

**ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՍՏԱՏՄԱՆ**

ՍԱՐԳԱՐՅԱՆ ԱԼԵՔՍԱՆ ՇԱՍԻԼԻ

**ՄԻԼԻՍԵՏՐԱՅԻՆ ԷԼԵԿՏՐԱՍԱԳՆԻՍԱԿԱՆ ԱԼԻՔՆԵՐՈՎ
ՃԱՌԱՎԱՅԹՎԱԾ ԴՆԹ-Ի ՀԵՏ ՈՐՈՇ ՑԱՅՐԱՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ
ՄԻԱՅՆԻԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԿՈՄՊԼԵՔՍՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ**

**Գ.00.02 - Կենսաֆիզիկա մասնագիտությամբ
ֆիզիկամաթեմատիկական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության**

ՍԵՂԱՍԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2013

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

МАРГАРЯН АЛЕКСАН ՇԱՄԻԼԵՎԻЧ

**ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПЛЕКСОВ НЕКОТОРЫХ
НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ДНК ОБЛУЧЕННОЙ
МИЛЛИМЕТРОВЫМИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМИ ВОЛНАМИ**

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук по специальности
03.00.02 - Биофизика**

ЕРЕВАН 2013

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում

Գիտական դեկավար՝

Փիզմաթ. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր,
Յու.Ս. Բաբայան

Պաշտոնական ընդիմախոսներ՝

Փիզմաթ. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր,
Ա.Թ. Կարապետյան
Փիզմաթ. գիտ. թեկնածու, դոցենտ,
Ա.Հ. Մակարյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

ՀՀ ԳԱԱ Ռադիոֆիզիկայի և
Էլեկտրոնիկայի ինստիտուտ

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2013թ. նոյեմբերի 15-ին ժամը 14⁰⁰-ին, Երևանի պետական համալսարանում զործող ՀՀ ԲՈՀ-ի Կենսաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան փ. 1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2013թ. հոկտեմբերի 14-ին:

051 Մասնագիտական խորհրդի գիտական
քարտուղար, կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր

Լ.Հ. Նավասարդյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете

Научный руководитель: доктор физ.-мат. наук, профессор
Ю.С. Бабаян

Официальные оппоненты: доктор физ.-мат. наук, профессор
А.Т. Карапетян
кандидат физ.-мат. наук, доцент
А.О. Макарян

Ведущая организация Институт радиофизики и электроники
НАН РА

Защита диссертации состоится 15-го ноября 2013г., в 14⁰⁰ часов, на заседании Специализированного совета Биофизики 051 ВАК РА при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, ул. Алекса Манукяна 1, ЕГУ, биологический факультет).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.

Автореферат диссертации разослан 14-го октября 2013г.

Ученый секретарь Специализированного совета 051,
доктор биол. наук, профессор

Л.А. Навасардян

Ներածություն

Հիմնախմբի արդիականությունը. Կենսահական աշխարհը իր կենսագործունեության ողջ ընթացքում գտնվում է ցածր ինտեսիվության դաշտերի ազդեցության ներքո: Գիտության և տեխնիկայի զարգացման հետևանքով անընդհատ աճում են այն սարքերի քանակները և տեսակները, որոնք մեզ շրջապատող տարածության մեջ ճառագայթում են տարրեր հաճախության և ինտենսիվության էլեկտրամագնիսական ալիքներ՝ փոխելով նրա էլեկտրական վիճակը: Այս տեսանկյունից հարկ է նշել հեռահաղորդականության նոր կապի (բջջային հեռախոսներ) մուտքը մեր կենցաղ, որոնք ճառագայթում են միլիմետրային կամ սանտիմետրային տիրույթի էլեկտրամագնիսական ալիքներ, ուստի կարևոր է ուսումնասիրել միլիմետրային տիրույթի ոչ ջերմային էլեկտրամագնիսական ալիքների ազդեցությունը կենդանի համակարգերի վրա:

Նշենք, որ մի շարք կենսահամակարգերի կենսագործունեության ոիքմերի ռեզոնանսային հաճախությունները գտնվում են բարձր հաճախային $0.1 \div 10^6$ ԳՀց տիրույթում, հետևաբար, նրանք անընդհատ ենթարկվում են արտաքին դաշտերի ազդեցությանը:

