ցույց են տվել, որ ԷԲ առավելագույն կոնցենտրացիան կազմում է  $c_0 \cong 2,4 \cdot 10^{-4}$  մոլ, իսկ միտոքսանտրոնինը՝  $c_0 \cong 3,6 \cdot 10^{-6}$  մոլ, որոնց դեպքում կարելի է ինքնասոցիացիայի պրոցեսը անտեսել:



## **2.2 Փորձարարական մեթոդները:**

**Սպեկտրոֆոտոմետրիա** Նուկլեոնաթթուները կլանում են լույսի սպեկտրի ուղիորամանուշակագույն տիրույթում: Կլանման սպեկտրը կախված է մոլեկուլի կոնֆորմացիոն վիճակից, նուկլեոտիդների հաջորդականությունից և միջավայրի հատկություններից: Բնափոխման պրոցեսում համակարգի կլանումը աճում է և լրիվ հավաքված վիճակում կլանման սպեկտրի մաքսիմումին համապատասխանող  $\lambda=260$  նմ ալիքի երկարության տակ աճը կազմում է 30-40% (կախված կոնֆորմացիայից և առաջնային կառուցվածքից): Այս յուրահատուկ օպտիկական երևույթը կոչվում է հիպերքրոմային էֆեկտ և կախված է ՆԹ-ի նուկլեոտիդների էլեկտրոնային առանձնահատուկ կառուցվածքից [31]:

ՆԹ-ի հալման կորերը և ուղիորամանուշակագույն ու տեսանելի տիրույթի կլանման սպեկտրները ստացվել են PYE UNICAM SP8-100 (Անգլիա) և SPECORD UV-VIS (Գերմանիա) սպեկտրոֆոտոմետրերի օգնությամբ: Հալման կորերի հաշվարկը իրականացվել է Hewlett-Packard 975 (ԱՄՆ) միկրոհաշվիչի օգնությամբ:

Լուծույթում նուկլեոնաթթուների հալման պրոցեսը իրականացնելու համար օգտագործվել են 10 մմ օպտիկական ընթացքով կվարցե կյուվետներ, որոնք հերմետիկ փակվել են տեֆլոնե կափարիչներով: Հալման կորերը ստացվել են 20-95°C ջերմաստիճանային միջակայքում, լուծույթի անընդհատ 0.25-0.3 աստրոպե արագությամբ տաքացնելիս: Ջերմաստիճանի որոշման ճշտությունը կազմում է  $\pm 0.05^{\circ}\text{C}$ , իսկ օպտիկական խտությունը՝  $\pm 10^{-4}$  օպտիկական միավոր:

Կլանման սպեկտրների միջոցով որոշվել է նուկլեոնաթթվի պարույրվածության աստիճանը (9): Փորձնականորեն չափվող յուրաքանչյուր մեծության արժեքը որոշվել է ութ անգամ: Միջին քառակուսային սխալը որոշվել է (2.2) բանաձևով.

$$\sigma = \left( \sum \frac{d_i^2}{n-1} \right)^{\frac{1}{2}} \quad 2.2$$

որտեղ  $d_i$ -ն  $i$ -րդ չափման շեղումն է միջին թվաբանականից,  $n$ -ը՝ չափումների թիվը:

**Շրջանային դիքրոիզմ:** Նուկլեինաթթուների կոմֆորմացիայի և կոնֆորմացիոն փոփոխությունների ուսումնասիրության և ավագույն մեթոդ է հանդիսանում շրջանային դիքրոիզմը (ՇԴ): ՇԴ մեթոդը շատ զգայուն է կրկնակի պարույրի պարամետրերի չնչին փոփոխության նկատմամբ և թույլ է տալիս չափումներ կատարել նուկլեինաթթուների նոսր լուծույթներով ( $\sim 10^{-5}$  M/P) [4]:

ՇԴ-ի մեթոդի էությունը կայանում է հետևյալում. հարթ բևեռացված լույսը կարելի է ներկայացնել որպես նույն հաճախությամբ աջ և ձախ շրջանային բևեռացված լույսերի գումար: Օպտիկական ակտիվ միջավայրում աջ և ձախ շրջանային բևեռացված լույսերի տարածման արագությունները տարբեր են, որի հետևանքով բևեռացման հարթությունը պտտվում է սկզբնականի նկատմամբ որոշակի անկյունով: Միջավայրի կլանման միջակայքում փոխվում են աջ և ձախ բևեռացված լուսային ալիքների լայնությունները, որի հետևանքով գծային բևեռացված լույսը միջավայրից դուրս գալուց դառնում է էլիպտիկ բևեռացված:  $\Delta\varepsilon = \varepsilon_g - \varepsilon_r$  մեծությունը (որտեղ  $\varepsilon_g$  և  $\varepsilon_r$  աջ և ձախ շրջանային բևեռացված լույսի կլանման գործակիցներն են) հանդիսանում է այն մեծությունը, որը բնութագրում է ՇԴ երևույթը: Շատ հաճախ  $\Delta\varepsilon$ -ի փոխարեն օգտագործվում է մոլեկուլային էլիպտականությունը՝  $[\theta]$ , որը որոշվում է

$$[\theta] = 3300 \Delta\varepsilon$$

Ներկայումս գոյություն ունի ԴՆԹ-ի ՇԴ-ի բավարար տեսություն, որը թույլ է տալիս ըստ ԴՆԹ-ի ՇԴ սպեկտրների գաղափար կազմել նրա կոնֆորմացիայի վերաբերյալ: Այդ պատճառով ՇԴ սպեկտրների միջոցով հնարավոր է ուսումնասիրել ԴՆԹ-ի կոնֆորմացիան և կոնֆորմացիոն անցումները, եթե այլ (օրինակ,

ռենտգեն կառուցվածքային անալիզ) մեթոդներով հայտնի է տվյալ պայմաններում նրակոնֆորմացիան: Մեր աշխատանքներում ՇԴ սպեկտրները ստացվել են Jobin Ivon Mark III դիֆրոգրաֆի օգնությամբ:

**2.3 Հալման դիֆերենցիալ կորերի կառուցումը:** Շատ հաճախ սպեկտրոֆոտոմետրիկ հալման կորերի վրա ԴԼԹ-ի առաջնային և երկրորդային կառուցվածքների առանձնահատկությունները թույլ են արտահայտված: Այդ պատճառով նպատակահարմար է հալման կորերից անցնել հալման դիֆերենցիալ կորերի (ՅԴԿ), որոնց վրա հալման կորերի չնչին փոփոխությունները երևում են պիկերի տեսքով [32]: ՅԴԿ-ը ստացել ենք հատուկ ծրագրով՝ հալման կորերի թվային դիֆերենցման եղանակով: Դիֆերենցումը կատարվում է հետևյալ մեթոդով՝ յուրաքանչյուր կետի շրջակայքում կառուցվում է բազմանդամ, որը լավագույն ձևով է նկարագրում տրված կետերով անցնող կորը: Բազմանդամը կառուցվում է փոքրագույն քառակուսիների մեթոդով, հաշվարկվում են բազմանդամի գործակիցները և որոշվում տրված կետում նրանց արժեքները: Տվյալ կետում ածանցյալը հաշվարկվում է անալիտիկորեն կառուցված բազմանդամի ածանցումով: Որպեսզի համոզվենք ՅԴԿ-ի ճշգրտության մեջ այն, համեմատել ենք այլ հեղինակների կողմից ուրիշ մեթոդներով ստացված ՅԴԿ-ի հետ [32]: Միաժամանակ, ՅԴԿ-ն համեմատվել է միկրոկալորիմետրի միջոցով ստացված հալման կորի տեսքի հետ [54]: Փորձերը ցույց են տվել, սպեկտրոֆոտոմետրիկ ՅԴԿ-ը և միկրոկալորիմետրիկ հալման կորերի տեսքը համընկնում է:

**ԳԼՈՒԽ 3  
ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ և ԴՐԱՆՑՔՆԱՐԿՈՒՄԸ**

**ՀԱՐԹՔՐՈՍՏՈՐՈՎ ԼԻԳԱՆԴՆԵՐԻ ՓՈՒԱԶԴԵՏՈՒԹՅՈՒՆԸ**

## **ՆՈՒԼ ԵՒՆԱԹՅՈՒՆԵՐԻ ՀԵՏ**

Նուկլեինաթթուների ֆիզիկաքիմիական և կենսաբանական հատկությունների վրա ազդում են բազմաթիվ ցածրամոլեկուլային միացություններ (լիզանդներ), ինչպիսին են ծանր մետաղների իոնները, մուտագենները, կանցերոգենները, հակաբիոտիկները, ինչպես նաև սպիտակուցները, որոնք բջջում պատասխանատու են ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի փաթեթավորման համար և մասնակցում են ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիայի և տրանսկրիպցիայի պրոցեսներին, կարգավորելով նուկլեինաթթուների կենսաբանական ակտիվությունը: Նուկլեինաթթուների հետ լիզանդների փոխազդեցության մեխանիզմների առանձնահատկությունների ուսումնասիրությունը և առաջացած կոմպլեքսների ֆիզիկաքիմիական հատկությունների բացահայտումը ժամանակակից մոլեկուլային կենսաֆիզիկայի կարևորագույն, արդիական խնդիրներից է: Առանցքային հարցերից է նուկլեինաթթուների հետ ցածրամոլեկուլային ակտիվ միացությունների կոմպլեքսազոյացման պրոցեսի ֆիզիկաքիմիական հատկությունների բացահայտումը:

Մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում նաև այն, թե ինչպես է լիզանդը իրականացնում իրեն հատուկ կենսաբանական ակտիվությունը: Բազմաթիվ ուսումնասիրություններ ցույց են տալիս, որ բջջի ներսում ԴՆԹ-ի երկշղթա պարույրը հանդիսանում է գլխավոր թիրախ մեծ թվով քիմիաթերապևտիկ ակտիվությամբ օժտված լիզանդների համար: Վերջիններս միանում են ԴՆԹ-ի կամ ՌՆԹ-ի հետ և մասնակցում են նուկլեինաթթուների կարևոր կենսաբանական պրոցեսների իրականացմանը: Այժմ հայտնի փորձարարական տվյալների համաձայն կարելի է վստահորեն պնդել, որ ՆԹ-ի հետ բազմաձև փոխազդող ցածրամոլեկուլային միացություններից (ինտերկալյատորներ, ակոսներում միացող, կովալենտ կապվող և այլն) մանրամասն ուսումնասիրված են ինտերկալյացիայի եղանակով կապվող լիզանդները [60-61]:

Տեսական և փորձարարական մեծաքանակ աշխատանքների արդյունքների հիման վրա հաստատվել է, որ հարթ քրոմոֆոր պարունակող ԷԲ-ի ինտերկալացիան GC պարունակող հատվածներում

ավելի նախընտրելի է: Այն մխրճվում է նուկլեինաթթուների նուկլեոտիդային զույգերի միջև կենսապոլիմերի երկշղթա պարույրի առանցքին ուղղահայաց ուղղությամբ: Բացի այդ, մեր տեսական և փորձարարական տվյալները վկայում են, որ ԷԲ և այլ հարթ քրոմոֆոր պարունակող լիզանդներ կարող են փոխազդել նուկլեինաթթուների հետ, առաջացնելով բազմաբնույթ կոմպլեքսներ [62-69]:

Տարբեր ֆիզիկական մեթոդներով ուսումնասիրված են փոխազդեցության ձևերը և ընտրողականությունը, կապման հետևանքով համակարգի ջերմակայունության փոփոխությունը և ջերմադինամիկական պարամետրերի փոփոխության վարքը [70-81]: Մինչդեռ բավականին սակավ են ուսումնասիրությունները ԷԲ-ի և ռիբոնուկլեոտիդների փոխազդեցության վերաբերյալ, իսկ միտոքսանտրոնի դեպքում այդ փոխազդեցությունը ընդհանրապես ուսումնասիրված չէ: Հայտնի է, որ երկշղթա պարուրային ռիբոնուկլեոտիդները ֆիզիոլոգիական պայմաններում գտնվում են A-կոնֆորմացիայում, որի պարույրը բնութագրող պարամետրերը Էապես տարբերվում են նույն պայմաններում ԴՆԹ-ի B-կոնֆորմացիայի երկշղթա պարույրի պարամետրերից (Նկար. 1 ա և բ) [3]: Այս տարբերությունը հավանաբար ունի կարևոր կենսաբանական նշանակություն [3,4] և կարող է ունենալ մեծ նշանակություն բնական և սինթետիկ ցածրամուլեկուլային միացությունների ՆԹ-ի A-, B- և Z-ձևերի հետ փոխազդելու առանձնահատկությունների և այդ ձևերը միմյանցից տարբերակելու ուսումնասիրությունների պրոցեսում: Մեր աշխատանքները վերաբերում են ուսումնասիրվող լիզանդների (միտոքսանտրոնի և ԷԲ-ի) ռիբոնուկլեոտիդների A-ձևի և ԴՆԹ-ի B-ձևի հետ կոմպլեքսագոյացման ջերմադինամիկական պարամետրերի որոշման և համեմատման վրա:

Ստորև բերվում են մեր կողմից կատարված ԴՆԹ-ի (B-ձև) և պոլիռիբոնուկլեինաթթուների (A-ձև) հետ միտոքսանտրոնի և ԷԲ-ի փոխազդեցությանը նվիրված ուսումնասիրությունների արդյունքները, որոնք մասամբ լրացնում են ռիբոնուկլեոտիդների հետ այդ լիզանդների կոմպլեքսագոյացման ջերմադինամիկական և

կառուցվածքային առանձնահատկությունների վերաբերյալ գոյություն ունեցող տվյալների բացը:

### **3.1 ՄԻՏՈՔՍԱՆՏՐՈՆԻ ՓՈՒԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԹՅՈՒՆԵՐԻ ԶԵՏ:**

Անտրացիկլիկային հակաբիոտիկները լայնորեն հայտնի քիմիաթերապևտիկ դեղանյութերից ամենատարածված, հաճախ օգտագործվող և արդյունավետ միացություններից են [76,77], որոնք հայտնագործվել են անցած դարի սկզբին, սակայն նրանց նկատմամբ ուշադրությունը զգալի ակտիվացել է 20-րդ դարի 60-ական թվականներին, երբ բացահայտվեց նրանց հակաուռուցքային ակտիվությունը: Զետաքրքիր է, որ մինչ այժմ սինթեզված 2000-ից ավելի անտրացիկլիկային միացություններից շատ քչերն են օգտագործվում որպես դեղանյութերի ինտեգրալ բաղկացուցիչ մաս բարդ նորագոյացությունների բուժման պրոցեսում [76-78]: Գոյություն ունեցող մեծաքանակ փորձարարական և կենսաբժշկական հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տալիս, որ անտրացիկլիկների հակաուռուցքային ազդեցությունը լրիվ բացահայտված չէ և նույլ եինաթթուների հետ կոմպլեքսագոյացման հարցում դեռ գոյություն ունեն վիճելի հարցեր: Տարբեր լաբորատորիաներում և կլինիկաներում ստացված տվյալների անալիզը հնարավորություն է տալիս դիտարկել փոխազդեցությունների հետևյալ հիմնական մեխանիզմները. ա) ինտերկալյացիա, որը բերում է կենսամոլեկուլների սինթեզի դադարեցմանը, բ) ազատ ռադիկալների գեներացիա, որը առաջացնում է նուկլեինաթթուների վնասվածքներ, գ) բացառում է ԴՆԹ-ի ապաշղթայացման պրոցեսը, դ) հրահրում է ԴՆԹ-ի վնասվածքներ տոպրիզոմերազ II-ի գործունեության արգելակմամբ և այլն [5,7,52,76]: Նուկլեինաթթուների հետ լիգանդների կոմպլեքսների բավարար բնութագիրը բացահայտելու համար անհրաժեշտ է պարզել ԴՆԹ-ի և (կամ) ՌՆԹ-ի հետ նրանց (լիգանդների) միանալու ձևերը, առաջացած միացության կառուցվածքը և ջերմադինամիկական բնութագիրը: Այս անհրաժեշտությունը հատկապես առաջանում է լիգանդների փոխազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմները հասկանալու և նոր, ավելի էֆեկտիվ դեղանյութեր սինթեզելու համար:

Անտրացիկլի հնային միացությունները լավ ուսումնասիրված և բնութագրված ինտերկալյատորներ են և կարող են ծառայել շատ կարևոր մոդելային կառուցվածքները բացահայտելու համար, այն է, թե ինչպես են կենսաբանական ակտիվ մոլեկուլները ճանաչում և միանում նուկլեինաթթուների հետ: Հակաբիոտիկ անտրացիկլիներին շարքում իր ցայտուն արտահայտված հակաուռուցքային հատկություններով առանձնանում է արհեստականորեն սինթեզված միտոքսանտրոնը (Նկար 14ա), որը համեմատած մյուս անտրացիկլի հնային դեղամիջոցների հետ, ունի թույլ արտահայտված ցիտոտոքսիկ հատկություն, բավականին ակտիվ է և լայնորեն օգտագործվում է տարբեր տեսակի ուռուցքների քիմիաթերապիայում [78-84]: Այս լիգանդի քիմիաթերապևտիկ հատկությունները վերագրվում է ԴՆԹ-ի հետ նրա միանալու հատկությամբ, որը (լիգանդը) արգելակում է ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիան և ՌՆԹ-ի սինթեզը: Գրականության մեջ մինչև այժմ հայտնի փորձարարական տվյալների անալիզի և գոյություն ունեցող մոդելների համեմատումը թույլ է տալիս մեծ համոզմամբ պնդել, որ միտոքսանտրոնի միացման գերակշռող ձևը ինտերկալյացիան է [84]: Սակայն ամբողջովին բացահայտված չեն կապման մեխանիզմները, մասնավորապես, ուսումնասիրված չէ նրա փոխազդեցությունը նուկլեինաթթվի կարևոր կենսաբանական նշանակություն ունեցող A-ձևի և ոչ կանոնավոր կառուցվածքների (օրինակ՝ Z-ԴՆԹ-ի և քառաջրթա կառուցվածքների) հետ: Ճշգրիտ բացահայտված չեն փոխազդեցության ընտրողականությունը և այդ փոխազդեցության հետևանքով ՆԹ-ում հնարավոր կառուցվածքային փոփոխությունները: Սպեկտրոսկոպիկ հետազոտությունները ցույց են տվել, որ միտոքսանտրոնի մոլեկուլը երկշրթապարույր ԴՆԹ-ի հետ չի փոխազդում ինչպես դասական ինտերկալյատորները, դիտվում է մասնակի ինտերկալյացիա [81,83], որի հետևանքով կոմպլեքսի ֆիզիկաքիմիական հատկությունները էապես տարբերվում են հայտնի ինտերկալյատորների համապատասխան հատկություններից: Հետևաբար ցանկացած նոր հետազոտություն այս բնագավառում օգտակար է այդ բացը լրացնելու համար: Այս և հաջորդ պարագրաֆներում բերվում են մեր կողմից կատարված

հետազոտությունների արդյունքները, որոնք պարզաբանում են միտոքսանտրոնի փոխազդեցության որոշ հատկանշական առանձնահատկությունները երկշղթա պարույր և քառաշղթա նուկլեինաթթուների հետ:

Միտոքսանտրոնը հարթ քրոմոֆոր պարունակող լիգանդ է, որը մխրճվում է ԴՆԹ-ի զույգ նուկլեոտիդների հարթությունների միջև և ալիֆատիկ կողմնային խմբերով էլեկտրաստատիկ փոխազդեցության մեջ է մտնում բացասական լիցքավորված ֆոսֆատային հենքային խմբերի հետ: Այս միացության կապման մեխանիզմները ուսումնասիրվել են բազմաթիվ մեթոդներով: Այստեղ մենք կօգտագործենք սպեկտրոֆոտոմետրիայի մեթոդը:

Միտոքսանտրոնը կլանում է էլեկտրամագնիսական ալիքների սպեկտրի տեսանելի և ուլտրամանուշակագույն տիրույթներում (200-800 նմ): Քանի որ նուկլեինաթթուները կլանում են լույսի սպեկտրի ուլտրամանուշակագույն տիրույթում ( $\lambda < 310$  նմ) և չեն կլանում տեսանելի լույսի տիրույթում ( $\lambda > 310$  նմ), ապա նպատակահարմար է նրանց փոխազդեցությունը միտոքսանտրոնի հետ ուսումնասիրել տեսանելի տիրույթում (400-800 նմ), որտեղ միտոքսանտրոնի կլանման սպեկտրների փոփոխությունը պայմանավորված կլինի միայն նուկլեինաթթվի և միտոքսանտրոնի փոխազդեցությամբ:

**3.1.1 Միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը երկշղթա պարույր poly(A)·poly(U) և poly(G)·poly(C) սինթետիկ արլիռիբոնուկլեոտիդների հետ**

Ինչպես նշվել է, միտոքսանտրոնը կրկնակի պարուրային ԴՆԹ-ի հետ կարող է փոխազդել մի քանի եղանակներով (ինտերկալյացիա, կիսաինտերկալյացիա, էլեկտրաստատիկ և արտաքին կապում), սակայն հիմնական փոխազդեցության եղանակը հանդիսանում է ինտերկալյացիան [83-84]: ԴՆԹ-ի հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը քանակապես բնութագրելու համար հետազոտությունները իրականացվել են այնպիսի արտաքին պայմաններում, որտեղ գերակշռում է ինտերկալյացիան, իսկ մյուս



տիպի փոխազդեցությունները փորձի սխալի սահմաններում կարելի է անտեսել :

Բնական է ենթադրել , որ միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը A-կոնֆորմացիայի հետ պետք է տարբերվի B-կոնֆորմացիայի դեօքսիռիբոնուկլեոտիդների հետ նրա փոխազդեցությունից: Գրականության մեջ գոյություն ունեցող տվյալները ցույց են տալիս, որ հարթ քրոմոֆոր պարունակող ԷԲ-ի փոխազդեցությունը A-կոնֆորմացիայում գտնվող poly(A)·poly(U) և poly(G)·poly(C) պուրինիբոնուկլեոտիդների հետ էապես տարբեր են [60], տարբեր են նաև ԷԲ-ի B-կոնֆորմացիայում գտնվող ԴՆԹ-ի հետ փոխազդեցությունը բնութագրող շերմադինամիկական պարամետրերը:

Դիտարկենք միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը poly(G)·poly(C)-ի հետ  $\mu=0,11$  մոլ NaCl բուժերում: Փորձերը ցույց են տալիս, որ միտոքսանտրոնի հաստատուն կոնցենտրացիայի դեպքում լուծույթին poly(G)·poly(C) ավելացնելիս դիտվում է կարմիր շեղում և հիպոքրոմ էֆեկտ (Նկար 19): Միաժամանակ, կլանման սպեկտրներում դիտվում է իզոբեստիկ կետ  $\lambda=675$  նմ ալիքի երկարության տակ, որը չի փոփոխվում լուծույթում միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիայի աճման ընթացքում: Հետևաբար 0,11 մոլ NaCl իոնական ուժի,  $pH=7,4$  և  $35^{\circ}C$  շերմաստիճանում միտոքսանտրոնը փոխազդում է երկշղթա պարույր poly(G)·poly(C)-ի հետմիայն մի ինտերկալյացիայի եղանակով:

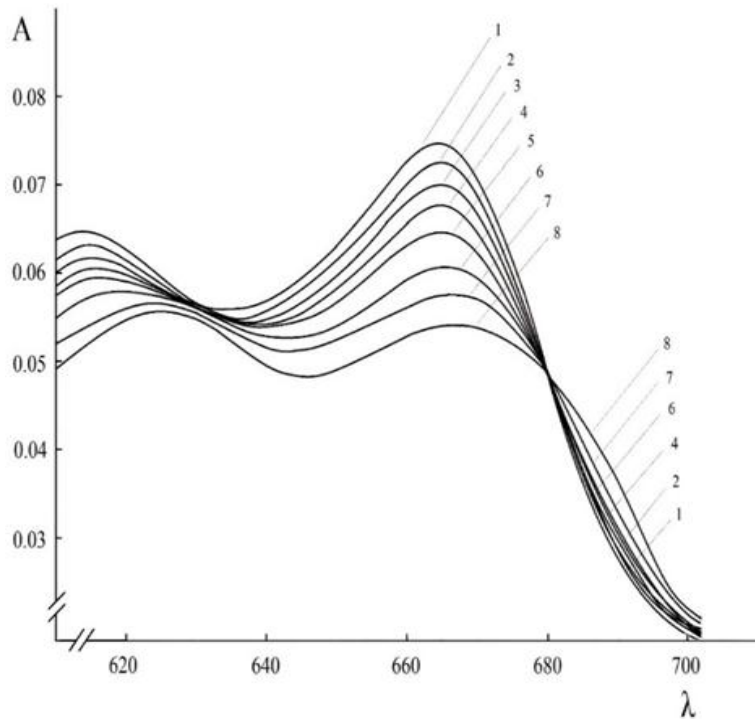
Օգտվելով միտոքսանտրոն-poly(G)·poly(C) կոմպլեքսների համար ստացված կլանման սպեկտրներից, կարելի է որոշել կապման պրոցեսը բնութագրող շերմադինամիկական պարամետրերը. կապման հաստատունը (K) և փոխազդեցության հագեցման դեպքում մեկ լիգանդի հետ կապված զույգ ազոտային հիմքերի քանակը (n): Այդ նպատակով կլանման սպեկտրներից (Նկար 19) (3.1) բանաձևի միջոցով որոշելով կապված ( $c_b$ ) և ազատ ( $c_f$ ) միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիաները, կառուցվել է կապման իզոթերմը Սկետչարդի կոորդինատների համակարգում.

$$\frac{c_f}{c_0} = \frac{A - A_b}{A_f - A_b}, \quad c_b = c_0 - c_f \quad 3.1$$

որտեղ  $A_f$ -ը և  $A_b$ -ն ներկայացնում են միտոքսանտրոնի ազատ և կապված մոլեկուլի օպտիկական խտությունները ազատ և խիզանդի կլանման մաքսիմումին համապատասխան ալիքի երկարության տակ (միտոքսանտրոնի դեպքում 659 նմ ալիքի երկարության տակ), իսկ  $A$ -ն կլանման մեծությունն է միտոքսանտրոնի միջանկյալ կոնցենտրացիաների դեպքում:

Լիզանդի փոխազդեցությունը երկշղթա պարուրային ՆԹ-ների հետ բնութագրվում է ադսորբցիայի ոչ գծային իզոթերմով, որը կարելի է նկարագրել (3.2) բանաձևով.

$$\frac{r}{c_f} = \frac{K(1 - nr)^n}{(1 - (n - 1)r)^{n-1}} \quad 3.2$$



Նկար 19. Տեսանելի տիրույթում միտոքսանտրոնի կլանման սպեկտրների փոփոխության վարքը poly(G).poly(C) պոլիռիբոնուկլեոտիդի հետ կոմպլեքսացոյացման հետևանքով 0.11 մոլ NaCl, 35°C ջերմաստիճանում: Տիտրացիայի պրոցեսում միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիան մնում է հաստատուն ( $c_0=3.0 \cdot 10^{-6}$  մոլ): poly(G).poly(C)-ի կոնցենտրացիան հավասար է.  $c_p=0$  (1),  $1.55 \cdot 10^{-5}$  մոլ (2),  $4.8 \cdot 10^{-5}$  մոլ (3),  $9.1 \cdot 10^{-5}$  մոլ (4),  $1.25 \cdot 10^{-4}$  մոլ (5),  $2.1 \cdot 10^{-4}$  մոլ (6),  $2.67 \cdot 10^{-4}$  մոլ (7),  $3.82 \cdot 10^{-4}$  մոլ (8):

թագրող պարամետրը (մեկ լիգանդի հետ կապված նուկլեոտիդների թիվը):

Կապման իզոթերմերը կառուցվել են 35, 50 և 60°C ջերմաստիճաններում, (3.2) բանաձևի միջոցով, և որոշվել են այդ փոխազդեցության K և n պարամետրերը (Աղյուսակ 1): Ուսումնասիրվել է նաև միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը երկշղթա պարույր poly(A).poly(U)-ի հետ: Տեսանելի տիրույթում կլանման սպեկտրների փոփոխության վարքը բերված է Նկար 20-ում: Ինչպես հետևում է Նկար 20-ից, միտոքսանտրոնի հաստատուն

որտ  
եղ  
 $r = \frac{c_2}{c_p}$ ,  
K-ն  
պոլի  
մերի  
հետ  
լիգա  
նդի  
կապ  
ման  
հաստ  
ատու  
նն է,  
որը`  
կոմպ  
լեքս  
ի  
ստեխ  
իոմե  
տրիա  
ն  
բնու

կոնցենտրացիայի դեպքում պոլիմերիզացիայի կոնցենտրացիան մեծացնելիս կլանման սպեկտրներում դիտվում է ինտերկալյացիայի մեխանիզմով փոխազդեցությանը հատուկ հիպոքրոմիզմ և կարմիր շեղում: Միտոքսանտրոնի մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում նկատվում է շեղում իզոբեստիկ կետից, որը արդյունք է երկրորդ տիպի փոխազդեցության: Յետևաբար, poly(A)·poly(U)-ի հետ միտոքսանտրոնը միաժամանակ ոչ պակաս 2 տիպի կապով է փոխազդում՝ ինտերկալյացիա և արտաքին կապում, որը միտոքսանտրոնի հարաբերական կոնցենտրացիայի նվազման հետ հիմնականում արտահայտվում է միայն ինտերկալյացիայի տեսքով: Նկար 20-ում բերված տիտրացիայի սպեկտրներից ընտրենք այն սպեկտրները, որոնց համար դիտվում են իզոբեստիկ կետ (այսինքն առկա է միայն ինտերկալյացիայի կապման ձևը, 2-4 կորերը) և (3.1) բանաձևով կառուցենք կապման իզոթերմը Սկետչարդի կոորդինատներով: Կապման իզոթերմերը նկարագրենք (3.2) բանաձևով, որտեղից և որոշենք  $K$  և  $n$  պարամետրերի արժեքները poly(A)·poly(U)-միտոքսանտրոն կոմպլեքսների համար: Միտոքսանտրոնի հետ poly(G)·poly(C) և poly(A)·poly(U) պոլիմերիզացիայի կոնցենտրացիան կապման

հաստատունի և կապման մեկ տեղին բաժին ընկնող նույն տիպի թվի արժեքները բերված են Աղյուսակ 1-ում: Աղյուսակ 1-ից հետևում է, որ  $n$ -ի արժեքը ՌՆԹ-միտոքսանտրոն կոմպլեքսների համար  $n=6\div 8$ , որը  $3\div 4$  անգամ մեծ է ԴՆԹ-միտոքսանտրոն կոմպլեքսների համար ստացված ( $n=2\div 3$ ) արժեքից [52,82]: Կապման հաստատունը ՌՆԹ-միտոքսանտրոն կոմպլեքսների համար մոտավորապես մի կարգով փոքր է ԴՆԹ-միտոքսանտրոնի կոմպլեքսների համար որոշված արժեքներից

Աղյուսակ 1

*Միտոքսանտրոնի պոլիմերիզացիայի կոնցենտրացիայի հետ կոմպլեքսների կապման հաստատունի ( $K$ ) և հազեցման ստեխիոմետրիայի ( $n$ ) արժեքները երեք տարբեր ջերմաստիճաններում, 0.11 մոլ NaCl իոնական ուժի և  $pH=7,4$ -ի դեպքերում:*

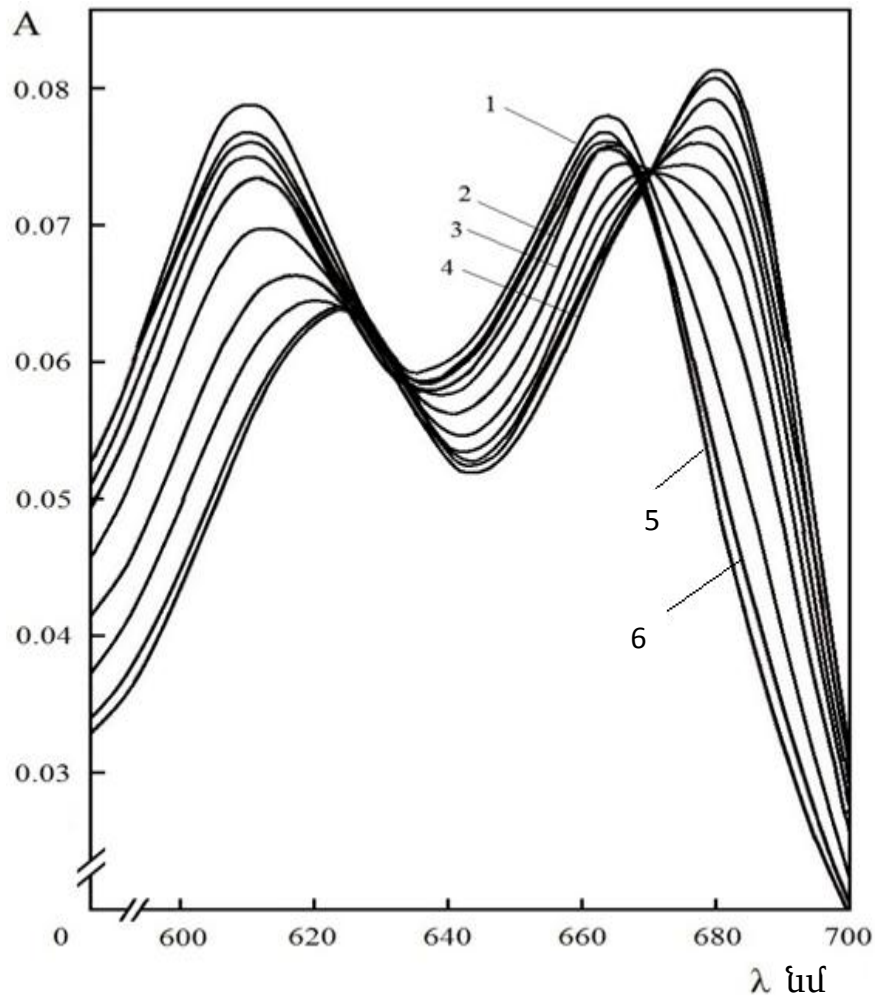
պոլիմերիզացիայի տիպ	$t, ^\circ C$	$K \times 10^{-4}, մոլ^{-1}$	$-\Delta G, \frac{կկալ}{մոլ}$	$n$
poly(G).poly(C)	35	9,9±0,7	7,2±0,1	6,0±0,2

	50	6,2±0,9	7,1±0,1	6,5±0,3
	60	3,4±0,6	6,9±0,1	6,6±0,4
poly(A)·poly(U)	25	6,8±0,3	6,6±0,1	7,8±0,4
	30	5,2±0,3	6,6±0,1	8,0±0,4
	35	3,0±0,4	6,4±0,1	8,2±0,5
[poly(G)] <sub>4</sub>	17	77,5±0,1	7,8±0,1	10,2±0,3
	27	58,0±0,2	7,9±0,1	10,3±0,2
	37	43,4±0,1	8,0±0,1	10,1±0,4

(Աղյուսակ 1): Աղյուսակ 1-ից հետևում է, որ AU- և GC-զույգ հիմքերի հետմիտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը ընտրողական է, GC-ի հետավելի ուժեղ է, քան AU-ի հետ: Ընդհանրացնելով A- և B-կոնֆորմացիաների հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության փորձարարական տվյալները, կարելի է պնդել, որ ընդհանուր առմամբ երկու տիպի կրկնակի պարույրների հետ միտոքսանտրոնը փոխազդում է համանման եղանակներով: Շնորհիվ պարույրների տարբեր հիդրատացիաների և երկրաչափական կառուցվածքի, իրարից տարբերվում են միայն կապման ջերմադինամիկական պարամետրերի արժեքները:



3.1.2 Միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը poly(G)-ի հետ G-



Նկար 20. Տեսանելի տիրույթում միտոքսանտրոնի կլանման սպեկտրների փոփոխության վարքը poly(A)·poly(U) պոլիմերի կլեյմաթվի հետ լիզանդի փոխազդեցության հետևանքով: Տիրացիայի ընթացքում միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիան մնում է հաստատուն ( $c_0=2.98 \cdot 10^{-6}$  մոլ): poly(A)·poly(U)-ի կոնցենտրացիաները լուծույթում համապատասխանաբար հավասար են  $c_p=4.52 \cdot 10^{-5}$  մոլ (2),  $7.61 \cdot 10^{-5}$  մոլ (3) և  $3.23 \cdot 10^{-4}$  մոլ (4): Մաքուր միտոքսանտրոնի կլանման սպեկտրը (1):

$\mu=0,11$  մոլ NaCl,  $t=35^\circ\text{C}$ :

Իզոբեստիկ կետը դիտվում է poly(A)·poly(U) 2-4 կոնցենտրացիաների դեպքում:

քվարկուլ էքս կառուցվածքները կարող են հանդիսանալ թիրախ հակառուռուցքային դեղամիջոցների համար [85-92]: Այս

տեսանկյուններից *in vitro* ուսումնասիրվել են երկշղթա պարուրային նուկլեինաթթուների հետիներկալյացիոն և ոչ իներկալյացիոն մեխանիզմով փոխազդող կենսաբանական ակտիվ միացությունների կապումը G-քվարտուլյեքս կառուցվածքի հետ: Ցույց է տրվել, որ EԲ-ը փոխազդելով G-քվարտուլյեքսի հետ հեշտացնում է այդ կառուցվածքի առաջացումը և բարձրացնում նրա հալման ջերմաստիճանը [93]: Չարկ է նշել, որ ոչ իներկալյացիոն մեխանիզմով փոխազդող նեոփոսփին և դիստամիցին հակառուռուցքային միացությունները, որոնք կապում են երկշղթա պարուրային ԴՆԹ-ի միայն AT հիմքեր պարունակող տեղամասերի հետ, տեղավորվելով փոքր ակոսում, համեմատած EԲ-ի հետ մոտավորապես երեք կարգով ավելի փոքր կապման հաստատունով ( $\sim 8 \cdot 10^4$  մոլ<sup>-1</sup>) փոխազդում են G-քվարտուլյեքս կառուցվածքների հետ, որի արդյունքում դիտվում է մեծ կապման էնթալպիա ( $\Delta H \sim -10.8 \frac{\text{կկալ}}{\text{մոլ}}$ ):

Համեմատաբար վերջերս էլեկտրոֆորեզի միջոցով ուսումնասիրվել է polyG-ի կառուցվածքը կախված լուծույթի իոնական ուժից: Ցույց է տրվել, որ 0,01մոլից մեծ իոնական ուժերի դեպքում poly(G)-ն առաջացնում է հիմնականում քառաշղթա կառուցվածք [23]: Վերջերս ուսումնասիրվել է դասական իներկալյացիոն EԲ-ի փոխազդեցությունը [poly(G)]<sub>4</sub>-ի հետ և ցույց է տրվել, որ կոմպլեքսացման հետևանքով համակարգի ջերմադինամիկական պարամետրի փոփոխությունները նկատելի տարբերվում են կրկնակի պարուրային կառուցվածքի հետ EԲ-ի կոմպլեքսացման համապատասխան պարամետրերից: Մասնավորապես, հագեցման դեպքում EԲ-ի մեկ մոլեկուլը կապվում է [poly(G)]<sub>4</sub>-ի n=5 գունահիստերի հետ, մինչդեռ EԲ-երկշղթա պարուրային փոխազդեցության համար n=4 [94,95]:

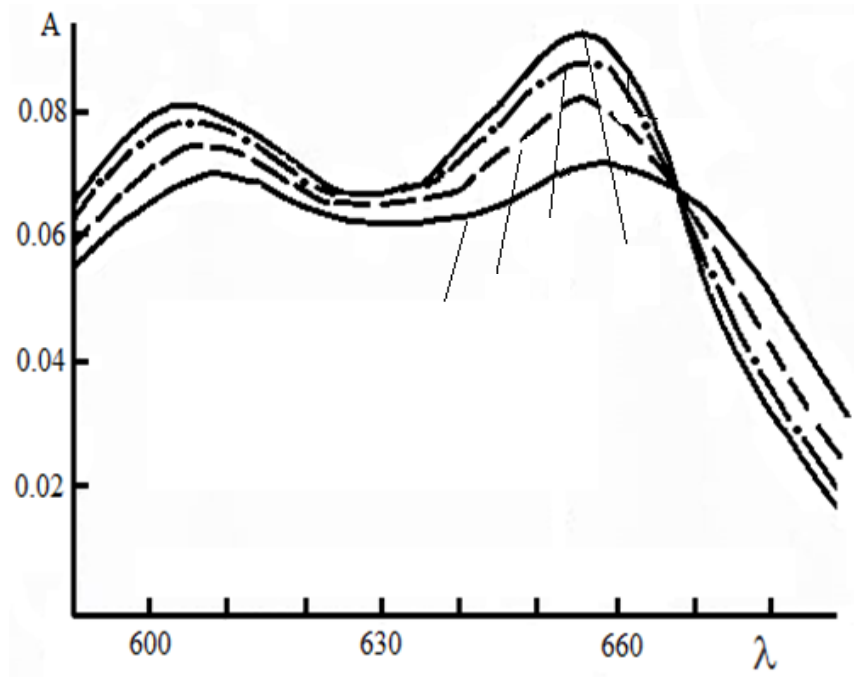
Ապացուցվել է, որ միտոքսանտրոնի ազդեցությունը իրականանում է բջջային ԴՆԹ-ի հետ կապման շնորհիվ, սակայն այժմ հայտնի չեն կապման եղանակները, ուսումնասիրված չեն նրա փոխազդեցությունը քառաշղթա կառուցվածքի հետ և այդ փոխազդեցության հետևանքով հնարավոր կառուցվածքային փոփոխությունները: Ուսումնասիրվել է [poly(G)]<sub>4</sub>-ի հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության հետևանքով տեսանելի



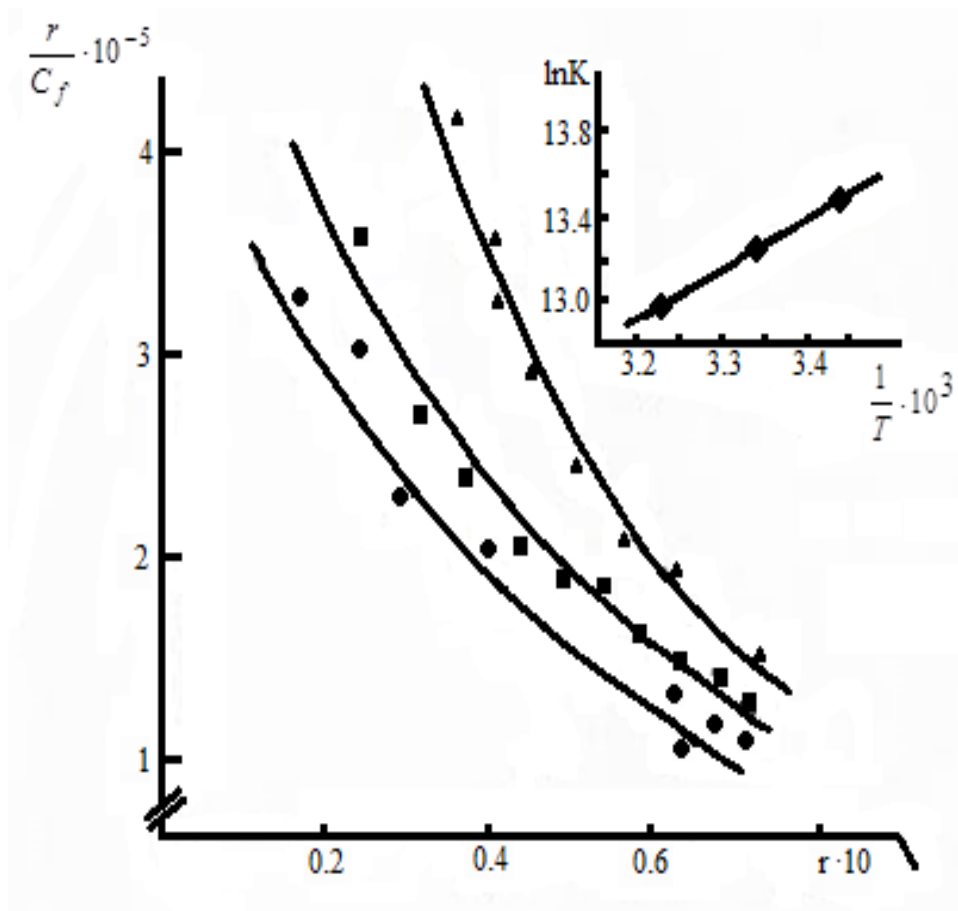
տիրույթում միտոքսանտրոնի կլանման սպեկտրների փոփոխության վարքը: Տեսանելի տիրույթում միտոքսանտրոնի կլանման սպեկտրների փոփոխությունը պայմանավորված է միայն [poly(G)]<sub>4</sub>-միտոքսանտրոն կոմպլեքսագոյացմամբ: Նկար 21-ից հետևում է, որ միտոքսանտրոնի լուծույթին [poly(G)]<sub>4</sub> ավելացնելիս դիտվում է հնտերկալյացիային հատուկ հիպոքրոմիզմ և կորի մաքսիմումի տեղաշարժ դեպի երկար ալիքային տիրույթ: Ուսումնասիրված իոնական ուժի և ջերմաստիճանային տիրույթում կլանման սպեկտրների վրահստակ նշմարվում է իզոբեստիկ կետ 676 նմ ալիքի երկարության տակ, որը մնում է անփոփոխ մինչև լուծույթի միտոքսանտրոնի լրիվ կապվելը:

Փորձնական արդյունքներից հետևում է, որ  $c_p/c_0$  (որտեղ  $c_p$ -[poly(G)]<sub>4</sub>-ի մոլային կոնցենտրացիան է ըստգուանինի, իսկ  $c_0$  -ն միտոքսանտրոնի մոլային կոնցենտրացիան) հարաբերական կոնցենտրացիայի որոշակի արժեքից սկսած կոմպլեքսի կլանման սպեկտրները դադարում են փոփոխվել, լուծույթում միտոքսանտրոնի բոլոր մոլեկուլները գտնվում են կապված վիճակում: Կոմպլեքսագոյացումը բնութագրող ջերմադինամիկական պարամետրերի՝ կապման հաստատունի (K) և փոխազդեցության հագեցման դեպքում կոմպլեքսի ստեփիոմետրիան բնութագրող պարամետրի (n) արժեքները որոշվել ենք Նկար 21-ում պատկերված կլանման սպեկտրներից:

Կապման իզոթերմերը նկարագրվել են (3.2) բանաձևով, որը առավել ճիշտ է նկարագրում լիգանդի ադսորբցիան նուկլեինաթթուների վրա [96]: Նկար 22-ում բերված են [poly(G)]<sub>4</sub>-միտոքսանտրոնի կոմպլեքսների կապման իզոթերմերը A բուժերում 290K, 300K և 310K ջերմաստիճաններում: Հոծ գիծը ներկայացնում է փորձնական կետերով, ըստ (3.2) բանաձևի, փոքրագույն քառակուսիների մեթոդով տարված տեսական կորը, որից և որոշվել են K և n պարամետրերի արժեքները [poly(G)]<sub>4</sub>-միտոքսանտրոն կոմպլեքսների համար 3 տարբեր ջերմաստիճաններում (Աղյուսակ 1): Հաշվումները ցույց են տալիս, որ [poly(G)]<sub>4</sub>-միտոքսանտրոն փոխազդեցության համար  $n \cong 10$  (Աղյուսակ 1): Հայտնի է, որ երկշղթա



պարուրային poly(G)-poly(C) ռիբոնուկլեոտիդի հետ միտոքսանտրոնի կապման դեպքում 308 K ջերմաստիճանում  $K \cong 10^5$  մոլ<sup>-1</sup> և  $n \cong 6$  (Աղյուսակ 1):



Նկար 22. Միտոքսանտրոնի հետ [poly (G)]<sub>4</sub>-ի կապման իզոթերմերը 290K (1), 300K (2) և 310K (3) ջերմաստիճաններում: Աջ անկյունում պատկերված է բերված իզոթերմերից հաշված lnK-ի կախումը  $\frac{1}{T}$ -ից:

Չետևաբար, ի տարբերություն երկշղթա պարուրային արևի ռիբոնուկլեոտիդի, [poly(G)]<sub>4</sub>-ում միտոքսանտրոնի մեկ մոլեկուլը փոխադրեցության հագեցման դեպքում կապվում է ավելի մեծ թվով գուանինների հետ: Չայտնի է, որ քառաշղթա [poly(G)]<sub>4</sub>-ի

յուրաքանչյուր շղթա լուծույթում A-ընտանիքին հատուկ կոնֆորմացիոն պարամետրերով բնութագրվող կառուցվածք է: Յետևաբար, ստացված  $n \approx 10$  մեծություները պայմանավորված է  $[\text{poly}(\text{G})]_4$ -ի քառաշղթա կառուցվածքով, որը խոչընդոտում է ինտերկալյացիայի պրոցեսին. որի հետևանքով փոխազդեցության հագեցման դեպքում միտոքսանտրոնի մեկ մոլեկուլը 6-ի փոխարեն կապվում է 10 գուանինների հետ: Ամենայն հավանականությամբ, քառաշղթա  $[\text{poly}(\text{G})]_4$ -ի հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության դեպքում լիգանդի մոլեկուլները, թեկուզ մասնակի, չեն ներդրվում զույգ հիմքերի հարթությունների միջև այնպես, ինչպես դատելի է ունենում երկշղթա նուկլեինաթթուների դեպքում: Միտոքսանտրոնը իր կողմնային խմբերով, որոնք չեզոք pH-ի դեպքում լիցքավորվում են դրական լիցքով, կապվում են բացասական լիցքավորված ֆոսֆատային խմբերի հետ, ինչպես դատելի է ունենում երկար կողմնային խմբեր պարունակող մի շարք ցածրամոլեկուլային միացությունների դեպքում [97]: Այնուսակ 1-ից հետևում է, որ քառաշղթա  $[\text{poly}(\text{G})]_4$ -ի և երկշղթա պարուրային  $\text{poly}(\text{G}) \cdot \text{poly}(\text{C})$ -ի հետ միտոքսանտրոնի կապման հետևանքով  $\Delta G$  մեծության արժեքները փորձի սխալի սահմաններում կարելի է համարել նույնը: Յետևաբար, միտոքսանտրոնը ավելի ամուր է կապվում քառաշղթա  $[\text{poly}(\text{G})]_4$  հետ, քան երկշղթա  $\text{poly}(\text{G}) \cdot \text{poly}(\text{C})$ -ի հետ: Քառաշղթա կառուցվածքում շղթաների կոմպակտ դասավորության հետևանքով դժվարանում է միտոքսանտրոնի մոլեկուլների ինտերկալյացիան, որի հետևանքով, ամենայն հավանականությամբ միտոքսանտրոնի մոլեկուլները  $[\text{poly}(\text{G})]_4$ -ի հետ կապվում են հիմնականում արտաքինապես և փոխազդեցության հագեցման դեպքում միտոքսանտրոնի մեկ մոլեկուլը կապվում է ավելի շատ թվով գուանինների հետ ( $n \approx 10$ ):

**3.2.1 AT- և GC- զույգերի հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության քննարկումը:**

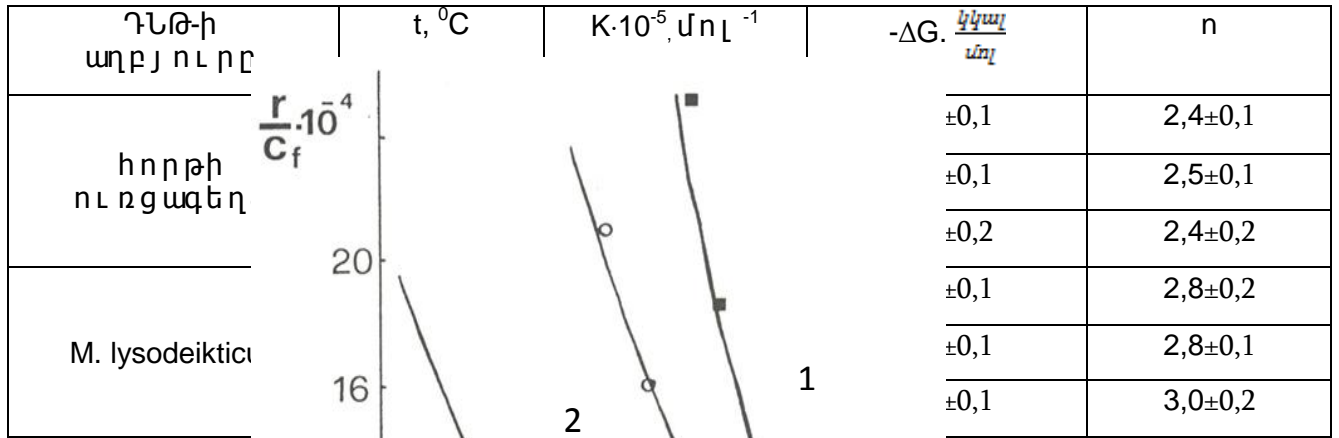
Մեր կողմից ուսումնասիրվել է միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը հորթի ուրցագեղձի երկշղթա ԴՆԹ-ի հետ  $\mu = 0.11$  մոլ  $\text{NaCl}$  իոնական ուժի դեպքում: Փորձից հետևում է, որ այստեղ նույնպես ԴՆԹ-ի կոնցենրացիան մեծացնելիս դիտվում է