Հայտնի է, որ ոչ ջերմային ցածր ինտենսիվության միլիմետրային էլեկտրամագնիսական (ՍԷՄ) ալիքները կենդանի համակարգերի վրա ունեն զգալի ազդեցություններ: Փորձերը և դիտումները ցույց են տվել, որ կախված ճառագայթման հաճախությունից՝ ՍԷՄ ալիքները կենսահամակարգերի վրա կարող են ունենալ տարրեր բնույթի (դրական և բացասական) ազդեցություններ:

Ներկայումս գիտնականները ավելի շատ հակված են այն ենթադրությանը, որ կենսահամակարգերի վրա ոչ ջերմային ՍԷՄ ալիքների ազդեցությունը պայմանավորված է ջրի վրա նրանց ունեցած ազդեցությամբ: Վերջին տարիներին կատարված հետազոտություններից կարելի է ենթադրել, որ կենսահամակարգերում ՍԷՄ ալիքները ջրի մոլեկուլների կարգավորված կառուցվածքների միջոցով բափանցում են հյուսվածքի ավելի խորը շերտերը, որով և պայմանավորում է նրանց ազդեցությունը կենսահամակարգերի վրա: Չնայած նշված ոլորտում կատարված աշխատանքների բազմազանությանը, կարելի է նկատել, որ ոչ ջերմային ՍԷՄ ալիքներով ճառագայթված նույլեինաթրունների վրա կենսաբանական ակտիվ միացությունների ադսորբցիային նվիրված աշխատանքները խիստ սակավաթիվ են և հակասական:

Աշխատանքի նպատակը և խնդիրները. Ատենախոսական աշխատանքի նպատակն է եղել պարզաբանել ՍԷՄ ալիքներով ճառագայթված նույլեինաթրունների փոխազդեցության մի շարք հակառակուցքային (միտոքանտուրոն, ամետանտրոն, դոքսոռութիցին, նետրոպին) և կանցերոգեն (էթիդիում բրոմիդ) ցածրամոլեկուլային միացությունների հետ:

Համաձայն առաջարկված նպատակի, ձևակերպված են հետազոտության հիմնական խնդիրները.

- ուսումնասիրել թվարկված ցածրամոլեկուլային միացությունների փոխազդեցությունը ջրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների ռեզոնանսային հաճախություններով ճառագայթված կրկնակի

- պարուրային նուկլեինաքթուների հետ հալման դիֆերենցիալ կորերի կենտրոնական մոմենտների միջոցով,
- նուկլեինաքթուների հետ կապված ցածրամոլեկուլային միացությունների դիսպերսիոն անալիզի միջոցով որոշել կապման հաստատունի և կոմպլեքսագոյացման հետևանքով համակարգի թերմոդինամիկական պարամետրերի փոփոխության արժեքները:
 - ուսումնասիրել միտոքսանտրոնի, ամետատրոնի, դոքսոռուբիցինի, նետրոպինի և էթիդիում բրոմիդի աղսորբցիան ջրի ռեզոնանսային և ոչ ռեզոնանսային հաճախություններով ճառագայթված կրկնակի պարուրային նուկլեինաքթուների վրա:

Աշխատանքի գիտական նորույթը. Աշխատանքում առաջին անգամ ուսումնասիրվել է ջրի հեքսագոնալ կառուցվածքի տատանումների ռեզոնանսային (50.3ԳՀց), տրիադների (հեքսագոնալ կառուցվածքի շրջակայքում գտնվող ջրի ազատ մոլեկուլների) տատանումների ռեզոնանսային (64.5ԳՀց) և ոչ ռեզոնանսայինք (48.3ԳՀց) հաճախություններով ճառագայթված կրկնակի պարուրային նուկլեինաքթուների փոխազդեցությունը մի շարք ցածրամոլեկուլային միացությունների հետ: Որոշվել են կոմպլեքսագոյացման հետևանքով համակարգի էնթալպիայի, Գիբսի ազատ էներգիայի և էնթրոպիայի փոփոխության արժեքները:

Ստացված տվյալներից հետևում է, որ

- հալման դիֆերենցիալ կորերի կենտրոնական մոմենտների և խտաշափության միջոցով կարելի է պարզաբանել ՍԷՄ ազդեցությունը կրկնակի պարուրային նուկլեինաքթուների վրա,
- առաջարկված է կապման թերմոդինամիկական պարամետրերի որոշման նոր մեթոդ, որի հիմքում դրված է փոքր հագեցումների դեպքում աղսորբցիայի իզոթերմերի վերլուծությունը,
- գուանին ինոզին մուտացիայի հետևանքով, չնայած ԴՆԹ մոլեկուլի վրա գոյանում են կառուցվածքային համեմատաբար անկայուն տեղամասեր, միտոքսանտրոնի և էթիդիում բրոմիդի ԴՆԹ-ի հետ կապման հաստատունները նվազում են. աճում են ԴՆԹ-ի գույգ հիմքերի հետ կապված ցածրամոլեկուլային միացությունների թիվը,
- ջրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների ռեզոնանսային 50.3 և 64.5 ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթված ԴՆԹ-ի հետ ուսումնասիրված ցածրամոլեկուլային միացությունները առաջանում են ավելի կայուն կոմպլեքս (մեծանում է կապման հաստատունը և թերմոդինամիկական փոփոխության բացարձակ արժեքները), համարյա անփոփոխ ո-ի դեպքում:

Աշխատանքի գործնական նշանակությունը. Աշխատանքի գործնական նշանակությունը կայանում է նրանում, որ ստացված արդյունքները կրում են հիմնարար բնույթ և կարող են կիրառվել գործնական բժշկության մեջ հակառակուցքային դեղամիջոցների էֆեկտիվության մեծացման համար: Ստացված գիտական տվյալների վերլուծությունը բացահայտում է ՍԷՄ ալիքների հակառակուցքային էֆեկտիվությունը: Աշխատանքում ստացված արդյունքները հետագայում կարելի է օգտագործել հակառակուցքային դեղամիջոցների օգտագործման նոր սխեմաների մշակման գործընթացում:

Ստացված արդյունքները կարող են ներգրավել ԵՊՀ-ի մի շարք ամբիոններում կարդացվող հասուն դասընթացներում:

Պաշպանության առաջադրված ատենախոսության հիմնադրույթները:

Պաշպանության են առաջադրվել ատենախոսության հետևյալ դրույթները.

- Կրկնակի պարուրային նուկլեինաթթվի վրա ցածր ինտեսիվության (ոչ ջերմային) ՄԷՄ ալիքների ազդեցության պարզաբանումը հալման դիֆերենցիալ կորերի կենտրոնական մոմենտների և նուկլեինաթթուների լուծույթի խտության չափման եղանակներով:
- Զրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների ռեզոնանսային հաճախություններով ճառագայթված կրկնակի պարուրային նուկլեինաթթուները տարբեր մեխանիզմներով փոխազդող ցածրամոլեկուլային միացությունների հետ առաջացնում են ավելի ամուր կոմպլեքսներ:
- Առաջարկված է նոր մեթոդ, որը թույլ է տալիս հաշվել կապման հաստատունի և, հետևաբար կապման թերմոդինամիկական պարամետրերը թույլ կապման դեպքում, երբ կապման իզոթերմերի ստացումը համընդհանուր ընդունված եղանակով հնարավոր չէ.
- Գուանին ինոգին մոդիֆիկացիայի հետևանքով ինտերկալյացիոն մեխանիզմով փոխազդող ցածրամոլեկուլային միացությունները՝ ԴՆԹ-ի հետ ավելի թույլ են կապվում:

Ատենախոսության փորձարկնությունը. Աշխատանքի հիմնական արդյունքները քննարկել են ԵՊՀ կենսաֆիզիկայի և մոլեկուլային ֆիզիկայի ամբիոնների սեմինարներում և հետևյալ գիտական կոնֆերանսներում՝ 13th, 14th, 15th Conference on Structure Biology (Albany, USA, 2003, 2005, 2007), “International Symposium on Hydration a Thermodynamics of molecular recognition” (Ծաղկաձոր, 2005), “Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology and evolution” (Երևան, 2005), Երևանի Մ. Հերացու անվան բժշկական համալսարան, գիտաժողովի նյութեր (Երևան, 2007):

Հրատարակված աշխատանքները. Հետազոտության հիմնական արդյունքները արտացոլված են 12 գիտական հրատարակություններում:

Աշխատանքի կառուցվածքը և ծավալը. Ատենախոսական աշխատանքը կազմված է ներածությունից, գրական ակնարկից, փորձարարական մասից, ստացված արդյունքներից և դրանց քննարկումից, ամփոփումից, եղրակացություններից, օգտագործված գրականության ցանկից, որի մեջ ներառվում են 114 անուն հղումներ: Աշխատանքում ներկայացված են 16 նկարներ, աղյուսակներ: Այն շարադրված է 121 տպագրական էջերի վրա:

Հետազոտության նյութերը և մեթոդները

Փորձարարական մեթոդները.