հիպոթրոմիզմ և կլ անման մաքսիմումի կարմիր շեղում: Միաժամանակ, կլ անման սպեկտրներում հստակ դիտվում է իզոբեստիկ կետ  $\lambda=676$  նմ ալիքի երկարության տակ: Յետևաբար, այս արտաքին պայմաններում ( $\mu=0.11$  մոլ NaCl, pH=7.4 և  $35^{\circ}\text{C}$ ) միտոքսանտրոնը փոխազդում է երկշղթա պարույր ԴՆԹ-ի հետ միայն մի եղանակով: Յետևաբար կարելի է եզրակացնել, որ նշված արտաքին պայմաններում իրականանում է միտոքսանտրոնի միայն ինտերկալացիոն փոխազդեցությունը: Պարզաբանենք, թե միտոքսանտրոնի և ԴՆԹ-ի փոխազդեցության ժամանակ դիտվում է արդյոք ընտրողականություն: Ուսումնասիրենք այս լիզանդի և երկշղթա երկու տարբեր GC-պարունակությամբ ԴՆԹ-ների փոխազդեցությունը երեք տարբեր ջերմաստիճաններում (այս եղանակը ընդունված է, որպես դասական մեթոդ ընտրողականությունը ուսումնասիրելու համար): Փորձերը ցույց են տալիս, որ *M. lysodeikticus*-ի (72% GC) և հորթի ուրցագեղձի (42% GC) ԴՆԹ-ների հետ միտոքսանտրոնի կոմպլեքսագոյացման ժամանակ կլ անման սպեկտրերում դիտվում են նույն օրինաչափությունները (հիպոթրոմիզմ և կարմիր շեղում), հետևաբար լիզանդը այս պայմաններում ինտերկալացվում է դիտարկվող ԴՆԹ-ների նույն եռոսիդային զույգերի հարթությունների միջև: Կլ անման սպեկտրներից (3.1) բանաձևով որոշվել են լուծույթում կապված և ազատ միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիաները և կառուցվել կապման իզոթերմերը 3 տարբեր ջերմաստիճաններում Սկետչարդի կոորդինատներով (Նկար 23): Կապման իզոթերմերը նկարագրվել են (3.2) բանաձևով, որտեղից և որոշվել են K-ի և n-ի արժեքները: Այդ ուսակ 2-ում բերված են *M. lysodeikticus*-ից և հորթի ուրցագեղձից անջատված ԴՆԹ-ի և միտոքսանտրոնի կապման պարմետրերը երեք տարբեր ջերմաստիճաններում,  $\mu=0.11$  մոլ NaCl իոնական ուժի դեպքում:  $\Delta G$ -ի բացասական մեծ արժեքը ցույց է տալիս, որ կոմպլեքսագոյացման պրոցեսը ընթանում է ինքնաբերաբար:

Այդ ուսակ 2-ի տվյալներից երևում է, որ ազատ էներգիայի մեծությունը կախված չէ ԴՆԹ-ի GC պարունակությունից և ջերմաստիճանից: Այդ ուսակ 2-ում կապման հաստատունի համար ստացված արժեքների համեմատումը ցույց է տալիս, որ

միտոքսանտրոնը ավելի ամուր կապվում է GC- զույգերի հետ, որը այդ  
լիգանդի փոխազդեցության ընտրողա-

ԴՆԹ-միտոքսանտրոն կոմպլեքսագոյացման ջերմադինամիկական պարամետրերը երեք տարբեր ջերմաստիճաններում:  $\mu=0.11$  մոլ NaCl:



Նկար 23. Միտոքսանտրոն-ԴՆԹ (M. lysodeikticus) կոմպլեքսների կապման իզոթերմերը 0,11 մոլ NaCl, 35°C (1), 45°C (2) և 60°C (3) ջերմաստիճաններում: Հոծ գծերը ներկայացնում են փոքրագույն քառակուսիների սկզբում նքով փորձարարական կետերով տարված կորը:

կանու թյան արդյունք է: Ստացված արդյունքները համընկնում են գրականության մեջ եղած տվյալների հետ [52,81]:

Կապման հաստատունի տարբերությունը երկու տարբեր ԴՆԹ-ների համար համաձայն ստացված արդյունքների թույլ է կախված ԴՆԹ-ի GC-պարունակությունից:

Ստորև բերվում է մեր կողմից առաջարկվող հալման դիֆերենցիալ կորերի օգնությամբ ընտրողականության որոշման մեթոդ, որը հեշտիրագործելի է և ավելի ինֆորմատիվ:

**3.2.2 AT- և GC- զույգերի հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության ընտրողականության հետազոտումը ԴՆԹի հալման դիֆերենցիալ կորերի միջոցով:**

Կլանման, ֆլուորեսցենցիայի, շրջանային դիֆրոնիզմի սպեկտրոսկոպիայի մեթոդով ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ GC-զույգեր պարունակող տեղամասերում միտոքսանտրոնի հետ ստեկինգ փոխազդեցության հետևանքով դիտվում են երկշղթա պարույր կառուցվածքի զգալի փոփոխություններ, իսկ ԴՆԹ-ի AT-զույգեր պարունակող տեղամասերում այդ լիգանդի կապը կառուցվածքային փոփոխություններ համարյա չի առաջացնում: Միաժամանակ կապման պրոցեսի ուսումնասիրությունները վկայում են, որ միտոքսանտրոնի հարթանտրացիկլինային օղակները մասնակիորեն մխրճվում են GC-ազոտային զույգ հիմքերի միջև իսկ կողմնային ալիֆատիկ խմբերը խռոչներում փոխազդում են արտաքին ֆոսֆատային խմբերի հետ [52,83]:

Սակայն այս տվյալները բավարարչեն բացահայտելու լիգանդի ընտրողականությունը ՆԹ- AT և -GC զույգի նկատմամբ: Մեր հետազոտությունները ցույց են տվել, որ լիգանդի ընտրողականությունը կարելի է որակապես նկարագրել ԴՆԹ-ի հալման կորերի միջոցով: Չայտնի է, որ այս նպատակով սովորաբար ընտրվում են տարբեր GC-պարունակությամբ ԴՆԹ-ի նմուշներ, ստանում հալման կորերը յուրաքանչյուր ԴՆԹ-ի համար՝ լիգանդի որոշ հարաբերական կոնցենտրացիաների դեպքում: Այնուհետև կառուցում են տվյալ ԴՆԹ-ի հետ լիգանդի կոմպլեքսի հալման կորերը և որոշում են յուրաքանչյուր նմուշի հալման



չ երմաստիճանի կախումը լիգանդի  $c_0$  կոնցենտրացիայից՝  $T_m(c_0)$ : Այս փորձարարական ճանապարհը շատ աշխատատար է, պահանջում է շատ ժամանակ, իսկ  $T_m$  որոշման սխալը թույլ չի տալ իսմիարժեք գաղափար կազմել ընտրողականության վերաբերյալ: Այդ պատճառով մեր կողմից առաջարկվում է հետևյալ քիչ ծախսատար, պարզ մեթոդը, որը հիմնված է հետերոգեն, բլոկային կառուցվածքով միևնույն ԴՆԹ-ի հալման դիֆերենցիալ կորից GC- և AT-զույգերի նկատմամբ լիգանդի խնամակցության աստիճանը որոշելու վրա:

Բարձրակարգ կենդանիներից և բույսերից անջատված ԴՆԹ-ները, ունեն ազոտային հիմքերի բլոկային բաշխում [98]: Յուրաքանչյուր բլոկի GC-պարունակությունը տարբեր է, իսկ բլոկում ազոտային հիմքերի բաշխումը քվադրպատահական է: Այդ պատճառով բլոկային կառուցվածքով ԴՆԹ-ի հալման ինտեգրալ կորը պարունակում է աստիճանաձև տեղամասեր, որոնք բացահայտելու համար ստանում են հալման դիֆերենցիալ կորը (ՅԴԿ) (տես գլուխ 2), որը կարելի է ներկայացնել Գաուսյան ֆունկցիաների գումարի տեսքով,

$$v_T'(T) = \sum_{i=1}^n v_{iT}'(T) = - \sum_{i=1}^n \frac{S_i}{\sqrt{2\pi}\sigma_i} \exp\left[-\frac{(T - T_i)^2}{T_i^2}\right], \quad 3.3$$

որտեղ  $S_i$ ,  $\sigma_i$  և  $T_i$  ներկայացնում են համապատասխանաբար  $i$ -րդ բաղադրիչի մակերեսը, միջին քառակուսային լայնությունը և մաքսիմումին համատատասխանող շերմաստիճանը.

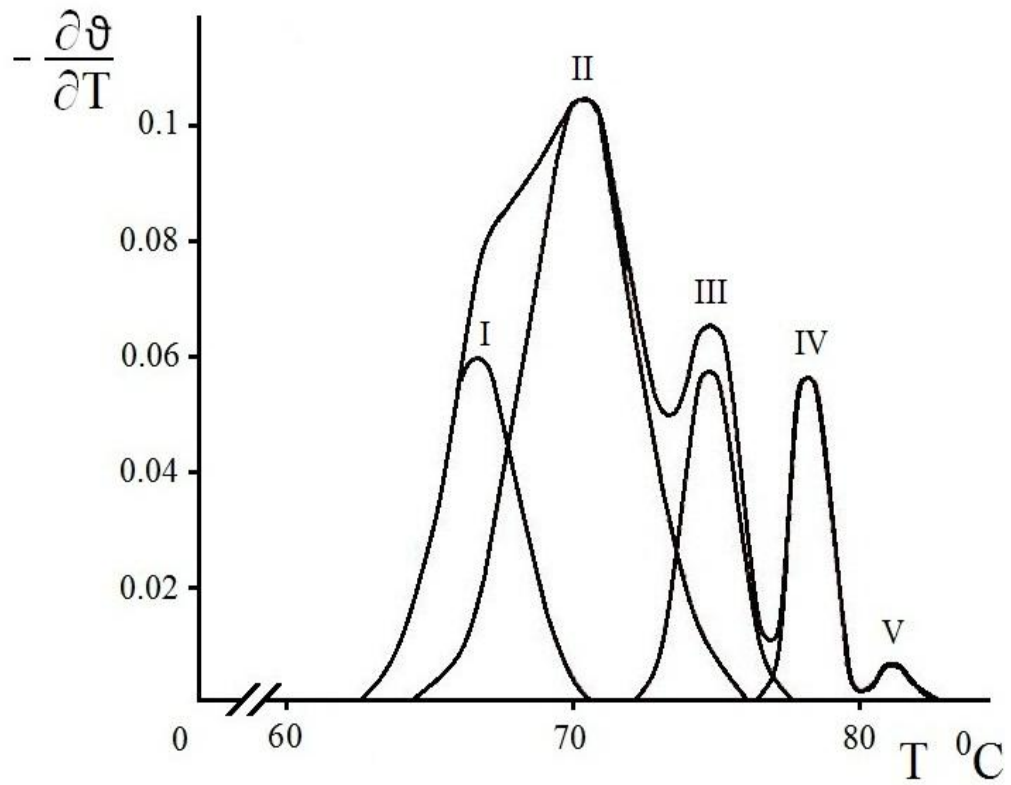
$$\sum_{i=1}^n S_i = 1:$$

Յայտնի է, որ ազոտային հիմքերի քվադրպատահական բաշխումով ԴՆԹ-ի համար ՅԴԿ-ն ունի Գաուսյան ֆունկցիայի տեսք [32, 98]: Նկար 24-ում բերված է հորթի թիմուսից անջատված ԴՆԹ-ի ՅԴԿ-ն և նրա վերլուծությունը 5 Գաուսյան ֆունկցիաների գումարի տեսքով: Յայտնի է, որ յուրաքանչյուր Գաուսյան բաղադրիչ նկարագրում է որոշակի GC- պարունակությամբ տեղամաս, իսկ նրա մաքսիմումին համապատասխանող շերմաստիճանը՝ տվյալ տեղամասի հալման

ջերմաստիճանը: Ուսումնասիրելով յուրաքանչյուր Գաուսյան բաղադրիչի վարքը, կախված միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիայից կարելի է որոշակի եզրահանգումներ կատարել ԴՆԹ-ի AT- և GC-զույգ հիմքերի հետ միտոքսանտրոնի ընտրողական փոխազդեցության վերաբերյալ: Նկար 24-ից երևում է, որ I և II Գաուսյան բաղադրիչները ունեն մեծ վերածածկում, հետևաբար և նրանց յուրաքանչյուրի հալման ջերմաստիճանը որոշվում է բավականին մեծ սխալով: Միաժամանակ, III, IV և V բաղադրիչները իրարից տարանջատվում են և նրանց կարելի է դիտարկել որպես որոշակի GC-պարունակությամբ բլոկներ: Ունենալով յուրաքանչյուր բաղադրիչի  $T_m$  հալման ջերմաստիճանը՝ (3.4) բանաձևով կարելի է որոշել նրամիջին GC-պարունակությունը [54],

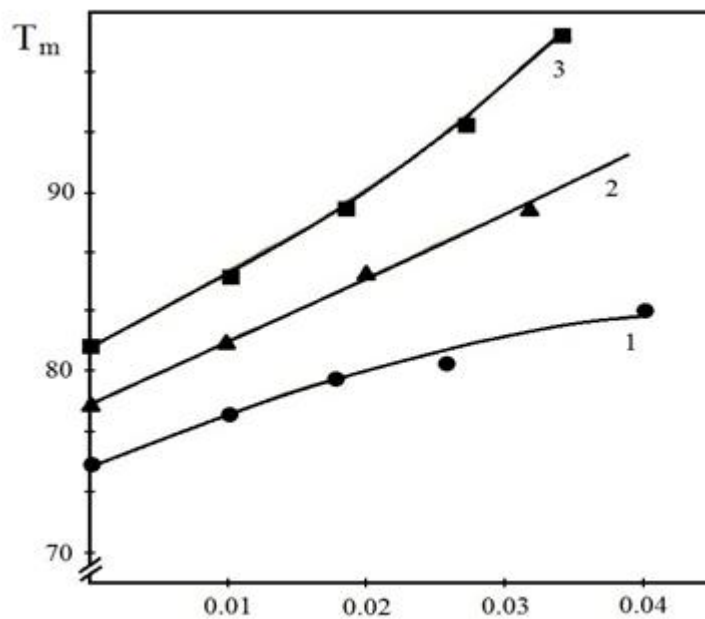
$$T_m = 82.1 + \bar{x}(40 - 14 \lg[Na^+]) + 17.3 \lg[Na^+] \quad 3.4$$

որտեղ  $\bar{x}$  ներկայացնում է  $T_m$  հալման ջերմաստիճան ունեցող տեղամասի միջին GC-պարունակությունը: Գաուսյան յուրաքանչյուր բաղադրիչի համար կառուցվել է  $T_m$ -ի կախումը  $r$ -ից (Նկար 25): Նկար 25-ից հետևում է, որ ԴՆԹ-ի ուսումնասիրված երեք տարբեր GC-պարունակությամբ տեղամասերի համար միտոքսանտրոնի



Նկար 24. Հորթի ու ռցագեղձից անջատված ԴՆԹ-ի հալման դիֆերենցիալ կորը և նրավերլ ու ծուխը ան 5 Գաուսյան բաղադրիչները (բուժեր Ա-ու Մ):

կոնցենտրացիայի աճման հետ միասին աճում է  $T_m$ -ը: Նկար 25-ի արդյունքները ցույց են տալիս, որ  $T_m(r)$  կախումը տարբեր GC-պարունակությամբ տեղամասերի համար տարբեր է. GC-պարունակության աճման հետ աճում է կորի թեքությունը (որքան մեծ է GC-պարունակությունը այնքան մեծ է կորի թեքությունը): Յետևաբար, ԴՆԹ-ի ազոտային գույքերի հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության ժամանակ դիտվում է ընտրողականություն.



Նկար 25. Յալման դիֆերենցիալ կորի երրորդ (1), չորրորդ (2) և հինգերորդ (3) բաղադրիչների հալման ջերմաստիճանների կախումը միտոքսանտրոնի հարաբերական կոնցենտրացիայից:  $r = [\text{լիզանդ}] / [\text{ԴՆԹ}]$

կապման հետևանքով ավելի շատ կայունանում են GC-հիմքերը: Միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիայի աճման հետ աճում է տարբեր GC-պարունակությամբ տեղամասերի ջերմակայունությունների տարբերությունը (Նկար 25, 3 կորը համապատասխանում է ավելի մեծ GC-պարունակությամբ բլոկներին): Այսպիսով, ըստ ստացված արդյունքների, միտոքսանտրոնի խնամակցությունը GC-գույքերի նկատմամբ ավելի մեծ է, քան AT-գույքերի նկատմամբ: Վերը շարադրված փորձարարական արդյունքը խոսում է առաջարկվող քիչ

աշխատատար և քիչ ժամանակ պահանջող ՅԴԿ-ների մեթոդի արդյունավետության մասին: Այդ եղանակով որոշված է լիզանդի (տվյալ դեպքում միտոք-սանտրոնի) խնամակցությունը AT և GC գույգերի նկատմամբ, որը համընկնում է գրականության մեջ գոյություն ունեցող այլ եղանակներով որոշված տվյալների հետ [52,84] և ապացույց է առաջարկվող մեթոդի ճշտության և արդյունավետության:

**3.2.3 ԴՆԹ-ի AT- և GC- գույգ հիմքերի հետ միտոքսանտրոնի ընտրողականության ուսումնասիրությունը կոմպլեքսի կլանման սպեկտրների միջոցով:**

Սովորաբար ԴՆԹ-լիզանդ կոմպլեքսների ջերմակայունության ուսումնասիրությունը կատարվում է ԴՆԹ-ի կլանման տիրույթի որևէ պիքի երկարության (հիմնականում կլանման մաքսիմումին համապատասխանող  $\lambda=260$  նմ) վրա հալման կորի գրանցման միջոցով և որոշվում են բնափոխուման պրոցեսը բնութագրող ջերմադինամիկական պարամետրերը՝ հալման ջերմաստիճանը ( $T_m$ ) և հալման միջակայքը ( $\Delta T$ ): Եթե տվյալ տիրույթում կլանում է նաև լիզանդը, ապա ԴՆԹ-ի հալման պրոցեսում դիտվող սպեկտրալ փոփոխություններին գումարվում է նաև լիզանդի կլանման փոփոխությունները, որը դժվարեցնում է ուսումնասիրել ԴՆԹ-ի բնափոխման պրոցեսը կոմպլեքսի կազմում: Այդ դժվարությունը հաղթահարելու համար նպատակահարմար է կոմպլեքսի հալման պրոցեսին հետևել կլանման ուլտրամանուշակագույն տիրույթում մի քանի պիքի երկարությունների տակ:

ԴՆԹ-ի հալման տիրույթում կլանման սպեկտրի փորձարարական ուսումնասիրություններից և տեսական հաշվարկներից հետևում է, որ ԴՆԹ-ի բնափոխման ժամանակ հիպերքրոմային էֆեկտի մեծությունը ցանկացած պիքի երկարության համար գծային է կախված ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային կազմից: Ենթադրենք, որ AT- և GC- գույգ հիմքերի ներդրումը հիպերքրոմային էֆեկտի մեջ ադիտիվ են և կախված չէ երկշղթա պարույրում նուկլեոտիդների

հաջորդականությամբ ունի: Այստեղից, ԴՆԹ-ի իզոմերիզացիայի կոմպլեքսի կլանման փոփոխությունը կարելի է ներկայացնել հետևյալ տեսքով.

$$\Delta A_{i,j} = \beta_{AT,i} \cdot f_{AT,j} + \beta_{GC,i} \cdot f_{GC,j} \quad 3.5$$

որտեղ  $f_{AT,j}$ -ն և  $f_{GC,j}$ -ն ներկայացնում են բնափոխված AT- և GC- գույգ հիմքերի մասը չջերմաստիճանում,  $\Delta A_{i,j}$ -ն կլանման փոփոխությունն է  $i$  ալիքի երկարության վրա չջերմաստիճանում ( $\Delta A_{i,j} = A_{i,j} - A_{i,0}$ ), որտեղ  $0$ -ինդեքսը համապատասխանում է այն չջերմաստիճանին, որտեղ ԴՆԹ-ն գտնվում է լրիվ պարուրային վիճակում:  $\beta_{AT,i}$  և  $\beta_{GC,i}$  գործակիցները կարելի է ներկայացնել հետևյալ տեսքով.

$$\begin{aligned} \beta_{AT,i} &= c x_{AT} \cdot \Delta \varepsilon_{AT,i} \\ \beta_{GC,i} &= c x_{GC} \cdot \Delta \varepsilon_{GC,i} \end{aligned} \quad 3.6$$

որտեղ  $c$ -ն ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիան է ըստ գույգ նույն կլետիդների,  $x_{AT}$ -ն և  $x_{GC}$ -ն տվյալ ԴՆԹ-ում AT- և GC- գույգ հիմքերի մասն է,  $\Delta \varepsilon_{AT,i}$ -ն և  $\Delta \varepsilon_{GC,i}$ -ն ներկայացնում են բնափոխման հետևանքով կլանման գործակցի փոփոխությունը  $i$ -րդ ալիքի երկարության համար:

Այստեղ առաջարկվում է  $\beta$  գործակիցների որոշման հետևյալ մեթոդը. ԴՆԹ-ի առավելագույն կլանման (լրիվ բնափոխված վիճակում) դեպքում  $f_{GC} = f_{AT} = 1$  կլանման ալիքի ցանկացած երկարության համար: Այդ վիճակում (3.5) հավասարումը կունենա հետևյալ տեսքը.

$$\Delta A_i = c x_{AT} \Delta \varepsilon_{AT,i} + c x_{GC} \Delta \varepsilon_{GC,i} = a \Delta \varepsilon_{AT,i} + b \Delta \varepsilon_{GC,i} \quad 3.7$$

որտեղ  $a = c x_{AT}$  և  $b = c x_{GC}$ :  $a$  և  $b$  պարամետրերի որոշման համար ներկայացնենք  $F$  մեծությունը.

$$F = \sum_{i=1}^n [\Delta A'_i - (a \Delta \varepsilon_{AT,i} + b \Delta \varepsilon_{GC,i})]^2 \quad 3.8$$

որտեղ  $\Delta A'_i$ -ն էլ ընկալված ԴՆԹ-ի կլանման փոփոխության չափն է՝  $i$ -րդ ալիքի երկարության դեպքում: Գտնենք այդ ֆունկցիայի մինիմումը ըստ  $a$  և  $b$  մեծությունների,

$$\frac{\partial F}{\partial a} = 0 \text{ պայմանից}$$

$$a \sum_{i=1}^n \Delta \varepsilon_{AT,i}^2 + b \sum_{i=1}^n \Delta \varepsilon_{AT,i} \Delta \varepsilon_{GC,i} = \sum_{i=1}^n \Delta A'_i \Delta \varepsilon_{AT,i} \quad 3.9$$

$$\text{իսկ } \frac{\partial F}{\partial b} = 0 \text{ պայմանից}$$

$$a \sum_{i=1}^n \Delta \varepsilon_{AT,i} \Delta \varepsilon_{GC,i} + b \sum_{i=1}^n \Delta \varepsilon_{GC,i}^2 = \sum_{i=1}^n \Delta A'_i \Delta \varepsilon_{GC,i} \quad 3.10$$

(3.10)-ը ներկայացնում է գծային հավասարումների համակարգ ըստ  $a$  և  $b$  պարամետրերի: Ունենալով  $\Delta \varepsilon_{AT,i}$ -ի և  $\Delta \varepsilon_{GC,i}$ -ի արժեքները որոշակի թվով ալիքի երկարությունների համար, կարելի է հաշվել  $\beta_{AT,i} = a \Delta \varepsilon_{AT,i}$  և  $\beta_{GC,i} = b \Delta \varepsilon_{GC,i}$  մեծությունները, որոնք տեղադրելով (3.5) հավասարման մեջ, կարելի է հաշվել  $\beta_{AT,j}$  և  $\beta_{GC,j}$  մեծությունների արժեքների կախումը  $T$ -ից, (օրինակ, միտոքսանտրոնի որոշ կոնցենտրացիաների համար): Այդ նպատակով կազմվել է  $Q$  մեծությունը ((3.11) բանաձև) օգտվելով փոքրագույն քառակուսիների մեթոդից.

$$Q = \sum_{i=1}^n [\Delta A'_{i,j} - (f_{AT,j} \beta_{AT,i} + f_{GC,j} \beta_{GC,i})]^2 \quad 3.11$$

որտեղ  $\Delta A'_{i,j}$ -ն ներկայացնում է ԴՆԹ միտոքսանտրոն կոմպլեքսի կլանման փոփոխության չափը (օպտիկական խտությունը) ԴՆԹ-ի հալման տիրույթում,  $j$  ջերմաստիճանում և  $i$  ալիքի երկարության դեպքում:  $Q$ -ի արտահայտությունը մինիմիզացվել է  $f_{AT,j}$  և  $f_{GC,j}$  մեծությունների նկատմամբ: Այս դեպքում յուրաքանչյուր  $j$  ջերմաստիճանի համար կստացվի գծային հավասարումների համակարգ

$$\begin{cases} f_{AT,j} \sum_{i=1}^n \beta_{AT,i}^2 + f_{GC,j} \sum_{i=1}^n \beta_{AT,i} \cdot \beta_{GC,i} = \sum_{i=1}^n \Delta A'_{i,j} \beta_{AT,i} \\ f_{AT,j} \sum_{i=1}^n \beta_{AT,i} \cdot \beta_{GC,i} + f_{GC,j} \sum_{i=1}^n \beta_{GC,i}^2 = \sum_{i=1}^n \Delta A'_{i,j} \beta_{GC,i} \end{cases} \quad 3.12$$

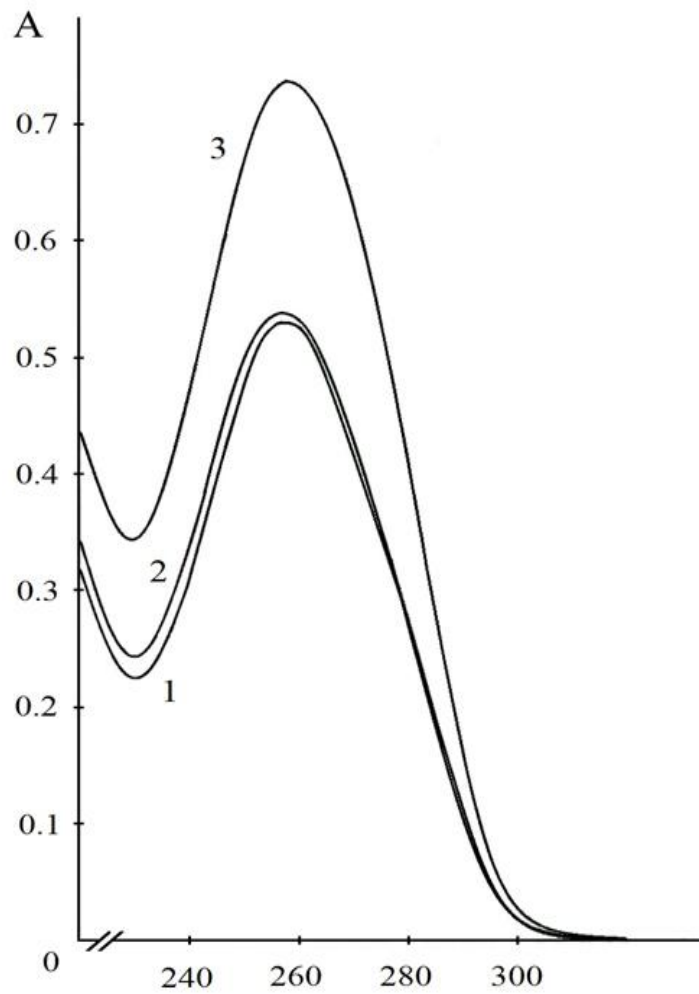
(3.12) հավասարումների համակարգից կարելի է որոշել հավաճած AT- և GC-զույգ հիմքերի մասերը ( $f_{AT}$  և  $f_{GC}$ ) պարունյր-կծիկ անցման տիրույթի ցանկացած շերտմաստիճանում:

Ուսումնասիրվել է ԴՆԹ-ի AT- և GC-զույգ հիմքերի հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության ընտրողականությունը օգտվելով կոմպլեքսի կլանման սպեկտրներից (Նկար 26), որոնք ստացվել են ԴՆԹ-ի բնափոխման տիրույթում միտոքսանտրոնի միջանի հարաբերական կոնցենտրացիաների դեպքում: Կլանման սպեկտրներից (Նկար 26) հաշվել ենք բնափոխված AT- և GC-զույգ հիմքերի մասի կախումը շերտմաստիճանից միտոքսանտրոնի որոշ կոնցենտրացիաների համար:

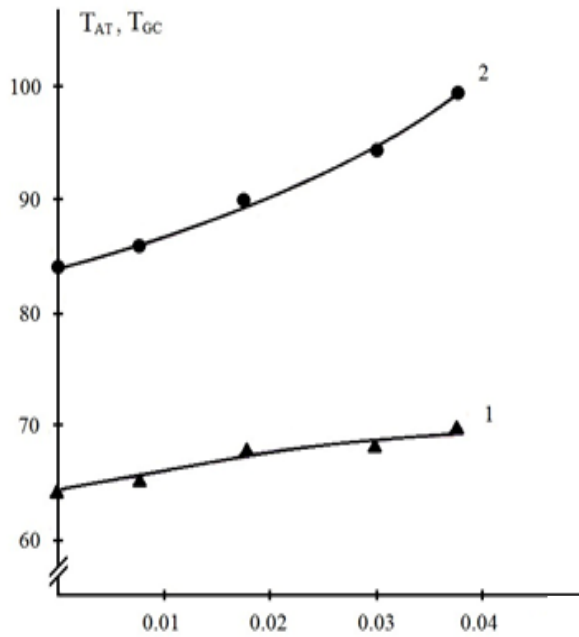
Ինչպես և սպասվում էր, միտոքսանտրոնի բոլոր հետազոտված կոնցենտրացիաների համար, ԴՆԹ-ի հավաճման տիրույթում, բնափոխված AT- զույգ հիմքերի մասը ավելի է, քան բնափոխված GC-ների (  $f_{AT,j} > f_{GC,j}$  ): Որպեսզի պարզաբանենք AT- և GC-զույգ հիմքերի հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության ընտրողականությունը,  $f_{AT}(T)$  և  $f_{GC}(T)$  կախվածություններից որոշվել են  $T_{AT}$  և  $T_{GC}$  հավաճման շերտմաստիճանները (Նկար 27): Նկար 27-ից հետևում է, որ միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիայի աճման հետ մեծանում է AT- և GC-զույգ հիմքերի շերտակայունությունը: Նկար 27-ում բերված կորերը ցույց են տալիս, որ միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիայի մեծացման  $T_{GC}(\text{[L իգանդ.]}) - T_{AT}(\text{[L իգանդ.]})$  հետ տարբերությունը ոչ գծային է աճում, հետևաբար ԴՆԹ-ի հետ միտոքսանտրոնի առկայությամբ GC-հարուստ տեղամասերի շերտակայունությունը մեծանում է ավելի, քան AT-հարուստ տեղամասերինը. դիտվում է ընտրողականություն միտոքսանտրոնի GC նուկլեոտիդային զույգերի հետ փոխազդեցության ժամանակ: Ստացված արդյունքները



համընկնում են նախորդ պարագրաֆում փոխազդեցության ընտրողականում



Նկար 26. ԴՆԹ-ի (1) և ԴՆԹ-միտոքսանտրոն (2) կոմպլեքսի կլանման սպեկտրները, երբ ԴՆԹ-ն գտնվում է երկշղթա պարույր վիճակում ( $25^{\circ}\text{C}$  ջերմաստիճանում) և ԴՆԹ-միտոքսանտրոն (3) կոմպլեքսի կլանման սպեկտրները, երբ ԴՆԹ-ն գտնվում է լրիվ բնափոխված վիճակում ( $95^{\circ}\text{C}$  ջերմաստիճանում): ԴՆԹ-ի և միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիաները համապատասխանաբար հավասար են  $8.1 \cdot 10^{-5}$  մոլ և  $2.4 \cdot 10^{-6}$  մոլ:



Նկար 27. ԴՆԹ-ի AT (1) և GC (2) տեղամասերի հալման ջերմաստիճանի կախումը լիոնոլոգիայի միտոքոնդրիոնի հարաբերական կոմպոզիցիայից:

վերաբերյալ ստացված փորձարարական տվյալների հետ, հետևաբար այս մեթոդը նույնպես մեծ հաջողությամբ կարելի է օգտագործել լիզանդների AT- և GC-գույգերի նկատմամբ ընտրողականության ուսումնասիրման ժամանակ:

### 3.3 B→Z ԱՆՑՄԱՆ ԱՌԱՂԱՅԱՅԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ poly(dG-dC)·poly(dG-dC) ՊԼԻՆՈՒԿԼԵՏԻԴՈՒՄ ՄԻՏՈՔՍԱՆՏՐՈՆԻ ԱՌԿԱՅՈՒԹՅԱՄԲ

Բազմաթիվ in vitro և in vivo փորձերը հայտնաբերել են ձախ պարույրով (Z), խաչաձև, ծռված (ծնկաձև և այլն), ԴՆԹ-ի ոչ կանոնիկ կառուցվածքներ [3,4], որոնց գոյության հայտնագործումը գենոմի ոչ կոդավորող հատվածում մատնանշում է, որ այդպիսի կառուցվածքները կարող են կարևոր դեր ունենալ բջջի կենսագործունեությունը կարգավորող պրոցեսներում: Մյուս կողմից հաստատված է, որ բազմաթիվ կենսաբանական ակտիվ

միացու թյ ու ն ն եր ը ն եր առ յ ալ հակ առ ու ու ց ք այ ի ն դեղ ամի ջ ոց ն եր ը և ան տի բի ո տի կ ն եր ը, իր ակ ան աց ն ու մ ե ն իր ե ն ց թ եր ապ և տի կ ակ տի վ ու թ յ ու ն ը՝ փոխ ազ դե լ ո վ Դ Ն Թ-ի հե տ ի ն տ եր կ ալ յ աց ի այ ի եղ ան ակ ո վ: Բաց ի այ դ, փոր ձ ար ար ակ ան տ վ յ ալ ն եր ը ց ու յ ց ե ն տ ալ ի ս, որ հ այ տ ն ի ի ն տ եր կ ալ յ ա տ ո Ր ն եր Է Բ, ակ տի ն ո մ ի ց ի ն Ծ-ն և ակ ո ս ու մ մի աց ո ղ ն ե տր ո պ ս ի ն ը կ այ ու ն ա ց ն ու մ ե ն Բ Դ Ն Թ-ն և խ ո չ ն դ ո տ ու մ ե ն Բ→Z ան ց ու մ ը:

Հ ամ ա ձ այ ն մ ի ն չ այ ժ մ գ ո յ ու թ յ ու ն ու ն ե ց ո ղ փոր ձ ար ար ակ ան տ վ յ ալ ն եր ի Դ Ն Թ-ի հե տ մ ի տ ո ք ս ան տր ո ն ի փոխ ազ դե ց ու թ յ ան հ ի մ ն ակ ան ձ ն ը ի ն տ եր կ ալ յ աց ի ան է, որ ը տր ամ ա գ ծ ո Ր ե ն տ ար բ եր վ ու մ է Է Բ-ի, ակ տի ն ո մ ի ց ի ն Ծ-ի և մ յ ու ս ն եր ի հ ամ ար հ աս տ ա տ վ ա ձ ի ն տ եր կ ալ յ աց ի այ ի ձ ն եր ի ց [8]. Եր կ շ ղ թ ա Դ Ն Թ-ի հե տ մ ի տ ո ք ս ան տր ո ն ի կ ապ մ ան է ն թ ալ պ ի ան -(5-6) կ կ ալ /մ ո լ է, որ ը փ ո ք ր է դ աս ակ ան ի ն տ եր կ ալ յ ա տ ո Ր ն եր ի հ ամ ար ո Ր ո շ վ ա ձ այ դ մ ե ծ ու թ յ ու ն ի ց: Ա յ ս տի պ ի ի ն տ եր կ ալ յ աց ի ան գր ակ ան ու թ յ ան մ ե ջ ը ն դ ու ն վ ա ձ է ան վ ան ե լ կ ի ս ա ի ն տ եր կ ալ յ աց ի ա [52]: Մ եր կ ո ղ մ ի ց կ ա տ ար վ ա ձ փոր ձ եր ը ն պ ա տ ակ ե ն ու ն ե ց ե լ պ ա տ ա ս խ ան ե լ հե տ ն յ ալ հ ար ց ի ն «կ ի ս ա ի ն տ եր կ ալ յ աց ի ո ն» մ ե խ ան ի գ մ ը ն մ ան է ար դ յ ո ք դ աս ակ ան ի ն տ եր կ ալ յ ա տ ո Ր ն եր Է Բ-ի և մ յ ու ս ն եր ի Z Դ Ն Թ-ի հե տ փոխ ազ դե ց ու թ յ ան մ ե խ ամ ի գ մ ն եր ի ն, հ ար ց, որ ի ն պ ա տ ա ս խ ան ե լ ու հ ամ ար ու ս ու մ ն ա ս ի Ր ե լ ե ն ք 3,1 մ ո լ NaCl-ո վ Z ձ ն ի փ ո խ ակ եր պ վ ա ձ poly(dG-dC) պ ո լ ի մ եր ի հե տ մ ի տ ո ք ս ան տր ո ն ի փոխ ազ դե ց ու թ յ ան առ ան ձ ն ա հ ա տ կ ու թ յ ու ն ն եր ը: Ա յ ս փոխ ազ դե ց ու թ յ ու ն ը հ ար մ ար է ու ս ու մ ն ա ս ի Ր ե լ շ Ր ջ ան այ ի ն դ ի ք Ր ո ի գ մ ի (Ծ Դ) ս ա լ ե կ տր ո ս կ ո պ ի այ ի մ ի ջ ո ց ո վ Դ Ն Թ-ի գ ու յ գ ն ու լ կ ե ո տ ի դ ն եր ի և լ ի գ ան դ ն եր ի տ ար բ եր հ ար ա բ եր ու թ յ ան դ ե ա ք ու մ (r=D/P): Մ ա ք ու Ր poly(dG-dC) պ ո լ ի մ եր ի Ծ Դ ս ա լ ե կ տր ը ու լ տր ամ ան ու շ ակ ա գ ու յ ն տ ի Ր ու յ թ ու մ ու ն ի ց այ տ ու ն ար տ ա հ այ տ վ ա ձ մ ա ք ս ի մ ու մ 275 ն մ-ու մ և բ ա ց ս ակ ան թ ն 250 ն մ ալ ի ք ի եր կ ար ու թ յ ան դ ե ա ք ու մ (Ն կ ար 28 ա կ ո Ր (1)): Ա յ դ մ ա ք ս ի մ ալ և մ ի ն ի մ ալ թ ն եր ը ը ն դ ու ն վ ա ձ է ո Ր պ ե ս Բ Դ Ն Թ-ի այ ց ե ք ար տ [3,7]: Հ ե տ ն ա բ ար Դ Ն Թ-ու մ ց ան կ ա ց ա ձ կ առ ու ց վ ա ձ ք այ ի ն փ ո փ ո խ ու թ յ ան ը կ ար ե լ ի է հե տ ն ե լ այ ս ս ա լ ե կ տր ալ թ ն եր ի ի ն տ ե ն ս ի վ ու թ յ ու ն ն եր ի փ ո փ ո խ ու թ յ ամ բ: Լ ի գ ան դ ի ալ ե լ ա ց ու մ ը պ ու Ր ի ն-պ ի Ր ի մ ի դ ի ն լ ու ծ ու յ թ ի մ ե ջ առ ա ջ է բ եր ու մ 250 ն մ ալ ի ք ի եր կ ար ու թ յ ան տ ա կ բ ա ց ս ակ ան թ ն ու մ ո չ ս ո վ ո Ր ակ ան և

Նկատելի փոփոխության և լիգանդի հագեցնող կոնցենտրացիաների առկայության (r=2,1) այն դառնում է դրական (համեմատիր 1 և 3 կորերը Նկար 28 ա): Նկատվող փոփոխությունները ՇԴ սպեկտրում ցույց են տալիս, որ միտոքսանտրոնը ինտերկալացվում է պրլինուկլեոտիդի պարույրի մեջ, չնայած ինտերկալացիայի պրոցեսը նման է E-F-ի ինտերկալացիայի պրոցեսին [40]:

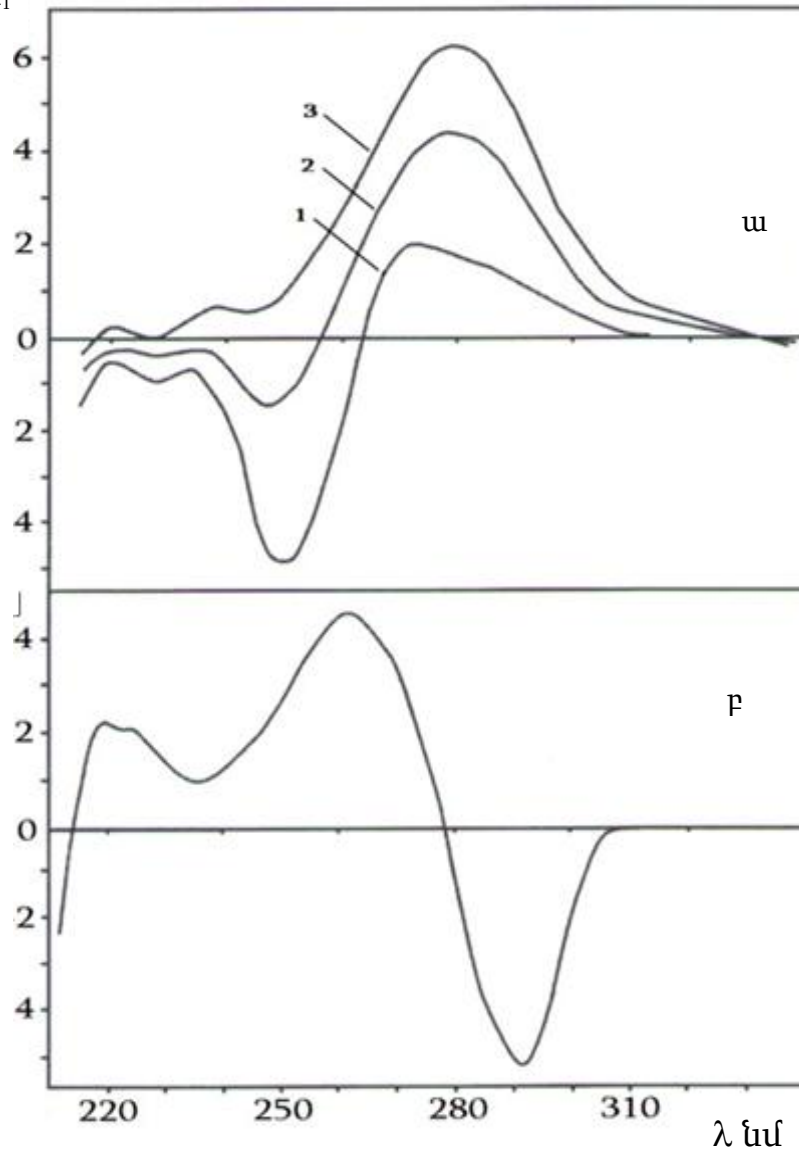
Փորձերը ցույց են տալիս, որ B→Z անցումը ընթանում է բավականին դանդաղ, մոտավորապես 30-40 րոպե [9,11]: B→Z անցման պրոցեսի վրա մեծ ազդեցություն են գործում լուծույթում առկա ցածրամոլեկուլային միացությունները: Մի շարք ցածրամոլեկուլային միացություններ (կանցերոգեններ և կանցերոլիտներ) չեն փոխազդում NaCl-ի մեծ կոնցենտրացիայի միջոցով (~3,1 մոլ) իրականացվող Z-կոնֆորմացիայի հետ և խոչնդոտում են B→Z անցումը: Ցույց էր տրված, որ E-F-ը չի կապվում Z-կոնֆորմացիայում գտնվող ԴՆԹ-ի հետ: Միաժամանակ, լիգանդի մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում E-F-ն փոխազդում է պրլինուկլեոտիդի Z տեղամասերի հետ փոխելով այդ տեղամասերի կառուցվածքը՝ հրահրում է Z→B անցում, որը վկայում է ԴՆԹ և E-F համակարգի էներգիայի միևնույն արժեքը, այսինքն B-կոնֆորմացիան այդ լիգանդի համար նախընտրելի և ջերմադինամիկայի տեսանկյունից շահավետ կառուցվածք է: Քանի որ միտոքսանտրոնը յուրահատուկ բազմաբնույթ լիգանդ է (գուրկ է շաքարի մնացորդից և ունի երկու կողմնային ալիֆատիկ խմբեր) և երկշղթա պարուրային նուկլեինաթթուների հետ փոխազդում է կիսաինտերկալացիոն մեխանիզմով, այնպես որ նրա հարթ քրոմոֆորի մեծ առանցքը ուղղահայաց է նուկլեոտիդային գույգերի մեծ առանցքին [84], հետաքրքիր է պարզաբանել B→Z անցումը միտոքսանտրոնի ներկայությամբ:

Հայտնի է, որ poly(dG-dC)-poly(dG-dC) պրլինոգոֆսիռիբոնուկլեոտիդը լրիվ անցնում է ձախ պարույր Z-կոնֆորմացիայի, եթե միջավայրում NaCl-ի կոնցենտրացիան մեծ է 2,5 մոլից [3,11]: Միաժամանակ, եթե պրլինուկլեոտիդի բոլոր կապող կենտրոնները զբաղված են, (օրինակ, կապված են E-F-ի հետ), ապա լուծույթին NaCl ավելացնելիս չի դիտվում B→Z անցում:

Անտրացիկլինային և իգանդների շարքին պատկանող դառևնոմիցինը ընտրողականորեն միանում է պուրին-պիրիմիդին հաջորդականությամբ հետ, ինչպիսին է poly(dG-dC)-poly(dG-dC) պոլիմերը: Փորձերը ցույց են տվել, որ դառևնոմիցինը ինչպես նաև այլ ինտերկալյատորներ (պրոֆլաքին) և ոչ ինտերկալյատոր նետրոպսինը փոխարկում են ԴՆԹ-ի Z-ձևը B-ձևի: Այս ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ B→Z անցման մեխանիզմները պարզ չեն, առավել ևս ոչ ինտերկալացվող

դիստամիցիկը չի կատեցնում B→Z անցումը, իսկ տարբեր

$\Delta \varepsilon$  մոլ<sup>-1</sup>սմ<sup>-1</sup>



Նկար 28. poly(dG-dC) պոլիմերի կլեոտիդի  $c_p = 5.01 \cdot 10^{-5} \frac{M}{P}$

ծ՛Դ սպեկտրները բուժեր Ա-ում, 25°C ջերմաստիճանում NaCl և միտոքսանտրոնի տարբեր կոնցենտրացիաների դեպքում

ա) 0.1 մոլ NaCl և  $\frac{c_0}{c_p} = 0$  (1), 0.15 (2) և 2 (3)

բ) 3.1 մոլ NaCl միտոքսանտրոնի բոլոր կոնցենտրացիաների դեպքում

ինտերկալյատորների կողմից կատեցնումը կապված է Լիզանդների դիսոցացիայի հետ: Ցույց է տրված նաև, որ ԷԲ-ը ավելի

նախընտրել ի որ են է իրականացնում  $Z \rightarrow B$  անցումը, քան դառնում իցինը: Հետևաբար, պոլիսուկլեոտիդի հետ փոխազդող լիգանդները նույն եղանակով չէ, որ կատեցնում են  $B \rightarrow Z$  անցումը [99]: Փորձերը ցույց են տալիս, որ կապման տեղում ԴՆԹ-ն կարող է ընդունել բազմաթիվ կառուցվածքներ: Անտրացիկլին և ԴՆԹ մոլեկուլները փոխում են իրենց համապատասխան կառուցվածքները այնպես, որպեսզի առաջացնեն ուժեղ կոմպլեքսներ: Բյուրեղագիտական և ՄՄԻ ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ անտրացիկլինային հակաբիոտիկների որոշ օղակներ անհրաժեշտ են ԴՆԹ-ի հետմիանալու ինտերկալյացիայի, ջրածնային կապեր ստեղծելու և վանդերվալսյան փոխազդեցությունների համար: Ճառլիգանդներ վերադասավորվում են այնպես, որպեսզի ԴՆԹ-ի հետմիանալիս հասնեն օպտիմալ խնամակցության:

Անտրացիկլինային խմբին պատկանող միտոքսանտրոնը, որը պարունակում է հարթ քրոմոֆոր (Նկար 14 ա), A և B օղակներով մխրճվում է նուկլեոտիդային զույգերի մեջ այնպես, որ նրամեծ առանցքը լինում է ուղղահայաց զույգերի մեծ առանցքին և միջմոլեկուլային ջրածնային կապեր են ստեղծում իր կողմնային խմբերի միջոցով իրեն հարևան նուկլեոտիդային զույգերի հետ, որը խոսում է միտոքսանտրոնի մասամբ ինտերկալյացիայի մասին: G-C զույգերի հետ փոխազդեցությունը միտոքսանտրոնի դեպքում առանձնահատուկ է և վիճահարույց: Հաշվի առնելով միտոքսանտրոնի  $\text{poly(dG-dC)}$  պոլիմերի հետ փոխազդելու առանձնահատկությունները և այն, որ պուրին-պիրիմիդին կառուցվածքների հետ փոխազդող ոչ բոլոր լիգանդներն են կատեցնում  $B \rightarrow Z$  փուլային անցումը, մեր կողմից ուսումնասիրվել է միտոքսանտրոնի դերը ԴՆԹ-ի  $B \rightarrow Z$  անցման պրոցեսում, երբ  $\text{poly(dG-dC)} \cdot \text{poly(dG-dC)}$  պոլիսուկլեոտիդը գտնվում է Z-կոնֆորմացիաներում (3.1 մոլ NaCl-ի առկայությամբ): Նկար 28-ում պատկերված են  $\text{poly(dG-dC)} \cdot \text{poly(dG-dC)}$  պոլիսուկլեոտիդի շրջանային դիքրոիզմի սպեկտրները բուժեր Ա-ում (որտեղ պոլիսուկլեոտիդը գտնվում է B-կոնֆորմացիայում) և, երբ բուժերային լուծույթի վրա ավելացվում է 3 մոլ NaCl, պոլիսուկլեոտիդը անցնում է Z-կոնֆորմացիայի, միտոքսանտրոնի առկայությամբ: Ինչպես հետևում

Ե Նկար 28 ա-ից, երբ poly(dG-dC)·poly(dG-dC)-ն գտնվում է B-կոնֆորմացիայում, միտոքսանտրոնի ավելացումը բերում է ՇԴ սպեկտրների փոփոխության: Երբ poly(dG-dC)·poly(dG-dC) պրլինուկլեոտիդը գտնվում է Z-կոնֆորմացիայում, ապա միտոքսանտրոնի ավելացումը ՇԴ-ի սպեկտրները չի փոխում (Նկար 28 բ):

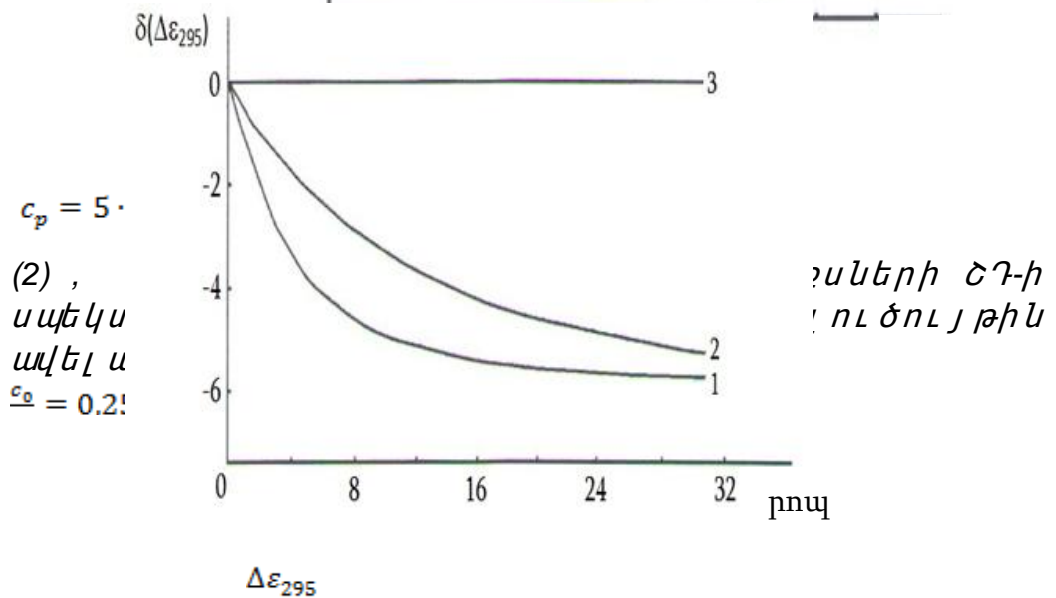
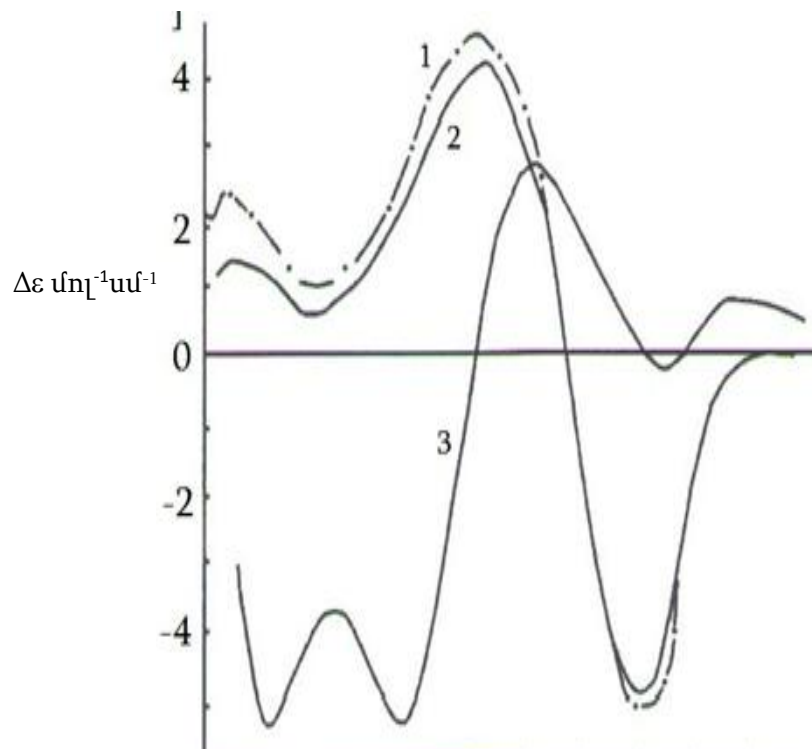
Որպեսզի պարզաբանենք փոխազդեցության ժամանակ դիտվող կրիտիկական երևույթները (նշենք, որ B→Z անցումը կատարվում է դանդաղ, մոտ 30 րոպեի ընթացքում), կոմպլեքսի ՇԴ սպեկտրները գրանցվել են ժամը մեկ օրվա ընթացքում: Փորձերը ցույց են տալիս, որ նույնիսկ 24 ժամ հետո (միտոքսանտրոնի ավելացնելուց հետո) ՇԴ սպեկտրներում նկատելի փոփոխություններ չեն դիտվում: Ի տարբերություն այս փորձարարական տվյալների ցույց է տրված, եթե ԷԲ-ի կոնցենտրացիան բավարար է բոլոր կապող կենտրոնները զբաղեցնելու համար, ապա դիտվում է Z կոնֆորմացիայի փոխարկում B կոնֆորմացիայի (կոոպերատիվ B→Z անցում, որի հետևանքով կոմպլեքսի ՇԴ սպեկտրները կրում են նկատելի փոփոխություն) [100]: Ինչպես հետևում է Նկար 28 բ-ից, անկախ միջավայրում միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիայից, poly(dG-dC)·poly(dG-dC) պրլինուկլեոտիդը 3.1 մոլ NaCl-ում գտնվում է Z-կոնֆորմացիայում:

Քանի որ միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը Z-ԴԼԹ-ի հետ է ապես տարբերվում է դասական ինտերկալյատորների փոխազդեցության դեպքում դիտվող օրինաչափություններից, ուսումնասիրվել է միտոքսանտրոնի ազդեցությունը B↔Z հավասարակշռության վրա: Ուսումնասիրվել է B→Z անցումը poly(dG-dC)·poly(dG-dC) պրլինուկլեոտիդում միտոքսանտրոնի առկայությամբ: Նկար 29-ում պատկերված են կոմպլեքսի ՇԴ սպեկտրները լուծույթին միտոքսանտրոն ավելացնելիս 40 րոպե հետո (միտոքսանտրոնի կոնցենտրացիան մոտ է հագեցման կոնցենտրացիային), ավելացվում է 3 մոլ NaCl: Համեմատության համար բերված են նաև poly(dG-dC)·poly(dG-dC)·ԷԲ կոմպլեքսների և մաքուր poly(dG-dC)·poly(dG-dC)-ի համակարգերի համար փոխակերպման սպեկտրը: ԷԲ մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում 3 M NaCl ավելացնելիս B→Z անցում չի դիտվում [100]: B→Z



անցումը բնութագրվում է  $\lambda=295$  նմ ալիքի երկարության տակ  
ժամանակից կախված դիֆրոիկ կլանման ( $\Delta\varepsilon_{295}$ ) փոփոխության մբ ( $\delta(\Delta\varepsilon_{295})$ )  
(Նկար 29):

Նկար 29-ից հետևում է, որ էԲ ներկայ ությամբ ժամանակից կախված  $\delta(\Delta\varepsilon_{295})$  մեծությունը չնչին է փոփոխվում (Նկար 29-ից 3-րդ կորը): Երբ  $\frac{c_o}{c_p} = 0.25$ , միտոքսանտրոնի ներկայ ությամբ NaCl ալելացնելիս B→Z անցում տեղի ունի, սակայն միտոքսանտրոնի



էԲ (3)

(2),

կապման հետևանքով B→Z անցումը որոշ չափով դանդաղում է: Լուծույթին 3 մոլ NaCl ավելացնելիս, 40 րոպե հետո ՇԴ սպեկտրների արժեքները քիչ են տարբերվում մաքուր poly(dG-dC)·poly(dG-dC)-ի Z-սարույրի համապատասխան մեծություններից (Նկար 29, կոր 1): Փորձերը ցույց են տալիս, որ NaCl ավելացնելուց 1 ժամ հետո ՇԴ սպեկտրները մաքուր poly(dG-dC)·poly(dG-dC)-ի (Նկար 29, կոր 1) և poly(dG-dC)·poly(dG-dC) միտոքսանտրոն (Նկար 29, կոր 2) կոմպլեքսի համար ընդհանրապես չեն տարբերվում իրարից: Համեմատենք B→Z անցման արագությունը միտոքսանտրոնի առկայությամբ և առանց միտոքսանտրոնի: Ինչպես հետևում է Նկար 30-ից, B→Z անցման արագությունը ավելի մեծ է մաքուր պուլիսուկլեոտիդի համար: Միտոքսանտրոնի առկայությունը դանդաղեցնում է B→Z անցման պրոցեսը, սակայն չի արգելակում և մոտավորապես 1 ժամ հետո կինետիկական կորերը համարյա համընկնում են [101]: Հետևաբար, ընդհանրացնելով միտոքսանտրոնի ներկայությամբ B→Z անցման փորձարարական արդյունքները, կարելի է պնդել, որ միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը ԴՆԹ-ի հետ է ապես տարբերվում է դասական ինտերկալյատորների (օրինակ՝ EF) փոխազդեցությունից: Նրա առանձնահատուկ կառուցվածքը (չի պարունակում շաքարի մնացորդներ և ունի ազոտային կողմնային սիմետրիկ գոյգ խմբեր) հանգեցնում է նրան, որ այն մխրճվում է հարևան գոյգ նուկլեոտիդների հարթությունների մեջ՝ վերջիններիս մեծ առանցքին ուղղահայաց և, տեղավորվելով փոքր ակոսում կողմնային խմբերի հետ կապվելով ջրածնային կապերով հարմարեցնում է իր կապման տեղը այնպես, որ ամուր կոմպլեքս է ստեղծում Z-ձևում գտնվող նուկլեոտիդային խմբերի հետ, դրանով իսկ ապահովելով մեծ խամակցություն Z-ձևի հետ:

**3.4 ԷԹԻԴՈՒՄ ԲՐՈՍԻԴԻ ՓՈՒԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍԻՆԹԵՏԻԿ ՊԼԻՈՒԲՈՆՈՒԿԼԵՆՏԻԴՆԵՐԻ ԵՐԿՇՂՈԱ ՊԱՐՈՒՅՐԻ ՀԵՏ**

Պուլիսուկլեոտիդների հետ EF-ի կոմպլեքսագոյացման հետևանքով փոխվում են մասնավորապես համակարգի օպտիկական և ջերմադինամիկական հատկությունները (տես Գլուխ 1), որոնք

արտացոլվել են մեր կողմից կատարված փորձարարական աշխատանքներում: Ստորև բերված են այդ հետազոտությունների արդյունքները և նրանց հիման վրա կատարած եզրակացությունները:

**3.4.1 Էթիդիում բրոմիդի փոխազդեցությունը սինթետիկ երկշղթա poly(A)·poly(U) պոլիռիբոնուկլեոտիդի հետ**

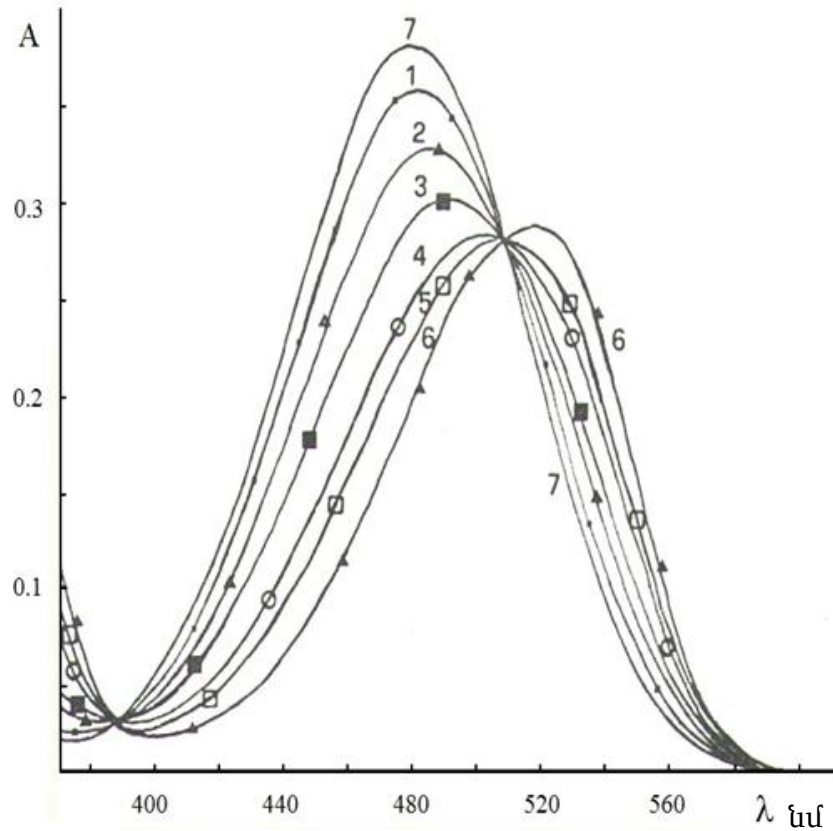
Այստեղ շարադրված են մեր կողմից կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքները, որոնք վերաբերում են էթիդիում բրոմիդի փոխազդեցությանը poly(A)·poly(U) պոլիռիբոնուկլեոտիդի հետ:

Նկար 31-ում բերված են ալիքի տեսանելի տիրույթում էթիդիում բրոմիդի և poly(A)·poly(U) կոմպլեքսների էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները (ԷԲ-ի հաստատուն կոնցենտրացիայի դեպքում): Քանի որ նուկլեոտիդները տեսանելի տիրույթում չեն կլանում, հետևաբար, կլանման սպեկտրների նկատելի փոփոխությունը պայմանավորված է միայն ԷԲ-ի և poly(A)·poly(U)-ի փոխազդեցությամբ: Նկար 31-ից հետևում է, որ ԷԲ-ի հաստատուն կոնցենտրացիայի դեպքում poly(A)·poly(U)-ի կոնցենտրացիայի աճման հետ դիտվում է կլանման մաքսիմումին համապատասխանող ալիքի երկարության տակ (480նմ) համակարգի օպտիկական խտության նվազում (հիպոքրոմ Էֆեկտ) և կլանման մաքսիմումին համապատասխանող ալիքի երկարության տեղաշարժ դեպի երկար ալիքների տիրույթ (կարմիր շեղում): Բացի այդ, տվյալ արտաքին պայմաններում ( $\mu = 0.11$ մոլ իոնական ուժ և  $pH=7.4$ ) դիտվում են երկու իզոբեստիկ կետեր 508 նմ և 388 նմ ալիքի երկարությունների դեպքում, որոնք մնում են անփոփոխ poly(A)·poly(U)-ի կոնցենտրացիայի հետագա աճման ընթացքում (Նկար 31): Չետևաբար, ուսումնասիրվող արտաքին պայմաններում սպեկտրոֆոտոմետրայի մեթոդով կարելի է զանազանել միայն մեկ տիպի poly(A)·poly(U)-ԷԲ կապված վիճակ [102]: Չափի առնելով գրականության մեջ գոյություն ունեցող տվյալները նուկլեոտիդների հետ ԷԲ-ի հնարավոր փոխազդեցությունների ձևերի վերաբերյալ [102,103] և, դրանք համեմատելով մեր տվյալների հետ, կարելի է ենթադրել, որ նշված արտաքին պայմաններում ԷԲ-ը poly(A)·poly(U)-ի հետ փոխազդում է

ինտերկալացիայի մեխանիզմով: Քանի որ նույլ եինաթթուների հետ կապված լիզանդները կարող են նաև փոխազդել իրար հետ, ապա նկար 32-ում բերված կապման իզոթերմերը նկարագրվել են նաև (3.13) բանաձևով, որտեղ լիզանդների փոխազդեցությունը հաշվի է առնվել ներմուծելով  $\omega$ -կոոպերատիվության պարամետրը [105].

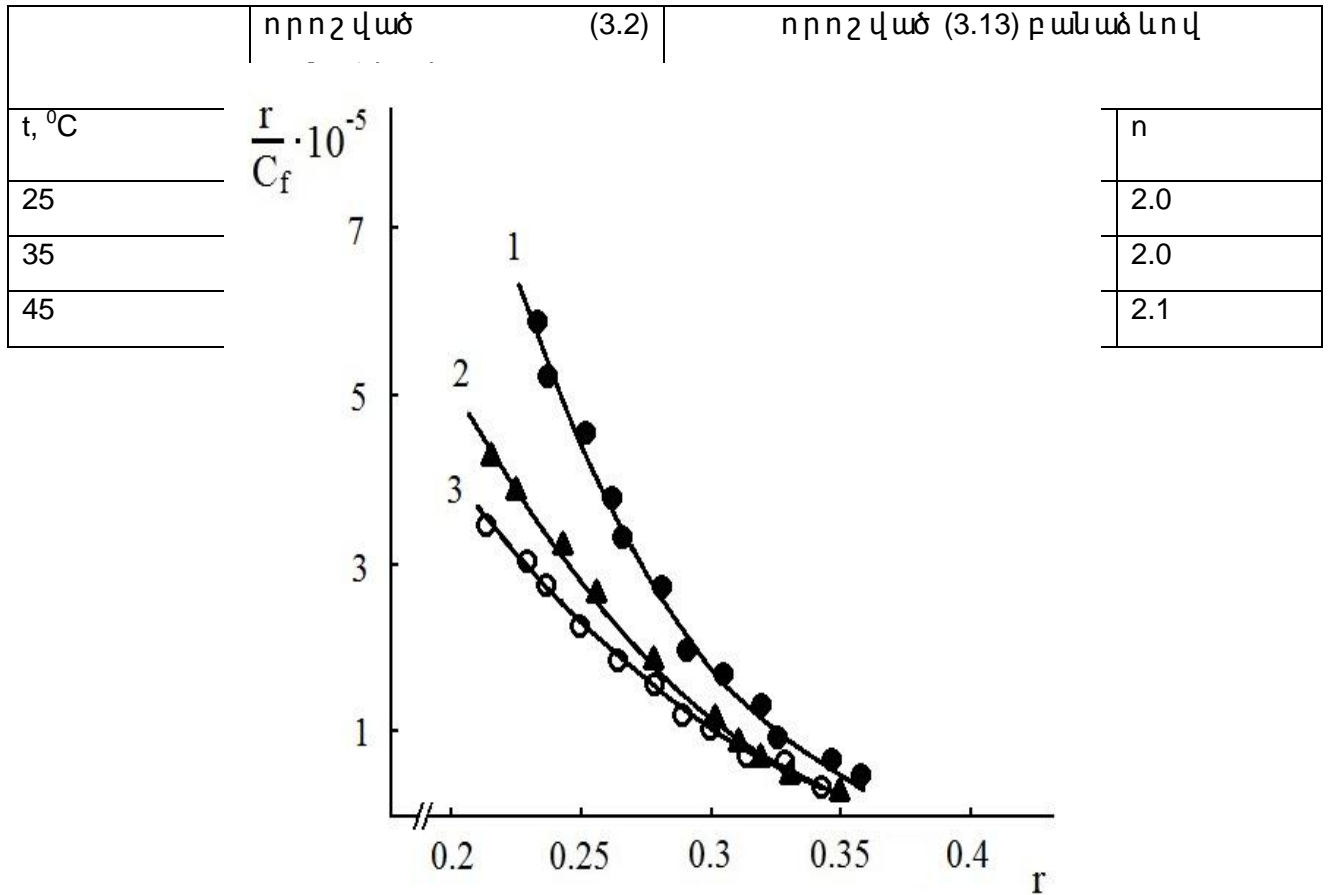
$$\frac{r}{c_f} = K(1 - nr) \left[ \frac{(2\omega - 1)(1 - nr) + r - R}{2(\omega - 1)(1 - nr)} \right]^{n-1} \cdot \left[ \frac{1 - (n + 1)r + R}{2(1 - nr)} \right]^2 \quad 3.13$$

որտեղ  $R = \{[1 - (n + 1)r]^2 + 4\omega r(1 - nr)\}^{\frac{1}{2}}$ : (3.13) բանաձևով նկարագրված կապման իզոթերմերմից որոշվել են  $K$ ,  $n$  և  $\omega$  շերմադինամիկական պարամետրերի արժեքները (Աղյուսակ 3): Աղյուսակից հետևում է, որ կապման իզոթերմերը (3.2) և (3.13) բանաձևերով նկարագրելիս էՖ  $\text{poly}(A) \cdot \text{poly}(U)$  կոմպլեքսների հագեցման ստեխիոմետրիայի համար ստացվում է միևնույն  $n \approx 2$  արժեքը:  $n$ -ի ստացված արժեքը համընկնում է օլիգոմերի նույլ եինաթթուների և ՌԼԹ-ի հետևում արտաքին պայմաններում էՖ-ի կապման համար ստացված գրականության մեջ գոյություն ունեցող տվյալների հետ [94-96]: Միաժամանակ, Աղյուսակ 3-ից հետևում է, որ (3.2) և (3.13) բանաձևերով որոշված, կապման հաստատունի արժեքները փորձի սխալի սահմաններում նույնպես համընկնում են:



Նկար 31. Տեսանելի տիրույթում poly(A)·poly(U)-ի հետ E<sub>F</sub>-ի փոխազդեցության հետևանքով կլանման սպեկտրների փոփոխության վարքը: Տիրացիայի ընթացքում E<sub>F</sub>-ի կոնցենտրացիան մնում է հաստատուն ( $c_0=1.4 \cdot 10^{-4}$  մոլ): poly(A)·poly(U)-ի կոնցենտրացիաները համապատասխանաբար հավասար են  $7.5 \cdot 10^{-5}$  մոլ (1),  $2.1 \cdot 10^{-4}$  մոլ (2),  $3.3 \cdot 10^{-4}$  մոլ (3),  $5 \cdot 10^{-4}$  մոլ (4),  $6 \cdot 10^{-4}$  մոլ (5) և  $1 \cdot 10^{-3}$  մոլ (6), մաքուր E<sub>F</sub>-ի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը (7):  $\mu=0.11$  մոլ NaCl,  $t=25^\circ\text{C}$ .

Որոշված (3.2) և (3.3) բանաձևերով poly(A).poly(U)- էՖ-կոմպլեքսների համար երեք տարբեր ջերմաստիճաններում 0.11 մոլ NaCl իոնական ուժի դեպքում կապման հաստատունի (K), անտիկոդպերատիվության պարամետրերի ( $\omega$ ) և հազեցման ստեխիոմետրիայի (n) արժեքները:



Նկար 32. Կլասսաս սպեկտրսերից (Նկար 31) կառուցված կապման իզոթերմերը poly(A).poly(U)- էՖ-կոմպլեքսների համար երեք տարբեր ջերմաստիճաններում. 25°C (1), 35°C (2) և 45°C (3):

Տիրացիայի պրոցեսում էՖ-ի կոնցենտրացիան մնում է հաստատուն ( $c_0=1.4 \cdot 10^{-4}$  մոլ):

Չետևաբար, եթե անհրաժեշտ է որոշել K և n պարամետրերի արժեքները, ապա կարելի է սահմանափակվել ավելի պարզ (3.2) բանաձևով: Չայտնի է, որ կապման հաստատունի մեծությունը ԴԼԹ-էՖ կոմպլեքսի համար կախված է միջավայրի իոնական ուժից [75,94,95]: Միջավայրի իոնական ուժի մեծացման հետ փոքրանում է կապման հաստատունի մեծությունը: Ուսումնասիրվել է էՖ-ի

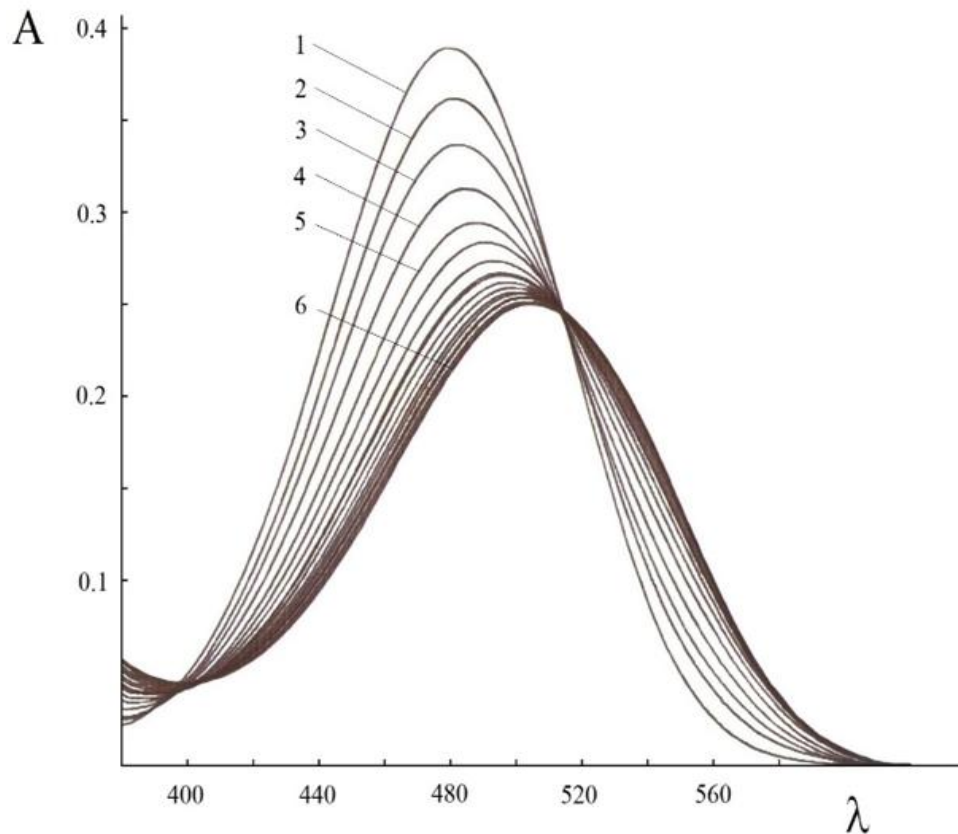
փոխազդեցությունը poly(A).poly(U)-ի հետ 0.33 մոլ NaCl և 0.55 մոլ NaCl իոնական ուժերի դեպքում: Ինչպես հետևում է փորձարարական տվյալներից, իոնական ուժի մեծացման հետ փոքրանում է կապման հաստատունի արժեքը, անփոփոխ ուժի դեպքում: Յետևաբար, ըստ էության E-ի ինտերկալացիոն փոխազդեցությունը A-կոնֆորմացիայի պոլիռիբոնուկլեոտիդի հետ որակապես չի տարբերվում B-կոնֆորմացիայի դեզօքսիռիբոնուկլեոտիդի հետ փոխազդեցությունից: Չափարկները ցույց են տվել, որ 0.33 մոլ NaCl-ի իոնական ուժի դեպքում  $K=(5.8\pm 0.2)\cdot 10^5$  մոլ<sup>-1</sup> իսկ 0.55 մոլ<sup>-1</sup> NaCl դեպքում  $K=(6.2\pm 0.3)\cdot 10^4$  մոլ<sup>-1</sup>, 25°C ջերմաստիճանում: Նկատենք, որ K-ի համար ստացված արժեքները համապատասխանաբար երկու և մեկ կարգով փոքր են, 0.11 մոլ NaCl իոնական ուժի դեպքում ստացված կապման հաստատունի արժեքից:

**3.4.2 E-ի փոխազդեցությունը սինթետիկ երկշղթա poly(G).poly(C) պոլիռիբոնուկլեոտիդի հետ** E-ի փոխազդեցությունը poly(G).poly(C) պոլիռիբոնուկլեինաթթվի հետ ուսումնասիրվել է սպեկտրի տեսանելի տիրույթում ( $\lambda=250\div 600$ նմ),  $\mu=0.11$  մոլ NaCl իոնական ուժի դեպքում, E-ի հաստատուն կոնցենտրացիայի պայմաններում: poly(G).poly(C)-ի կոնցենտրացիայի աճման հետ դիտվում է կլանման մաքսիմումին համապատասխանող ալիքի երկարության շեղում երկարալիքների կողմը (կարմիր շեղում) և օպտիկական խտությունը նվազում է (Նկար 33): Բերված տվյալներից երևում է, որ poly(G).poly(C)-ի հետ E-ի կապման ժամանակ կլանման սպեկտրներում դիտվում են նույն օրինաչափությունները, ինչ որ նկատվել էր poly(A).poly(U)- E-ի կոմպլեքսացման դեպքում (համեմատիր Նկար 33-ի և Նկար 31-ի կլանման սպեկտրները): Նկարներ 33-ի և 31-ի տվյալների համեմատումը ցույց է տալիս, որ նշված փոփոխությունները poly(G).poly(C) պոլիռիբոնուկլեոտիդների հետ շատ ավելի թույլ են, քան poly(A).poly(U)- E-ի փոխազդեցության դեպքում:



Բացի այդ, եթե poly(A).poly(U)-ԷԲ կոմպլեքսագոյացման դեպքում, երբ poly(A).poly(U)-ի կոնցենտրացիան մոտմեկ կարգով գերազանցում է ԷԲ-ի կոնցենտրացիայից, դիտվում էր փոխազդեցության հագեցում (լուծույթում ԷԲ-ի բոլոր մոլեկուլները գտնվում են կապված վիճակում): Սակայն, երբ poly(G).poly(C)-ի կոնցենտրացիան մոտերկու կարգով է գերազանցում ԷԲ-ի կոնցենտրացիան, փոխազդեցության հագեցում չի դիտվում (Նկար 34): Լուծույթում poly(G).poly(C)-ի կոնցենտրացիայի աճման հետ դիտվում է  $A_{480}$  օպտիկական խտության մոնոտոն նվազում: Միաժամանակ, եթե poly(A).poly(U)-ի հետ կոմպլեքսագոյացման ժամանակ օպտիկական խտության փոփոխությունը համարյա դադարում է, երբ  $\frac{c_p}{c_0} \cong 10$ , ապա poly(G).poly(C)-

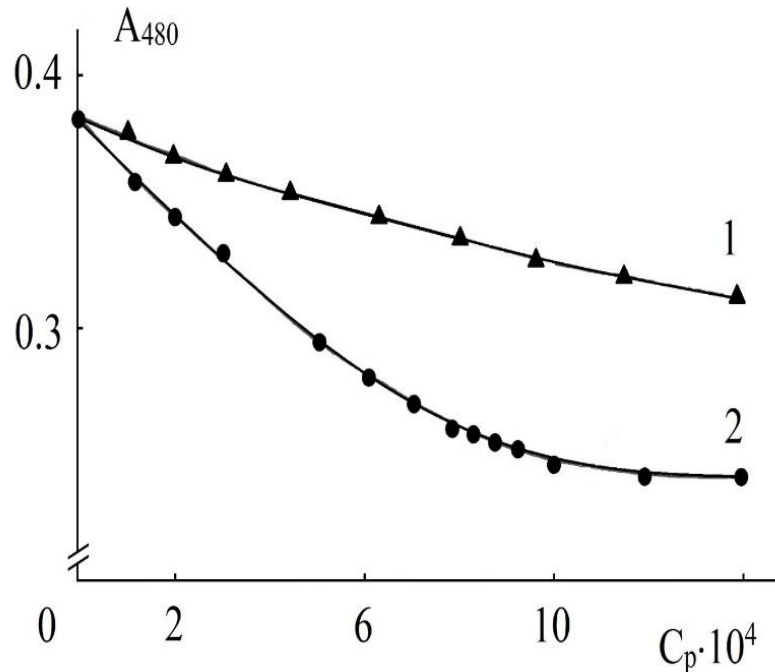
ԷԲ կոմպլեքսագոյացման ընթացքում հագեցում չի նկատվում (համեմատիր կորերը): Յետևաբար, եթե փորձնականորեն անհնար է ստանալ լիգանդի լրիվ կապված վիճակի ֆիզիկական բնութագրերը (այս դեպքում՝ օպտիկական խտությունը),  $A_b$  մեծությունը որոշվում է որոշակի սխալով և կապման իզոթերմից ստացված  $K$  և  $n$  պարամետրերի արժեքների մեծությունները ստացվում են նկատելի սխալներով: Գծային էքստրապոլացիայի միջոցով որոշված  $A_b$ -ի արժեքը տեղադրելով



Նկար 33. Տեսանելի տիրույթում էԲ-ի կլանման սպեկտրների փոփոխության վարքը poly(G)-poly(C) պոլիռիբոնուկլեինաթթվի հետ փոխազդեցության հետևանքով: Տիրացրած ընթացքում էԲ կոնցենտրացիան մնում է հաստատուն ( $c_0=6.5 \cdot 10^{-5}$  մոլ): poly(G)-poly(C)-ի կոնցենտրացիաները լուծույթում համապատասխանաբար հավասար են.  $c_p = 2 \cdot 10^{-5}$  մոլ (2),  $4 \cdot 10^{-5}$  մոլ (3),  $6 \cdot 10^{-5}$  մոլ (4),  $7.9 \cdot 10^{-5}$  մոլ (5) և  $3.2 \cdot 10^{-4}$  մոլ (6): Մաքուր էթիդիոլ մբրոմիդի կլանման սպեկտրը (1):  $\mu=0.11$  մոլ, NaCl.  $t=25^\circ\text{C}$ .

(3.1) բանաձևում, կարելի է կառուցել կապման իզոթերմը Սկետչ արդի կոորդինատներով ( $\frac{r}{c_f}$ -ի կախումը r-ից) և այն նկարագրել (3.2) կամ (3.13)

բանաձևերի միջոցով: Սակայն, հաշվումները ցույց են տալիս, որ եթե լիզանդի փոխազդեցությունը կենսապոլիմերի հետ թույլ է (այդպիսին է poly(G).poly(C)-EF-ի փոխազդեցությունը), ապա կապման



Նկար 34. 480 նմ ալիքի երկարության տակ EF-ի կլանման փոփոխության վարքը poly(G).poly(C) (1) և poly(A).poly(U) (2) պոլիռիբոնուկլեոտիդների հետ կոմպլեքսացման պրոցեսի ընթացքում ( $\mu=0.11$  մոլ NaCl  $t=25^\circ\text{C}$ ):  $c_p$ -ն պոլիռիբոնուկլեինաթթվի կոնցենտրացիան է, որի մեծացումը բերում է երկշղթա poly(A)poly(U) կոմպլեքսի հազեցմանը (2), իսկ poly(G).poly(C)-ի դեպքում հազեցում չի ունենում (1):

ջերմադինամիկական պարամետրերը որոշվում են մեծ սխալով (ավելի քան 30%)  $A_b$  մեծության որոշման մեծ սխալի պատճառով: Այդ պարամետրերի որոշման ճշգրտությունը մեծացնելու համար անհրաժեշտ է օգտվել այնպիսի արտահայտություններից, որտեղ չի մտնում  $A_b$  մեծությունը: Պարզվում է, որ թույլ փոխազդեցությունների դեպքում կապման հաստատունի արժեքի

ավելի ճիշտ որոշման համար կարելի է օգտվել մեթոդից, որը չի պարունակում  $A_0$  մեծությունը:

Լիգանդի փոքր լցումների դեպքում (երբ պոլիմերի կոնցենտրացիան շատ անգամ գերազանցում է լիգանդի կոնցենտրացիայից, այսինքն  $r$ -ի շատ փոքր արժեքների դեպքում)  $\text{poly(G)}.\text{poly(C)}$ -ի հետ կապված  $E^F$ -ի մոլեկուլների միջև փոխազդեցությունը կարելի է անտեսել և կապման պրոցեսը ուսումնասիրելիս (3.13) բանաձևում ընդունել  $\omega=1$  (այսինքն, հաշվի չառնել  $E^F$ -ի մոլեկուլների փոխազդեցության անտիկոորդինատիվությունը): Այս դեպքում (3.13) հավասարումը կփոխարկվի (3.2) հավասարման: Պարզեցնելով (3.2) հավասարումը և ընդունելով, որ փոքր լցումների դեպքում  $nr \ll 1$ , կունենանք

$$\frac{r}{c_f} \approx K \quad \text{կամ} \quad \frac{c_b}{c_f c_p} \approx K \quad 3.14$$

Կոմպլեքսագոյացման հետևանքով լուծույթի օպտիկական խտության հարաբերական փոփոխությունը՝  $\frac{A_0}{A}$ , կարելի է ներկայացնել.

$$\frac{A_0}{A} = \frac{c_f}{c_0} + B \frac{c_b}{c_0} = \frac{c_0 - c_b}{c_0} + B \frac{c_b}{c_0} \quad 3.15$$

որտեղ  $A_0$ -ն ազատ լիգանդի կլանման մեծությունն է,  $A$ -ն լիգանդ-պոլիմեր կոմպլեքսի կլանման մեծությունը,  $B$ -ն ներկայացնում է ազատ և կապված լիգանդների օպտիկական խտությունների հարաբերությունը սպեկտրի տեսանելի տիրույթում լիգանդի կլանման մաքսիմումին համապատասխանող ալիքի երկարության տակ ( $E^F$ -ի դեպքում  $\lambda=480$  նմ): Ձևափոխելով ստացված հավասարումը, հաշվի առնելով (3.14)-ը կստանանք

$$\frac{A}{A_0 - A} \approx \frac{1}{B - 1} + \frac{1}{K(B - 1)} \cdot \frac{1}{c_p} \quad 3.16$$

(3.16) հավասարումից հետևում է, որ  $\frac{A}{A_0 - A}$  կախումը  $\frac{1}{c_p}$ -ից գծային է և

որտեղից կարելի է հաշվել  $B$  և  $K$  մեծությունների արժեքները:

Հաշվի առնելով ստացված արդյունքը և Նկար 33-ում բերված կլանման սպեկտրները, կարելի է կառուցել  $\frac{A}{A_0 - A}$ -ի կախումը  $\frac{1}{c_p}$ -ից և փոքր լցումների դեպքում և որոշել  $K$ -ի արժեքը ցանկացած լիգանդի

և ՆԹ-ի միջև: Այս մեթոդով որոշված ջերմադինամիկական պարամետրերի արժեքները երկշղթա poly(G).poly(C), poly(A).poly(U) և poly(G)<sub>4</sub> քվարտուլյեքսի համար բերված են Աղյուսակ 4-ում: Ինչպես հետևում է Աղյուսակ 4-ից, (3.16) բանաձևով որոշված կապման հաստատունի արժեքը համընկնում է (3.2) կամ (3.13) բանաձևերով որոշված արժեքի հետ: K-ի որոշման սխալը չի գերազանցում 10%-ը: Թույլ փոխազդեցության դեպքում, մասնավորապես, poly(G).poly(C)-ի հետ EԲ-ի կապման K-ի արժեքը որոշվում է ավելի մեծ ճշտությամբ (Աղյուսակ 4): Նշենք, որ կապման հաստատունի արժեքի որոշումը Սկետչարդի եղանակով ((3.2) և (3.13) բանաձևերի միջոցով) շատ ավելի աշխատատար է, իսկ որոշ դեպքերում (օրինակ՝ poly(G).poly(C)-ԷԲ կապման համար)

*Աղյուսակ 4*

*Պոլիռեիբոնուկլեոտիդների հետ EԲ-ի կապման հաստատունի արժեքները 30 °C ջերմաստիճանում 0.11 մոլ NaCl իոնական ուժի դեպքում:*

պոլիռեիբոնուկլեոտիդ	կառուցվածքը	K մոլ <sup>-1</sup> որոշված (3.2) բանաձևով	K մոլ <sup>-1</sup> որոշված (3.16) բանաձևով
poly(G).poly(C)	երկշղթա պարույր	(3±1)·10 <sup>3</sup>	(1.0±0.2) ·10 <sup>3</sup>
poly(A).poly(U)	երկշղթա պարույր	(2.5±0.3)·10 <sup>6</sup>	(2.1±0.3) ·10 <sup>6</sup>
[poly(G)] <sub>4</sub>	քվարտուլյեքսի	(5.2±0.4)·10 <sup>4</sup>	(5.0±0.3) ·10 <sup>4</sup>

Նույնիսկ անհնար, քանի որ փոխազդեցությունը այնքան թույլ է, որ անհնար է փորձով որոշել լիգանդի լրիվ կապված վիճակի ֆիզիկական բնութագրերը (մասնավորապես՝ A<sub>b</sub>-ն): Անկախ լիգանդի բնույթից և ՆԹ ձևից, (3.16) բանաձևով K-ի որոշման համար բավարարելու են նաև մի քանի չափումներ լիգանդի փոքր լցումների դեպքում, որը կարելի է միշտ իրականացնել անկախ փոխազդեցության ձևից:

Աղյուսակ 4-ում (3.16) բանաձևի միջոցով EԲ-ի և պոլիռեիբոնուկլեոտիդների փոխազդեցության հաստատունի (K) համար որոշված արժեքները մեծ ճշտությամբ համընկնում են այլ

հեղինակների կողմից այդ համակարգերի համար  
 ֆլուորեսցենցիային և սպեկտրոֆոտոմետրային եղանակներով  
 որոշված արժեքների հետ, որը խոսում է առաջարկվող մեթոդի  
 արդյունավետության մասին:

Այստեղ բերված է նաև  $EF$ -ի և  $[poly(G)]_4$  քվարտուլեքսի  
 կոմպլեքսագոյացման տվյալները: Հայտնի է, որ ֆիզիոլոգիական  
 իոնական ուժերի մոտ միջավայրում ( $\mu \geq 0,11$  մոլ  $Na^+$ ) այս պոլիմերը  
 կազմավորվում է որպես քառազղթա միացություն:  
 Սպեկտրոֆոտոմետրիայի եղանակով մեր կողմից ուսումնասիրվել է  
 $EF$ -ի և  $[poly(G)]_4$ -ի կոմպլեքսագոյացման պրոցեսը: Այդ  
 փոխազդեցության ջերմադինամիկական պարամետրերը որոշելու  
 համար ստացվել են կոմպլեքսագոյացման սպեկտրալ  
 օրինաչափությունները (նրանք նման են  $EF$ -ի և այլ ՆԹ-ների հետ  
 կոմպլեքսների դեպքում ստացված սպեկտրներին): Կլանման  
 սպեկտրներից ստացվել են  $r/c_f$  և  $r$  կախվածությունները, ինչպես նաև  
 փոքր լցումների դեպքում (3.16) բանաձևում պահանջվող  
 մեծությունների արժեքները և որոշվել են  $EF$ -ի կապման  
 հաստատունի արժեքը (3.2) և (3.16) բանաձևերի միջոցով (Աղյուսակ 4):  
 Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ  $EF$ -ը  $[poly(G)]_4$ -  
 քվարտուլեքսի նկատմամբ ավելի թույլ խնամակցություն ունի,  
 քան  $poly(A).poly(U)$  և բնական ԴՆԹ-ների հետ:

**3.5 ԿԱՊՄԱՆ ՋԵՐՄԱԴԻՆԱՄԻԿԱԿԱՆ ՊԱՐԱՄԵՏՐԵՐԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ԿԱՊՄԱՆ  
 ԻՉՈՐԹԵՐՄԻՑ**

Նուկլեինաթթու և լիզանդ փոխազդեցության հետևանքով  
 փոխվում է համակարգը (պոլիմերոնուկլեինաթթու և  $EF$ )

բնուութագրող ջերմադինամիկական պարամետրերը: Սովորաբար, կապման հետևանքով համակարգի ջերմադինամիկական պարամետրերի փոփոխությունը (կապման ջերմադինամիկական պարամետրերը) որոշվում են հաստատուն ջերմաստիճանում ‘ ‘ batct’ ’ կամ ‘ ‘ flow’ ’ կալորիմետրերի միջոցով: Իզոթերմիկ կալորիմետրիկ մեթոդով կապման ջերմադինամիկական պարամետրերի որոշումը կապված է որոշակի դժվարությունների հետ. օգտագործվում է նուկլեինաթթվի բավականին մեծ քանակություն ( $\sim 10^{-2} \frac{M}{P}$ ) և տեխնիկապես դժվար է իրականացնել փորձերը, քանի որ նուկլեինաթթվի մեծ կոնցենտրացիայի պատճառով նյութերի խառնման ժամանակ առաջացած պղպեղակները և ագրեգացիոն երևույթները մեծապես ազդում են փորձնական արդյունքների վրա: Այդ պատճառով նախընտրելի է կապման ջերմադինամիկական պարամետրերը որոշել սպեկտրոֆոտոմետրիկ չափումներից, որոնք փորձնականորեն ավելի հեշտ է իրականացնել, որտեղ օգտագործվում է նուկլեինաթթվի համեմատաբար քիչ քանակություն, որը բացառում է ագրեգացիայի ոչ ցանկալի երևույթը:

Օգտվելով կապման իզոթերմերից որոշված K-ի արժեքներից, (3.17) բանաձևով կարելի է հաշվել կոմպլեքսագոյացման հետևանքով Գիպսի ազատ էներգիայի փոփոխությունը

$$\Delta G = -RT \ln K \tag{3.17}$$

որտեղ R-ը գազային ունիվերսալ հաստատունն է, իսկ T-ն՝ բացարձակ ջերմաստիճանը:

Էնթալպիայի ( $\Delta S$ ) և Էնթալպիայի ( $\Delta H$ ) փոփոխությունը լիգանդ-նուկլեինաթթու կոմպլեքսագոյացման համար կարելի է հաշվել (3.18) բանաձևով՝

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \tag{3.18}$$

որտեղ, հաշվի առնելով (3.17) արտահայտությունը և ձևափոխելով, այն կարելի է ներկայացնել հետևյալ տեսքով՝

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{R} \cdot \frac{1}{T} + \frac{\Delta S}{R} \tag{3.19}$$

Չամաճայն (3.19) արտահայտույթն, եթե  $\ln K$ -ի կախումը  $\frac{1}{T}$ -ից գծային է, ապա աբսցիսների առանցքի հետ ուղիղ գծի կազմած անկյան տանգենսը ներկայացնում է  $-\frac{\Delta H}{R}$  մեծությունը, իսկ օրդինատների առանցքի հետ ուղիղ գծի հատման կետերի օրդինատները՝  $\frac{\Delta S}{R}$  մեծությունը: Մեր կողմից ստացված փորձնական տվյալներից  $K$ -ի արժեքներով կառուցվել է  $\ln K$ -ի կախումը  $\frac{1}{T}$ -ից poly(A)·poly(U)-ԷԲ (Նկար 35), poly(G)·poly(C)-ԷԲ և ԴՆԹ-միտոքսանտրոն կոմպլեքսագոյացումների համար: Այդ կետերով փոքրագույն քառակուսների մեթոդով տարվել է ուղիղ գիծ և որոշվել  $\Delta S$  և  $\Delta H$ -ի արժեքները, որոնք բերված են Աղյուսակ 5-ում: Չամեմատենք  $\Delta S$ -ի և  $\Delta H$ -ի համար կապման իզոթերմերից հաշված արժեքները (Աղյուսակ 5) կալորիմետրիկ չափումներից այլ հեղինակների կողմից [71] ստացված համապատասխան արժեքների հետ: poly(A)·poly(U)-ԷԲ կոմպլեքսների համար  $\Delta H$ -ի կախումը կապված էԲ-ի կոնցենտրացիայից իզոթերմիկ կալորիմետրի մեթոդով որոշվել է աշխատանքում: Փորձերը ցույց են տվել, որ  $\Delta H$ -ի արժեքը կախված չէ կապված ԷԲ-ի կոնցենտրացիայից և  $\Delta H \cong -7.3$  կկալ/մոլ: Քանի որ կալորիմետրիկ չափումներում  $\Delta H$ -ի որոշման սխալը կազմում է ոչ պակաս, քան 5%, ապա կապման իզոթերմերից հաշված ջերմադինամիկական պարամետրերի փոփոխության համար որոշված արժեքներից (Աղյուսակ 5) հետևում է, որ  $\Delta H$ -ը մեծ ճշտությամբ կարելի է որոշել սպեկտրոֆոտոմետրիկ մեթոդով: Միտոքսանտրոնը հանդիսանում է ԴՆԹ-ի հետ ինտերկալացիոն մեխանիզմով փոխազդող միացությունն [71]: Չայտնի է, որ ԴՆԹ-ի հետ ինտերկալացիոն մեխանիզմով փոխազդող լիզանդների (ԷԲ, ակտինոմիցին D, պրոֆլավին և այլն) համար  $\Delta H \cong -10$  կկալ/մոլ [71]: Ինչպես հետևում է Աղյուսակ 5-ից, ԴՆԹ-միտոքսանտրոն կոմպլեքսի համար կապման իզոթերմերից որոշված  $\Delta H \cong -5.5$  կկալ/մոլ արժեքը համընկնում է կալորիմետրիկ չափումներից այլ ինտերկալատրոնների համար ստացված  $\Delta H$ -ի արժեքի հետ: ԴՆԹ-ն գտնվում է B-կոնֆորմացիայում

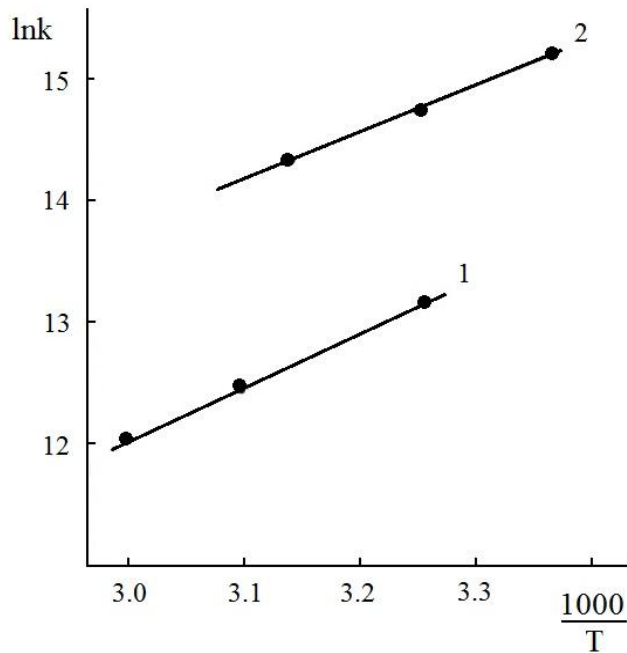


0.11 մոլ իոնական ուժի դեպքում, իսկ ՌՆԹ-ն, մասնավորապես երկշղթա պարուրային poly(A)·poly(U)-ն՝ A-կոնֆորմացիայում, որի կառուցվածքը, ինչպես նշել էինք էապես տարբերվում են B-երկշղթա պարույրը բնութագրող պարամետրերից: Մեր հաշվումներից և գրականության տվյալներից [49] հետևում է, որ ինտերկալացիոն

մեխանիզմով փոխազդող լիզանդների դեպքում կապման  $\Delta H$ -ի արժեքները A- և B-ձևերի համար մեծ ճշտությամբ համընկնում են: Ինչ վերաբերվում է կապման  $\Delta S$ -ին, ապա այն նկատելիորեն մեծ է ԴՆԹ-լիզանդ փոխազդեցության դեպքում:

Աղյուսակ 5

ՆԹ-



Նկար 35.  $\ln K$  կախումը ջերմաստիճանի հակադարձ մեծություններից միտոքսանտրոն-ԴՆԹ (1) և էԲ-poly(A)-poly(U) (2) կոմպլեքսների համար:

միտոքսանտրոն և ՆԹ-ԷԲ կոմպլեքսագոյացման ջերմադինամիկական պարամետրերի արժեքները 0,11 մոլ NaCl իոնական ուժի դեպքում:

կոմպլեքսի տեսակը	$-\Delta G, \frac{\text{կՋ}}{\text{մոլ}}$	$-\Delta H, \frac{\text{կՋ}}{\text{մոլ}}$	$\Delta S, \frac{\text{կՋ}}{\text{մոլ}^\circ\text{C}}$
poly(G) poly(C) - միտոքուանտրոն	7,1±0,1	6,4±0,5	2,3±0,2
poly(A) poly(U) - միտոքուանտրոն	6,3±0,1	5,7±0,4	2,0±0,3
[poly(G)] <sub>4</sub> - միտոքուանտրոն	7,9±0,1	5,0±0,4	9,4±0,5
Յոթնամյա ռեպրոդուկցիայի ԴՆԹ - միտոքուանտրոն	8,0±0,1	5,5±0,4	8,1±0,3
M.lysodeik.ԴՆԹ- միտոքուանտրոն	8,1±0,1	5,5±0,5	8,4±0,3
poly(G) poly(C) - ԷԲ	4,1±0,2	7,3±0,4	10,5±0,3
poly(A) poly(U) - ԷԲ	8,8±0,2	7,6±0,5	3,8±0,3
Յոթնամյա ռեպրոդուկցիայի ԴՆԹ - ԷԲ	8,0±0,1	9,7±0,4	5,2±0,3

Քանի որ համակարգի էներգիայի փոփոխությունը պայմանավորված է համակարգի կարգավորվածության աստիճանի փոփոխությամբ, հետևաբար, ինտերկալացիոն փոխազդեցության հետևանքով B-կոնֆորմացիայի պարունյրի երկրաչափական կառուցվածքը ավելի մեծ փոփոխություն է կրում: Համեմատենք ԷԲ poly(A)-poly(U) և poly(G)-poly(C) կոմպլեքսների համար  $\Delta H$  և  $\Delta S$  արժեքները (Աղյուսակ 5): Աղյուսակ 5-ից հետևում է, որ կապման  $\Delta H$ -ի արժեքները համարյա հավասար են, իսկ կապման  $\Delta S$ -ի արժեքները տարբերվում են նշանով: poly(A)-poly(U)-ԷԲ կոմպլեքսների համար  $\Delta S > 0$ , իսկ poly(G)-poly(C)-ԷԲ կոմպլեքսների համար  $\Delta S < 0$ : Հետևաբար, արլիռիբոնուկլեոտիդ-էթիդիում բրոմիդ կոմպլեքսագման հետևանքով գոյանում է ավելի կարգավորված համակարգ poly(G)poly(C)-ԷԲ կոմպլեքսի համար և կոմպլեքսագոյացումը բերում է անկարգավորվածության՝ poly(A)poly(U)-ԷԲ-ի դեպքում: Նշենք, որ  $\Delta S$ -ի համար դիտված օրինաչափությունը հատուկ է միայն երկշղթա պարունյր A-կոնֆորմացիայի հետ ԷԲ կոմպլեքսագմանը, որը չի իրականանում B-կոնֆորմացիայի հետ ԷԲ-ի կապման ժամանակ [74,84]:

Ընդհանրացնելով, կարելի է եզրակացնել, որ կապման ջերմադինամիկական պարամետրերը (մասնավորապես, կապման  $\Delta H$ ) հարմար է որոշել սպեկտրոֆոտոմետրիկ մեթոդով կառուցված կապման հաստատունի ջերմաստիճանային կախվածությունից, որը ավելի հեշտ և քիչ ծախսատար:

Միտոքսանտրոնի քառաշղթա [poly(G)]<sub>4</sub> հետ կապման հաստատունի արժեքը որոշվել է (3.2) բանաձևի միջոցով և կառուցվել է lnK -ի կախումը  $\frac{1}{T}$ -ից (Նկար 22, աջ անկյուն), որը հնարավորություն է ընձեռեմ ստանալ  $\Delta S$ -ի և  $\Delta H$ -ի արժեքները այդ փոխազդեցության համար՝  $\Delta H \cong -5,0$  կկալ/մոլ և  $\Delta S = 9,4$  կալ/մոլ Կ: Գրականության տվյալներից հայտնի է, որ երկշղթա պարուրային նուկլեինաթթուների հետ դասական ինտերկալյատորների փոխազդեցության համար  $\Delta H \approx -(9 \div 10)$  կկալ/մոլ [69,84], իսկ մասնակի ինտերկալյատորների (օրինակ՝ միտոքսանտրոնի) դեպքում  $\Delta H \approx -(3 \div 5)$  կկալ/մոլ [63]: Մեր կողմից [poly(G)]<sub>4</sub>-միտոքսանտրոն կոմպլեքսի համար ստացված  $\Delta H \approx -5,0$  կկալ/մոլ արժեքը բացարձակ արժեքով փոքր է մասնակի ինտերկալյացիայի փոխազդեցության համար ստացված արժեքից: Ինչ վերաբերվում է էներգիայի փոփոխությանը, ապա [poly(G)]<sub>4</sub>-միտոքսանտրոն կոմպլեքսի համար  $\Delta S = 9,4$  կալ/մոլ Կ, իսկ երկպարույր poly(G)-poly(C)-միտոքսանտրոնի համար հաշվումները ցույց են տալիս, որ  $\Delta S = 2,3$  կալ/մոլ Կ:

Այսպիսով, ինչպես EF-ի, այնպես էլ միտոքսանտրոնի փոխազդեցությունը [poly(G)]<sub>4</sub>-քվարտուլեքսի հետ հիմնականում իրականանում է կիսաինտերկալյացիայի մեխանիզմով: Ինտերկալյացիայի մեխանիզմը ամենայն հավանականությամբ բացառվում է [poly(G)]<sub>4</sub>-քվարտուլեքսի շղթաների խիտ դասավորության պատճառով, որը դժվարացնում է նշված լիգանդի լրիվ ինտերկալյացիան:

### 3.6 ՄԻՏՈՔՍԱՆՏՐՈՆԻ ԵՎ ԷԲ-Ի ԵՐԿՇՂԹԱ ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԹՅՈՒՆԵՐԻ ՅԵՏ ԵՆԱԲԱՂԱԴՐԻՉ ԿՈՄՊԼԵՔՍԱԳՈՅԱՑՄԱՆ ՈՒ ՍՈՒՄԱՍԻՐՈՒ ԹՅՈՒՆԸ

Նուկլեինաթթուների հետ լիգանդի փոխազդեցության առանձնահատկությունների բացահայտումը բազմափուլային կոմպլեքսներում խիստ արդիական է: Նթ-ները բջջում իրականացնում են իրենց գործառնությունները փոխազդելով

բազմաբևույթ լիզանդների հետ: Տեսական հաշվարկները ցույց են տալիս, որ բազմաբևույթ լիզանդների ազդեցությունը եռաբաղադրիչ կոմպլեքսների շերմադինամիկական պարամետրերի վրա չի հանդիսանում ՆԹ-ի վրայ ուրաքանչյուր լիզանդի առանձին ազդեցության հանրահաշվական գումարը, որը փորձնականորեն ցույց է տրվել ԴՆԹ-ի հետ ակրիդին օրանժի, մեթիլեն կապույտի և Hoechst 33258-ի հետ կապման օրինակներով [107,109,111]: Բացի այդ բացահայտվեց, որ նշված համակարգերում որոշ կոնցենտրացիաների դեպքում ԷԲ-ը մրցակցելով մյուս լիզանդների հետ զբաղեցնում է ինտերկալյացիայի համար իրեն հարմար տեղերը ՆԹ-ի վրա: Ինտերկալյացիայի տեղերի բացակայության հետևանքով մյուս լիզանդները կապվում են ՆԹ-ների հետ կիսաինտերկալյացիայի մեխանիզմով [112-114]:

ԷԲ-ի վերաբերյալ գրականության մեջ գոյություն ունեցող բազմաթիվ տվյալները հնարավորություն են տալիս պնդել, որ ԷԲ-ը դասական ինտերկալյատոր է և կարող է հանդես գալ որպես համեմատման առարկա ՆԹ-ների հետ տարբեր մեխանիզմներով փոխազդող միացությունների մոդելավորման համար [63,95,96]: Մասնավորապես տեսականորեն մշակված ԴՆԹ-ԷԲ կոմպլեքսի պարունակ-կծիկ անցման մոդելը հնարավորություն է տալիս, կախված լիզանդի կոնցենտրացիայից ( $r$ ), հալման շերմաստիճանի ( $T_m$ ) և հալման միջակայքի ( $\Delta T$ ) արժեքներից, որոշել ենթալպիայի ( $\Delta H$ ) փոփոխության արժեքը և կատարել շերմադինամիկական վերլուծություն ԴՆԹ-ի հետ ոչ կովալենտ, բազմաև կապերով կապվող լիզանդների կոմպլեքսների համար:

ԷԲ-ի և միտոքսանտրոնի երկշղթա ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի հետ համատեղ կոմպլեքսագոյացման առանձնահատկությունները բացահայտելու համար առանձին լիզանդների հետ կոմպլեքսների փորձարարական տվյալները համեմատվել են համապատասխանաբար ԷԲ-ՆԹ-միտոքսանտրոն եռաբաղադրիչ կոմպլեքսի փորձարարական տվյալների հետ [103-110]: Ստացված արդյունքներից երևում է, որ մաքուր, առանց լիզանդի ՆԹ-ի հալման կորի հետ համեմատած կոմպլեքսների հալման կորերը շեղվում են դեպի ավելի բարձր շերմաստիճանների տիրույթ: Ընդ որում շեղումը դիտվում է

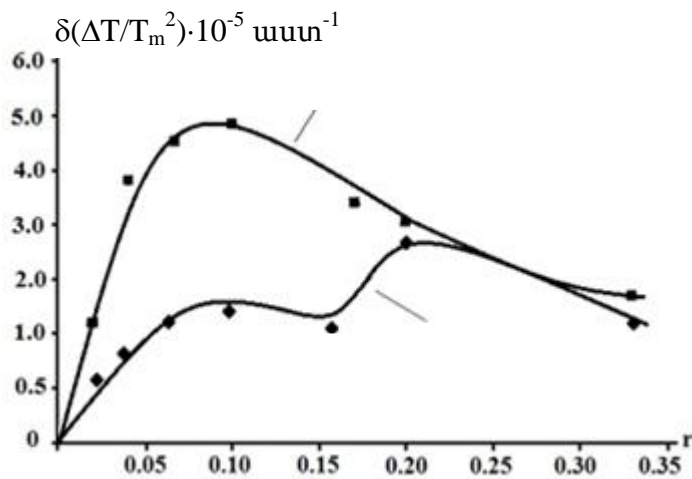
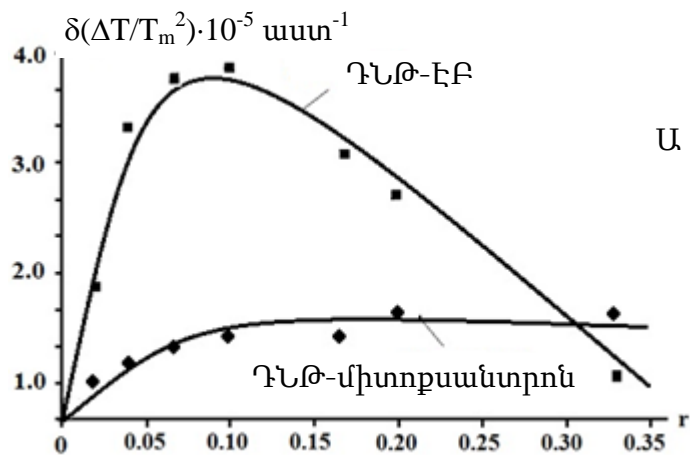
ինչպես մեկ, այնպես էլ երկու լիզանդների հեր համատեղ կոմպլեքսագոյացման դեպքում: ՆԹ-ի և ՆԹ-լիզանդ կոմպլեքսների համար հալման կորերից որոշվել են  $(T_m)$ -ի և  $(\Delta T)$ -ի արժեքները, ինչպես նաև  $\delta(1/T_m)$ -ի ( $\delta(1/T_m)=1/T_0-1/T_m$ , որտեղ  $T_0$ -ն և  $T_m$ -ը ԴՆԹ-ի և ԴՆԹ-լիզանդ կոմպլեքսների հալման ջերմաստիճաններն են) և  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի ( $\delta(\Delta T/T_m^2)=\Delta T/T_m^2-\Delta T_0/T_0^2$ , որտեղ  $\Delta T_0$ -ն և  $\Delta T$ -ն համապատասխանաբար ԴՆԹ-ի և ԴՆԹ-լիզանդ կոմպլեքսների հալման միջակայքերի լայնություններն են) պարամետրերի փոփոխության արժեքները [107]:

Նկար 36-ում բերված են երկշղթա ԴՆԹ-լիզանդ կոմպլեքսի  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի կախման կորը  $r$ -ից: Նկար 36-ի, Ա-ից երևում է, որ ԷԲ-ԴՆԹ կոմպլեքսի դեպքում կախվածության կորը զանգակած է, իսկ ԴՆԹ-միտոքսանտրոն կոմպլեքսի դեպքում  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի արժեքները աճում են լիզանդի փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում ( $0 < r \leq 0,05$ ) և լիզանդի կոնցենտրացիայի մեծ արժեքների դեպքում դիտվում է հագեցում:  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի  $r$ -ից կախման կորը պոլիմիբոնոկլետինաթթվի հետ ԷԲ-ի և միտոքսանտրոնի համատեղ կապման դեպքում խիստ տարբերվում է բերված կորից: Նկար 36, Բ-ում բերված են ԷԲ-ԴՆԹ-միտոքսանտրոն եռաբաղադրիչ կոմպլեքսի, ԷԲ-ԴՆԹ և միտոքսանտրոն-ԴՆԹ կոմպլեքսների արժեքների հանրահաշվական գումարի կորը,  $r$ -ի համապատասխան արժեքների դեպքում:

Ինչպես երևում է Նկար 36, Բ-ից գումարային կորը ունի նույն ձևը ինչ ԷԲ-ԴՆԹ կոմպլեքսի դեպքում, իսկ ԷԲ-ԴՆԹ-միտոքսանտրոն կոմպլեքսի  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի  $r$ -ից կախման կորը նկատելի տարբերվում է մնացածներից, այն կարելի է բաժանել երկու հատվածների՝  $0 < r \leq 0,17$  և  $0,17 < r \leq 3,3$ :  $0 < r \leq 0,1$  միջակայքում  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի արժեքները ԷԲ-ԴՆԹ-միտոքսանտրոն կոմպլեքսի համար աճում է,  $0,1 < r \leq 0,17$  միջակայքում ունի թույլ արտահայտված մաքսիմում, այնուհետև նվազում է և  $0,17 < r \leq 3,3$  միջակայքում ընդունում է զանգակի ձև: Նմանատիպ էֆեկտ դիտվում է ԷԲ-ԴՆԹ-մեթիլեն կապույտ կոմպլեքսագոյացման դեպքում [105-108]: Ստացված տվյալների նմանությունը մեզ հնարավորություն է ընձեռում եզրակացնելու, որ երկշղթա ԴՆԹ-ի հետ միտոքսանտրոնը, ինչպես նաև մեթիլեն կապույտը փոխազդում են կիսափնտերկալյացիայի եղանակով:

ԷԲ-ի և միտոքսանտրոնի poly(A)·poly(U) պոլի իռիբոնուկլեոտիդի հետ առանձին և համատեղ փոխազդեցությունների համար ստացվել են վերը բերված արժեքներին համանման արժեքներ (Նկար 37): Չարկ է նշել, որ միտոքսանտրոնը ՌՆԹ-ի հետ ավելի թույլ է կապվում, քան ԴՆԹ-ի հետ, իսկ ԷԲ-ը գործնականում ցուցաբերում է նույն խնամակցությունը և ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի հետ: Այս փաստը հիմնավորվում է նրանով, որ միտոքսանտրոնի-poly(A)·poly(U)-ԷԲ համատեղ փոխազդեցության դեպքում  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի՝ r-ից կախման կորը համընկնում է ԷԲ-poly(A)·poly(U) կոմպլեքսի համար ստացված կորի հետ (Նկար 37,Բ): Այս եղանակով բացահայտվել է, որ միտոքսանտրոնը ԴՆԹ-ի հետ կապվում է նույն մեխանիզմով, ինչ մեթիլ են կապուլտը, այսինքն իոնական ուժի հարաբերական բարձր կոնցենտրացիայի դեպքում երկշղթա ՆԹ-ի հետ կապվում է կիսաինտերկալյացիայի և էլեկտրաստատիկ եղանակով: Փորձարարական տվյալներ են ստացվել նաև ԷԲ-ի և միտոքսանտրոնի poly(A)·poly(U)-ի հետ առանձին փոխազդեցության դեպքում: ԷԲ-poly(A)·poly(U)-միտոքսանտրոն ենթադարձ կոմպլեքսի դեպքում ստացված արդյունքների համեմատումը ԷԲ-ԴՆԹ-միտոքսանտրոն ենթադարձ կոմպլեքսի համար ստացված համանման արժեքների հետ, ցույց է տալիս, որ միտոքսանտրոնը ՌՆԹ-ի հետ կապվում է ավելի թույլ կապերով, քան ԴՆԹ-ի հետ, իսկ ԷԲ-ը և ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի հետ փոխազդեցության դեպքում գործնականում ցուցաբերում է նույնանման խնամակցություն: Այս փաստը հիմնավորվում է նրանով, որ ԷԲ-poly(A)·poly(U)-միտոքսանտրոն կոմպլեքսի պարույրի հալման պարամետրերի վրա հիմնական ազդեցությունն ունենում է ԷԲ-ը: Ստացված արդյունքների հիման վրա կարելի է եզրակացնել, որ ԷԲ-ի և միտոքսանտրոնի ՆԹ-ի հետ ենթադարձ կոմպլեքսի հալման կորերի ջերմադինամիկական պարամետրերը ( $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի և  $\delta(1/T_m)$ ) չեն համընկնում լիզանդների առանձին կալման համապատասխան պարամետրերի հանրահաշվական գումարի հետ: Չատկանշական է, որ ԷԲ-ի ՆԹ-ի հետ կալման եղանակը կախված չէ միտոքսանտրոնի առկայությունից:

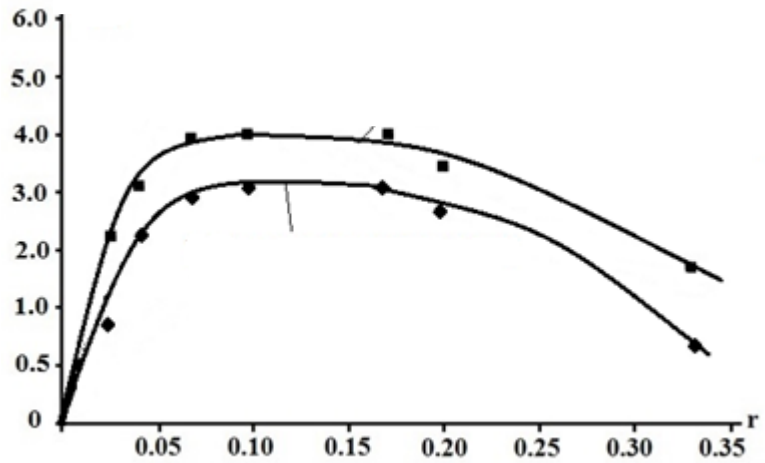
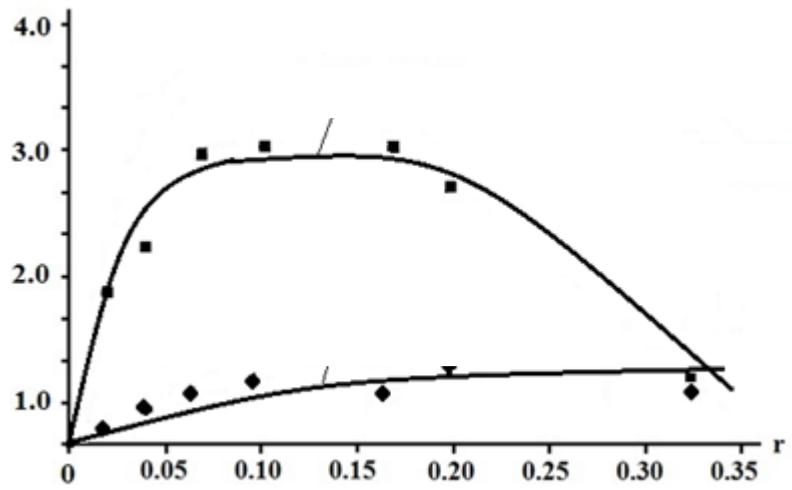
Նմանատիպ կախվածությունն է ստացվել նաև ԴՆԹ-ակրիդին օրանժ,
 մեթիլ են



Նկար 36. Ա.  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի՝  $r$ -ից կախման կորերը  $\Gamma$ -L-EP և  $\Gamma$ -միտոքսանտրոն կոմպլեքսների համար:

Բ.  $\Gamma$ -L-EP +  $\Gamma$ -միտոքսանտրոն և EP- $\Gamma$ -միտոքսանտրոն:  $\Gamma$ -L-EP +  $\Gamma$ -միտոքսանտրոն կոմպլեքսի համար  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի կախման կորը հանդիսանում է  $\Gamma$ -L-EP և  $\Gamma$ -միտոքսանտրոն կոմպլեքսների հանրահաշվական գումարը համապատասխան  $r$ -երի դեպքում:





Նկար 37. Ա.  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի r-ից կախման կորերը poly(A)·poly(U)-ԷԲ և poly(A)·poly(U)-միտոքսանտրոն կոմպլեքսների համար: Բ. ԴՆԹ-ԷԲ+ԴՆԹ-միտոքսանտրոն և ԷԲ-ԴՆԹ-միտոքսանտրոն: poly(A)·poly(U)-ԷԲ+poly(A)·poly(U)-միտոքսանտրոն կոմպլեքսի համար  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -ի կախման կորը հանդիսանում է poly(A)·poly(U)-ԷԲ և poly(A)·poly(U)-միտոքսանտրոն առանձին կոմպլեքսների  $\delta(\Delta T/T_m^2)$ -երի հանրահաշվական գումարը համապատասխան r-երի դեպքում:

կապուլյտ, Hoechst 33258 կոմպլեքսի, ինչպես նաև EԲ-ԴՆԹ-ակրիդին օրանժ եռաբաղադրիչ կոմպլեքսների համար [105-114]: Ինտերկալացիոն փոխազդեցության ժամանակ ՆԹ-ի հալման ջերմաստիճանը անկախ լիզանդի տեսակից աճում է կախված ինտերկալյատորի կոնցենտրացիայից: Այդ պատճառով  $\delta(1/T_m)$  կորի վարքը EԲ-ՆԹ և միտոքսանտրոն-ՆԹ կոմպլեքսների համար իրարից քիչ են տարբերվում: Այս փաստը վկայում է, որ ուսումնասիրվող լիզանդները հանդիսանում են ՆԹ-ների երկրորդային կառուցվածքի կայունացուցիչներ և EԲ-ի ներկայությունը ուժեղացնում է այդ հատկությունը: Կարևոր է, որ ստացված ջերմադինամիկական տվյալների անալիզը փաստում է, ա) EԲ-poly(A)·poly(U)-միտոքսանտրոն եռաբաղադրիչի հալման պարամետրերի վրա գերակայում է EԲ-ի ազդեցությունը, բ) ԴՆԹ-ի և սինթետիկ ՌՆԹ-ի հետ EԲ-ի կապման ձևերը կախված չեն միտոքսանտրոնի ներկայությունից:

Ներկայացված ատենախոսության մեջ փորձնականորեն ուսումնասիրվել են հարթ քրոմոֆոր պարունակող ԷԲ և միտոքսանտրոնի երկ- և քառաշղթա նուկլեինաթթուների հետ փոխազդեցության առանձնահատկությունները: Բացահայտվել է, որ միտոքսանտրոնի 0.11 մոլ  $\text{Na}^+$  միջավայրում երկշղթա poly(A):poly(U) ռիբոնուկլեոտիդի հետ կապման մեխանիզմը կիսաինտերկալացիան է: Որոշվել են կապման հաստատունի (K) և լիգանդի մեկ կապման տեղին համապատասխանող զույգ ազոտային հիմքերի քանակը (n): Ստացված արդյունքները հիման վրա եզրակացվել է, որ ԷԲ-ի ռիբոնուկլեոտիդի (A-կոնֆորմացիա) և B-կոնֆորմացիայի դեօքսիռիբոնուկլեոտիդների հետ կապման մեխանիզմները որակապես տարբեր են: Ջերմադինամիկական ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ միտոքսանտրոնի խնամակցությունը [poly(G)]<sub>4</sub> քվադրուկալ եքսի նկատմամբ թուլլ է, համեմատած poly(A):poly(U)-ի և ԴՆԹ-ի հետ: Այդ փոխազդեցության կապման էնթալպիան ( $\Delta H \approx - (5,5) \text{ կկալ /մոլ}$ ), մոտերկու անգամ փոքր է ԷԲ-ի երկշղթա ԴՆԹ-ի հետ ինտերկալացիոն եղանակով կապման էնթալպիայից, որը վկայում է միտոքսանտրոնի [poly(G)]<sub>4</sub>-ի հետ կիսաինտերկալացիայի մեխանիզմով կապման օգտին:

Հալման դիֆերենցիալ կորերի առաջարկված ոչ բարդ և ոչ աշխատատար մեթոդով որոշվել է միտոքսանտրոնի խնամակցությունը GC-զույգերի նկատմամբ, որը համահունչ է տարբեր ալիքի երկարությունների վրա հալման պրոցեսի ուսումնասիրությունների արդյունքների հետ:

ՆԹ-ի հետ ԷԲ և միտոքսանտրոնի փոխազդեցության ջերմադինամիկական պարամետրերի համեմատումը բացահայտել է նրանց երկշղթա ԴՆԹ-ի (B ձև) հետ փոխազդելու ինտերկալացիայի եղանակը ( $\Delta H \approx - (8 \div 10) \text{ կկալ /մոլ}$ ), այն դեպքում, երբ ռիբոնուկլեոտիդների հետ փոխազդեցությունը կիսաինտերկալացիայի մեխանիզմն է ( $\Delta H \approx -5 \text{ կկալ /մոլ}$ ), մեծ հավանականությամբ նկատված առանձնահատկությունները պայմանավորված է երկշղթա պարունակի հետ այդ լիգանդների

կապման տեղի հիդրատացիայի, լիցքերի լոկալ խտության, մակածված տեղերի երկրաչափության, փոփոխությունների, լիգանդի կողմից տվյալ կառույցը կայունացնելու և այլ հատկություններով: Լիգանդի ՆԹ-ի հետ փոխազդեցությամբ պայմանավորված փոփոխությունների արդյունք է նաև աշխատանքում ստացված փորձարարական փաստը, որ NaCl-ի մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում (4 մոլ NaCl), երբ poly(dG-dC)-poly(dG-dC) պոլիմերը գտնվում է Z-ձևում, միտոքսանտրոնը չի արգելակում B→Z անցումը, այլ դանդաղեցնում է այդ պրոցեսը, այն դեպքում երբ շատ ինտենսիվալորներ, այդ թվում էՔ և անտրացիկլիկային հակաբիոտիկների շարքին պատկանող մեծ թվով միացություններ պոլիմերի կոնտրոլային շղթայի Z-ձևը փոխարկում են B-ձևի:

Փորձարարական տվյալները վկայում են, որ էՔ-poly(A)·poly(U)-միտոքսանտրոն ենահամակարգի հալման պարամետրերի վրա հիմնական ազդեցությանը պայմանավորված է էՔ-ի հետ: էՔ-ի ՆԹ-ի հետ կապման եղանակը կախված է միտոքսանտրոնի առկայությունից կամ բացակայությունից:

Ատենախոսության մեջ բերված բոլոր փորձարարական տվյալները մասամբ լրացնում են այն բացը, որը վերաբերում է ուսումնասիրվող հարթ քրոմոֆոր պարունակող լիգանդների և ռիբոնուկլեոտիդների կոմպլեքսագոյացման ջերմադինամիկական և կառուցվածքային առանձնահատկություններին, ինչպես նաև քվադրոպլեքսների և նրանց բազմաբնույթ կառուցվածքի հետ լիգանդների փոխազդեցության ջերմադինամիկական ուսումնասիրությունների բացակայությունը: Աշխատանքում ստացված արդյունքները կարող են օգտակար լինել բնութագրելու համար լիգանդների ՆԹ-ների հետ փոխազդեցության ձևերը, մեխանիզմները, որը կարևոր է նոր ավելի արդյունավետ դեղամիջոցների սինթեզման համար:

## ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Երկպարունյր նուկլեինաթթուների հետ միտոքսանտրոնի փոխազդեցության ջերմադինամիկական պարամետրերը տարբերվում են ԷԲ-ի այդ պոլիմերների հետ փոխազդեցության պարամետրերից: Միտոքսանտրոնի կապման Էնթալպիայի ցածր արժեքը ( $\Delta H = -5.5$  կկալ /մոլ), համեմատած դասական ինտերկալյատորների արժեքների հետ ( $\Delta H = -(7-10)$  կկալ /մոլ) թույլ է տալիս պնդել, որ միտոքսանտրոնը կապվում է ՆԹ-ի հետ կիսաինտերկալյացիայի եղանակով:
2. Երկպարունյր ԴՆԹ-ների B-ձևի հետ միտոքսանտրոնի կապման Էնթրոպիան ( $\Delta S \approx 8,3$  կալ /մոլ  $\cdot$ Կ) չորս անգամ ավելի մեծ է, քան երկպարունյր ՌՆԹ-ի հետ (A-ձևի) փոխազդեցության դեպքում ( $\Delta S \approx 2,2$  կալ /մոլ  $\cdot$ Կ), որը գլխավորապես պայմանավորված է ՆԹ-ի բացասական լիցքավորված ֆոսֆատային խմբերի հետ այդ լիզանդի կողմնային ալիֆատիկ խմբերի էլեկտրաստատիկ փոխազդեցությամբ:
3. Միտոքսանտրոնը դանդաղեցնում է աղի բարձր կոնցենտրացիայով ( $\sim 3,1$  մոլ NaCl) հրահրված B $\rightarrow$ Z անցումը, որը պայմանավորված է ձախ պարունյր ԴՆԹ-ի հետ այդ լիզանդի կապման մեխանիզմների առանձնահատկություններով:
4. ԷԲ-ԴՆԹ-միտոքսանտրոն և ԷԲ-poly(A)poly(U)-միտոքսանտրոն եռաբաղադրիչ կոմպլեքսների հալման պարամետրերի վրա գերակշռող ազդեցությունն է ունենում ԷԲ-ը: ԷԲ-ի բազմաբնույթ հատկությունները ՆԹ-ի հետ փոխազդելիս արտահայտվում են ինչպես միտոքսանտրոնի ներկայությամբ և այնպես էլ առանց դրա:
5. ՌՆԹ-ի հետ միտոքսանտրոնը շատ ավելի թույլ է կապվում, քան երկշղթա ԴՆԹ-ի հետ, ի տարբերություն ԷԲ-ի, որը գործնականում նույն ինամակցությունն ունի և՛ ՌՆԹ-ի, և՛ ԴՆԹ-ի նկատմամբ:

6. Միտոքսանտրոնը և ռիբոֆլավինը մեծ իոնական ուժի և ՆԹ-ի փոքր կոնցենտրացիաների դեպքում կապվում է կիսաինտերկալյացիայի, իսկ և իգանդի մեծ կոնցենտրացիաների առկայության դեպքում էլ եկտրաստատիկ մեխանիզմներով, այն դեպքում, երբ էԲ-ը ՆԹ-ի հետ կապվում է ինտերկալյացիայի, կիսաինտերկալյացիայի և էլեկտրաստատիկ եղանակներով: Այս և իգանդների ՆԹ-ի հետ համատեղ փոխազդեցությունը համանման չէ այդ իգանդներից որևէ մեկի բազմաբևույթ կապմանը:

Գրականություն

1. Франк-Каменецкий М. Д. / Самая главная молекула, Редакционно-издательский дом ПОСТНаука, 2017, 336.
2. [Vologodskii A.](#) / Biophysics of DNA. [Cambridge University Press](#). 2015, 272.
3. Зенгер В. / Принципы структурной организации нуклеиновых кислот, Москва "Мир" 1987, 584.
4. Кантор Ч., Шиммел П. / Биофизическая химия, Москва "Мир", 1994, 336.
5. Morange M. // The Central Dogma of molecular biology. Reson. 2009, 14, 236–247.
6. <http://what-when-how.com/molecular-biology/b-dna-molecular-biology/>
7. Վարդևանյան Պ.Յ. / Նուկլեիկաթթվների կենսաֆիզիկա: Բնական ձևերը: Հայրապետիք, Երևան, 2010, 212:
8. Благой Ю.П. // Взаимодействие ДНК с биологически активными веществами. Соросовский образовательный журнал, 1998, 10, 18-24.
9. Pohl F.M. // Polymorphism of a Synthetic DNA in solution, Nature, 1976, 260, 365-366.
10. Gowda S.K., Mathew B.B., Sudhmani C.N., Naik H.S.B. // Mechanizm of DNA binding and Cleavage. Biomedicine and Biothecnology, 2014, 2, 1, 3-9.
11. Rich A., Zhang S. // Timeline: Z-DNA: the long road to biological function., Nat Rev Genet, 2003, 4, 7, 5, 66-72.
12. Zhabinskaya D., Benham C.J. // Theoretical analysis of the stress induced B-Z transition in superhelical DNA, PLoS Comput Biol 7, 1, e1001051. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1001051>
13. Khun P., Sandor M., DeYoung J., Ho P.S., // Phylogenomic analysis of the emergence of GC-rich transcription elements, Proc. Natl. Acad. Sci. USA.; 2007, 104, 16528-16533.
14. Neidle S. // Nucleic Acids Structure and Recognition, Oxford: Oxford University Press, 2002, 195.
15. Malvy C., Harel-Bellan A. // Triple Helix Forming Oligonucleotides, Eds. Pritchard Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London, 1999, 285.
16. Li J-S., Fan Y-H., Zhang Yi, Marky L.A., Gold B. // Design of triple helix forming C-glycoside molecules, J. Am. Chem. Soc., 2003, 125, 8, 2084-2093.
17. Rhee S., Han Z., Liu K., Miles H.T. and Davies D.R. // Structure of a triple helical DNA with a triplex-duplex junction. Biochemistry, 1999, 38, 16810-16815.

18. Macris M.A., Glazer P.M. // Transcription dependence of chromosomal gene targeting by triplex-forming oligonucleotides, *J. Biological Chemistry*, 2003, 3357-3362.
19. Mirkin S.M. // Structure and Biology of HDNA. In *Triple Helix Forming Oligonucleotides*. Eds. C. Malvy, A. Havel-Bollan and L.L. Pritchard Academic Publishers. Boston, Dordrecht, London., 1999, 193-222.
20. Burge S., Parkinson G.N., Hazel P., Todd A.K., Neidle S. // Quadruplex DNA: sequence, topology and structure, *Nucleic Acids Res.* 2006, 34, 19, 5402-5415.
21. Cech T.R. // Beginning to understand the end of the chromosome. *Cell*. PubMed 2004; 116, 273- 279.
22. Hong H.M., Payet L. and Happert J.L. // Function and Targeting of G-quadruplexes. *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 2009, 11, 146-155.
23. Thomas. G.J., Jr. //Raman spectroscopy of protein and nucleic acid assemblies , *Annu Rev,Biophys. Biomol. Struct.* 1999, 28, 1-27.
24. Patel D.J., Phan A.T. and Kuryaryi V. // Human telomere, oncogenic promotor and 5'-UTR G-quadruplexes: diverse higher order DNA and RNA targets for cancer therapeutics, *Nucleic Acids Res*, 2007, 35, 74529-7455.
25. Phillips K., Dauter Z., Murchie A.I., Lilley D.M., Luisi B. // The crystal structure of a parallel- stranded guanine tetraplex at 0.95 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 1997, 273, 171-182
26. Vasquez K.M., Dagle J.M., Weeks D.L., Glazer P.M. // Chromosome targeting at short polypurine sites by cationic triplex-forming oligonucleotides, *J. Biological Chemistry*, 2001, 276, 42, 38536-38541.
27. Lyamichev V.I., Mirkin S.M. and Frank-Kamenetskii M.D. // A pH-dependent structural transition in the homopurine-homopyrimidine track in superhelical DNA. *J.Biomol, Struct. Dyn.* 3, 1985, 327-338.
28. Williamson J.R., Raghuraman M.K. and Coch T.R. // Monovalent cation-induced structure of telomeric DNA: the G- quartet model. *Cell*, 1989, 59, 871-880.
29. Карапетян А.Т. // Энергетика конформационных переходов в ДНК. Докторская диссертация. Москва 1987.
30. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. // Статистическая физика, М.Наука, 1964.



31. Вардеванян П.О., Антонян А.П., Пирумян К.В., Тавадян Л.А. // Исследование взаимодействия бромистого этидия с ДНК спектральным и электрохимическим методами. Доклады, НАН РА, 2008, 108, 1, 75-83.
32. Лазуркин Ю.С. // Молекулярное плавление ДНК и эффект тонкой структуры кривих плавления, Молекулярная Биология, 1977, 11, 1311-1324.
33. Poland D. // Ligand binding distribution in biopolymers. J. Chem. Phys., 2000, 113, 4774-4784.
34. Sroff H.A. // Energetics of protein-DNA interactions – an exact calculation for binding of ligands to a lattice of overlapping sites. Biopolymers, 1995, 36, 121-134.
35. Herbert A. and Rich A. // Left-handed Z-DNA: structure and function. Genetica, 1999, **106**, 37.
36. Poland D. // Ligand binding distribution in biopolymers. J. Chem. Phys., 2000, 113, 4774-4784.
37. Fuertes. M.A., Cepeda,V., Alonso,C. and Perez, J.M. // Molecular mechanisms for the B-Z transition in the example of poly[d(G-C)-d(G-C)] polymers a critical review. *Cchem. Rev.*, 2006, **106**, 2045-2064,
38. Lirm W. and Feng Y. // The stretched intermediate model of B-Z DNA transition. Biophys. 2005, 88, 1593.
39. Ha.S.C., Lowenhaupt.K., Rich,A., Kim,Y.G. and Kim,K.K. // Crystal structure of a junction between B-DNA and Z-DNA reveals two extruded bases,. Nature, 2005, **437**, 1183.
40. Maji J. and Bhatlacharjee S.M. // Dynamic phase transition in the conversion of B-DNA to Z-DNA. Europhys. Lett., 2010, **92**, 58004.
41. Lee J., Kim Y., Kim K. and Seok C. // Transition between B-DNA and Z-DNA: free energy landscape for the B-Z junction propagation. J. Phys.Chem.B, 2010, 114, 9872.
42. Lee Y.K., Lee J., Choi J.H. and Seok C. // Contribution of counterion entropy to the salt-induced transition between B-DNA and Z-DNA. Bul. Korean Chem, Soc., 2012, 33, 3719-3726.
43. Gueron M., Plateau P. and Filoche M. // Studies of the B-Z transition of DNA: The temperature dependence of the free-energy difference, the composition of the counterion sheath in mixed salt, and the preparation of a sample of the 5'-d [T-(m5C-e)12-T] duplex in pure B-DNA of Z-DNA form, Biopolymers, 2016, 105, 369-384.

44. L. Aloyan, Y. Dalyan, A. Gogolev // New Porphyrins/Calf Thymus DNA Complexes – Their Thermostability, *Advanced Materials Research*, 2015, 1084, 554-558.
45. Barkhudaryan V.G., Ananyan G. V., Dalyan Y. B., Haroutiunian S.G. // Development of viscometric methods for studying the interaction of various porphyrins with DNA. Part I: meso-tetra-(4N-hydroxyethylpyridyl)porphyrin. *J. Porphyrins and Phthalocyanines*, 2014, 18, 594–599.
46. Antoniou T., Tseng A.L. // *Annals of Pharmacotherapy*, 2002, 36, 10, 1598-1613.
47. Hurley L.H. // DNA and its associated processes as targets for cancer therapy. *Nat. Rev.*, 2002, 2, 188-200.
48. Sun X., Cao E., Yujian H., Qin J. // Fluorescence studies on the interaction of ethidium bromide with duplex, triplex and quadruplex DNA structures. *Science in China (Series B)*, 1999, 42, 1, 62-69.
49. onaselidze J., Majagaladze G., Barbakadze Sh., Khachidze D., Gorgoshidze M. Kalandzidze Y. Haroutiunian S., Dalyan Y., Vardanyan V. Microcalorimetric // Investigation of DNA, poly(dA)poly(dT) and poly[d(A-C)]poly[d(G-T)] melting in the presence of water soluble (meso-tetra-(4-N-oxyethylpyridyl) porphyrin) and its Zn complex. *J. Biomol. Structure & Dynamics*, 2007, 25, 4, 419-424.
50. Далян Е.Б. // Структурообразование в комплексах ДНК-лиганд, обратимое и необратимое связывание, Докторская диссертация, Ереван, 2003.
51. Babayan Y.S., Sngryan A.E., Kazaryan R.S., Avetisyan M.C., Sogomonyan L.R., Garibyan D.V. // Interactions of antitumor drugs mitoxantrone and ametantrone with DNA as determined from the changes in circular dichroism spectra. *Mol. Biophys.* 1998, 43, 398-402.
52. Agarwal Sh., Jangir D.K., Mehrotra R. // Spectroscopic studies of the effects of anticancer drug mitoxantrone interaction with calf-thymus DNA, *J. Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2013, 120, 177-182.
53. Glasel J. // Validity of nucleic acid purities monitored by 260 nm/280 nm absorbance ratios, *BioTechniques*, 1995, 18 62-63.
54. Вардеванян П.О. // Структурные переходы в ДНК и ДНК-белковых комплексах при различных функциональных состояниях генома. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. Ереван, 1990, 246.
55. Тищенко Е. И., Карапетян А.Т., Борисова О.Ф. // Гетерогенные комплексы бромистого этидия их и роль в стабилизации (dA)<sub>n</sub>-(dT)<sub>n</sub> структур. 1996, 30, 6,

1970-1377.

56. Lando D.Y., Fridman A.S., Chang Ch.-L., Grigoryan I.E., Galyuk E.N., Murashko O.N., Chen Ch. –Ch., Hu Ch -K // Determination of melting temperature and temperature melting range for DNA with multi-penk differential melting curves, *Analytical Biochem.*, 2015, 479, 28-36.
57. Martinez R., Chacon-Garcia L. // The search of DNA-intercalators as an antitumoral drugs: What it worked and what did not work. *Current Medicinal Chemistry*, 2005, 12, 127-151.
58. Bhattacharya J., Basu A., Kumar G.S. // Intercalative interaction of the anticancer drug mitoxantrone with double-stranded DNA: A calorimetric characterization of the energetics, *J. Chem. Thermodyn*, 2014, 75, 45-51.
59. Sasikala W.D., Mukherjee A. // Intercalation and de-intercalation pathway of proflavine through the minor and major grooves of DNA: roles of water and entropy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2013, 15, 6446–6455.
60. Graves D.E. and Velea Z. // Intercalative Binding of Small Molecules to `Nucleic Acids, *Org.Chem.* 2000, 4, 915-929.
61. Wilhelm M., Mukherjee A., Bouvier B., Zakrzewska K., Hynes J.T., Lavery R. // Multistep Drug Intercalation: Molecular Dynamics and Free Energy Studies of the Binding of Daunomycin to DNA. *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134, 8588–8596.
62. Karapetyan A.T, Mehrabian H.M., Terzikyan G.A., Antonyan A.P., Vardevanyan P.O. and Frank-Kamenetski M.D. // Theoretical and Experimental investigation of conformational transition of DNA with ligands having several types of binding sites of different from of DNA. in *Structure, Motion, Interaction and Expression of Biological macro Molecules*, Eds. R.A. Sarma and M.H. Sarma. Academic Press, 1998, 259-266.
63. Карапетян А.Т., Борисова О.Д., Щелкина А.К., Суровая А.Х. // Гетерогенность связывания бромистого этидия на ДНК. Флуоренцирующие и нефлуоренцирующие комплексы. *Молекуляр. Биология*, 1998, 32, 855-862.
64. Карапетян А.Т., Вардеванян П.О., Антонян А.П., Манукян Г.А., Щелкина А.К., Борисова О.Ф. // Связывание бромистого этидия с нативным и денатурированным polydA·polydT. *Молекуляр. Биология*, 2000, 34, 310-315.
65. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Davtyan H.G., Boyajyan Z.R. and Karapetyan A.T // Complex formation of Ethidium Bromide with poly[d(A-T)]·poly[d(A-T)]. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2005, 22, 465-470.

66. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Shahinyan M.A., Hambardzumyan L.A., Torosyan M.A. and Karapetyan A.T. // The influence of GC/AT composition on intercalating and semi-intercalating binding of Ethidium Bromide to DNA, *Braz. Chem. Soc.* 2012, 23, 2016-2020.
67. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Torosyan M.A., Karapetyan A.T. // Joint interaction of Ethidium Bromide and Methylene Blue with DNA. The effect of ionic strength on binding thermodynamic parameters, *J Biomol Struct Dyn*, 2016, 34, 7, 1377-1382.
68. Wanunu M., Tor Y. // *Methods for studying nucleic acids/drug interaction*. CRC Press, 2016, 392.
69. Торосян М.А. // Исследование избирательности связывания лигандов с АТ-ГС-пар оснований при помощи дифференциальной кривой плавления ДНК, *Биологический Журнал Армении*. LXVIII, 2016, 4, 81-84.
70. Karapetyan A.T., Torosyan M.A., Babayan Yu.S., Shahinyan M.A. // Thermostability of the mitoxantrone-DNA complexes irradiated by non-thermal millimeter Electromagnetic waves// *Armenian journal of physics*, 2016, 9, 2, 173-177.
71. Chaires J.B. // *Calorimetry and Thermodynamics in Drug Design*. *Annu. Rev. Biophys.*, 2008, 37, 135–151.
72. Karapetyan A.T., Torosyan M.T., Babayan Yu.S., Shahinyan M.A. // Mitoxantrone interaction with poly(G), *Pros. Yerevan State University, Phys. Math. Sci.*, 2015, 3, 49-54.
73. Paik D.H., Perkins T.T. // Dynamics and Multiple Stable Binding Modes of DNA Intercalators Revealed by Single-Molecule Force Spectroscopy. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, 51, 1811–1815.
74. Веселков А.Н., Барановский С.Ф., Дымант Л.Н., Петренко Н.В., Веселков Д.А., Такер А., Дэвис Д.Б. // Термодинамика взаимодействия ароматического лиганда с одноцепочечной ДНК: анализ комплексообразования бромистого этидия с некоплементарными изомерными дезокситетрануклеотидами 5'-d(CGAA) и 5'-d(AAGC) по данным <sup>1</sup>H-ЯМР. *Биополимеры и клетка*, 1997, 13, 100-107.
75. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Davtyan H.G., Karapetyan A.T., // The binding of ethidium bromide with DNA: Interaction with single- and double- stranded structures, *Exp. Mol. Medicine*, 2003, 35, 6, 527-533.
76. McKnight, R.E., Gleason, A.B., Keyes, J.A., and Sahabi, S. // Binding mode and affinity studies of DNA-binding agents using topoisomerase I DNA unwinding assay.

- Bioorg. Med. Chem. Lett., 2007, 17, 1013–1017.
77. Vekshin N. // Biophysics of DNA-antibiotic complexes. Nova Press. Inc. New-York., 2011.
  78. Skladonowski A., Konopa J. // Mitoxantrone and ametantrone induce interstand cross-links in DNA of tumour cell, Br. J. Cancer, 2000, 82, 7, 1300-1304.
  79. Dogra S., Awasthi P., Tripathi S., Pradeep T.P., Nair M.S., Barthwal R. // NMR-based structure of anticancer drug mitoxantrone stacked with terminal base pair of DNA hexamer sequence d-(ATGCAT)<sub>2</sub>, J. Biomol. Struc. Dyn., 2014, 32, 7, 1164-1183.
  80. Dogra S., Awasthi P., Nair M., Barthwal R. // Interaction of anticancer drug mitoxantrone with DNA hexamer sequence d-(CTCGAG)<sub>2</sub> by absorption, fluorescence and circular dichroism spectroscopy, J. Photochem. Photobiol. B., Biology, 2013, 123, 5, 48-54.
  81. Li N., Ma Y., Yang C., Guo L. and Yang X. // Interaction of anticancer drug mitoxantrone with DNA analyzed by electrochemical and spectroscopic methods, Biophysical. Chemistry, 2005, 116, 3, 199-205.
  82. Torosyan M.A. // Simple Method for Determining of the Thermodynamic Parameters of Ligand with Nucleic Acids Interaction // Armenian journal of Physics, 2017, 10, 1, 42-48.
  83. Торосян М.А. // Выявление избирательности связывания митоксантрона с АТ- и GC- парами методом спектрального поглощения // Биологический Журнал Армении. 2017, LXIX, 2, 76-81.
  84. Awasthi P., Dogra S., Barthwal R. // Multispectroscopic methods reveal different modes of interaction of anti-cancer drug mitoxantrone with poly(dG-dC)-poly(dG-dC) and poly(dA-dT)-poly(dA-dT), J. Photochem. PhotoBiol. B.:Biology, 2013, 127, 78-87.
  85. Vorlickova M., Kejnovska I., Sagi J., Renciuik D., Bednazova K., Moltova J., Kypr J. // Circular dichroism and Guanine quadruplexes, Methods, 2012, 57, 1, 64-75.
  86. Adrian M., Heddi B., Phan A.T. // NMR spectroscopy of G-quadruplexes, Methods, 2012, 57, 1, 11-24.
  87. Kim B.G., Shek Y.L., Chalikian T.V. // Polyelectrolyte effects in G-quadruplexes, Biophys. Chem. 2013, 184, 31, 95-100.
  88. Bochman M.L., Paeschke K., Zakian V.A. // DNA secondary structures: stability and function of G-quadruplexes structures, National Review of Genetics, 2012, 13, 11, 770-780.
  89. Holder I.T., Drescher M., Hartig J.S. // Structural characterization of quadruplex DNA

- with in cell EPR approaches, *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, 21, 20, 6156-6161.
90. Koeppel F., Rion J. F., Laoui A., Maillet P., Arimondo P.B., Labit D., Patitgenet O., Kelene C., Mergny J.L. // Ethidium derivatives bind to G-quartets, inhibit telomerase and act as fluorescent probes for quadruplex, *Nucl. Acids Res.* 2001, 29, 5, 1087-1096.
  91. Prislán I., Khutsishvili I., Marky L.A. // Interaction of minor groove ligands with G-quadruplexes: Thermodynamic contributions of the number of quartets, T-U substitutions and conformation, *Biochimie*, 2011, 93, 1341-1350.
  92. Armitage O.J. // The role of mitoxantrone in non-Hodgkin's lymphoma, *Oncology*, 2002, 7, 490-502.
  93. Zarudnaya M.I., Stepanyugin A.V., Hovorun A.L. // Electrophoretic study of conformational transition of poly(G) as a function of monovalent cations, *Biopolym. Cell*, 2007, 23, 2, 122-129.
  94. Alonso A., Almendral M.J., Curto Y., Criado J.J., Rodríguez E., Manzano J.L. // Determination of the DNA-binding characteristics of ethidium bromide, proflavine, and cisplatin by flow injection analysis: Usefulness in studies on antitumor drugs. *Analytical Biochemistry*, 2006, 355, 157-164.
  95. Вардеванян П.О., Антонян А.П., Давтян А.Г., Аракелян А.В., Минасян С.Г., Тавадян Л.А. // Применения метод дифференциальной импульсной вольтамперметрии в исследовании комплексов бромистого этидия с ДНК, *Биофизика*, 2005, 50, 2, 371-373.
  96. Wang X.M., Jiang X.L., Lu Z.H. and Chen H.Y. // Evidence of DNA-Ligand binding with different modes studied by Spectroscopy. *Chinese Chemical Letters*, 2000, 11, 2, 147-148.
  97. Babayan Y.S., Hakobyan S.N., Ghazaryan R.S., Shahinyan M.A. // Thermostability of DNA complexes with mitoxantrone at small fillings. *Biophys Rev and Lett.*, 2017, 12, 3, 141-149.
  98. Шугалий А.В., Франк-Каменецкий М.Д., Лазуркин Ю.С. // Блочная гетерогенность ДНК из тимуса теленка у *E. coli*, *Молекуляр. биология*, 1971, 5,5, 766-771.
  99. Gueron M., Demaret J.-Ph., Filoche M. // A unified theory of the B-Z transition of DNA in high and low concentrations of multivalent ions. *J. Biophysical*, 2000, 78, 1070-1083.

100. Sirajudin M., Ali S., Badshah A. // Drag – DNA interaction and their study by UV-Visible, fluorescence and cyclic voltammetry, J, Photochemical. Photobiol.B: Biology, 2013, 124, 5, 1-19.
101. Karapetyan A.T., Torosyan M.A., Babayan Yu.S. // Antitumor Drug Mitoxantrone Do Not Preclude Salt-driven B-Z Transition of Poly (dG-dC), Intern. J. Biochemistry and Biophysics, 2015, 3, 4, 49-53.
102. Zhang G., Hu X., Fu P. // Spectroscopic studies on the interaction between carbaryl and calf thymus DNA with the use of ethidium bromide as a fluorescence probe. Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology, 2012, 108, 53-61.
103. Xie H.P., Chu X., Jiang J.H., Cui H., Shen G.L., Yu R.Q. // Competitive interactions of adriamycin and ethidium bromide with DNA as studied by full rank parallel factor analysis of fluorescence three-way array data. Spectrochimica Acta (Part A), 2003, 59, 743-749.
104. Tsadikov O.V., Holbrook J.A., Shkel I.A., Record M.T. // Analytic binding isotherms describing competitive interactions of a protein ligand with specific and nonspecific sites on the same DNA oligomer. Biophys. J., 2001, 81, 1960-1969.
105. Vardevanyan P., Antonyan A., Parsadanyan M., Torosyan M., Karapetian A. // Joint interaction of Ethidium Bromide and Methylene Blue with DNA. The effect of ionic strength on binding thermodynamic parameters. J. Biomol. Struct. and Dyn., 2016, 34, 7, 1377-1382.
106. Nafisi Sh, Saboury A. A., Keramat N., Neault J. F., Tajmir-Riahi H.-A. // Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue. Journal of Molecular Structure, 2007, 827, 35-43.
107. Vardevanyan P., Antonyan A., Parsadanyan M., Shahinyan M., Melqonyan G. // Behavior of Ethidium bromide-Hoechst 33258-DNA and Ethidium bromide-Methylene blue-DNA triple systems by means UV melting. International Journal of Spectroscopy Volume 2015, Article ID 586231, 5, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/586231>
108. Hossain M., Giri P., Kumar G.S. // DNA Intercalation by Quinacrine and Methylene blue: A Comparative Binding and Thermodynamic Characterization Study. DNA and Cell Biology, 2008, 27, 2, 81-90.
109. Вардеванян П.О., Антонян А.П., Парсаданян М.А., Саакян В.Г. // Исследование совместного связывания акридинового аранжевого и бромистого этидия с ДНК. Доклады НАН РА, 2017, 117, 1, 74.

110. Aleksić M.M., Kapetanović V. // An overview of the optical and electrochemical methods for detection of DNA-drug interactions. *Acta Chim. Slov.*, 2014, 61, 555-573.
111. Вардеванян П.О., Антонян А.П. // Изучение комплексов ДНК с лигандами различной природы. *Биолог. Журнал Армении*, 2010, 3, 62, 50-58.
112. Antonyan A.P., Torosyan M.A., Parsadanyan M.A. // Study of Competitive interaction of ethidium bromide and mitoxantrone with nucleic acids. *Proc. Yerevan State University, Chem. Biol.*, 2018, 52, 1, 52-57.
113. Antonyan A.P., Torosyan M.A., Karapetyan A.T. // Interaction of different intercalators with DNA in three-component systems. *Biolog. J. of Armenia*, 2018, 70, 1, 6-11.
114. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Hambardzumyan L.A., Shaniyan M.A., Karapetian A.T. // Thermodynamic analysis of DNA complexes with methylene blue, ethidium bromide and Hoechst 33258. *Biopolymers and Cell*, 2013, 29, 6, 515-520.