ա) Սպեկտրոֆոտոմետրիա. Կրկնակի պարուրային նուկլեինաթթուների կլանման սպեկտրները և հալման կորերը ստացվել են PYE UNICAM SP8-100 (Անգլիա) և SPECORD M40 (Գերմանիա) սպեկտրոֆոտոմետրերի միջոցով: Հալման պրոցեսը իրականացվել է կվարցե հերմետիկ փակված 0,5 և 1սմ հաստությամբ կյուվետներում, ջերմաստիճանը անընդհատ 0,3 աստ./րոպե արագությամբ $20^{\circ}\div 95^{\circ}$ տիրույթում բարձրացնելիս: Զերմաստիճանը որոշվել է

$\pm 0,05^{\circ}\text{C}$, իսկ օպտիկական խտությունը $\pm 10^{-4}$ օպտիկական միավոր ճշությամբ:

թ) Սպեկտրոֆլուորիմետրիա. Ֆլուորեսցենցիայի սպեկտրները ստացվել են “Perkin Elmer MPF-3L” (Ըվելիա) ֆլուորիմետրի միջոցով:

զ) Հալման դիֆերենցիալ կորերի (ՀԴԿ) ստացումը. ՀԴԿ-երը ստացվել են հալման կորերից թվային դիֆերենցման միջոցով:

դ) Խտաչափություն (դենսիտոմետրիա). Նուկլեինաքրումների լուծույթների խտությունները որոշվել են DMA 4500 Anton Paur (Ավստրիա) խտաչափի միջոցով:

ե) Լուծույթների ճառագայթումը իրականացվել է հատուկ ապակե անոթում: Ճառագայթվող լուծույթի շերտի հաստությունը կազմում է մոտավորապես 1 մմ: Հետազոտվող կենսահամակարգերը ՍԷՄ ալիքներով ճառագայթելու համար կիրառվել են գերբարձր հաճախային ազդանշանների աղբյուր $\Gamma 4\text{-}141$ և $\Gamma 4\text{-}142$ գեներատորներ, որի ելքում միացած է կոնաձև ճառագայթիչ անտեսան: $\Gamma 4\text{-}141$ գեներատորի հաճախությունների տիրույթն է $37.5\text{Q}\angle g\text{-}53.57\text{Q}\angle g$ (60մկՎտ/սմ^2 հոսքի խտությամբ), իսկ $\Gamma 4\text{-}142$ -ը $53.3\text{Q}\angle g\text{-}78.33\text{Q}\angle g$ (50մկՎտ/սմ^2 հոսքի խտությամբ):

Օգտագործված նյութերը: Ատենախոսական աշխատանքում օգտագործվել է սինթետիկ կրկնակի պարուրային պոլինուկլեոտիդներ՝ պոլի(G) պոլի(C), պոլի[d(G-C)]-պոլի[d(G-C)], պոլի[d(I-C)].-պոլի[d(I-C)] (“P.L. Biochemicals”) և հորթի թիմուսից անջատված ԴՆԹ (“Sigma”) ֆիրմայի: Չափումները կատարվել են 0.1U և 10մկU Տրիս բուֆերում, որի pH-ը 7.5 է: Նմուշների կոնցենտրացիան որոշվել օգտագործելով կլանման հետևյալ արժեքները. պոլի[d(I-C)]. պոլի[d(I-C)] $\cdot \varepsilon_{251}(P)=6900$; պոլի[d(G-C)] պոլի[d(G-C)] $\cdot \varepsilon_{254}(P)=7100$; հորթի թիմուսից անջատված ԴՆԹ $\cdot \varepsilon_{260}(P)=6550$, պոլի(G)-պոլի(C) $\cdot \varepsilon_{260}(P)=7900$: Օգտագործվել են նաև հետևյալ ցածրամոլեկուլային միացությունները. Էթիդիումի բրոմիդ, միտոքանտրոն, ամետանտրոն, նետրոպասին և դրսոռութիցին: Բոլոր միացությունները “Farmitalia” ֆիրմայի նյութեր են: Նրանց կոնցենտրացիաները որոշվել է սպեկտրոֆոտոմետրիայի եղանակով օգտագործելով կլանման մոլային գործակցի հետևյալ արժեքները $\text{U}^{-1}\text{սմ}^{-1}$ միավորով՝ էթիդիում բրոմիդ ($\varepsilon_{480}=5880$), միտոքանտրոն ($\varepsilon_{665}=20900$), ամետանտրոն ($\varepsilon_{630}=21000$), նետրոպասին ($\varepsilon_{296}=21500$): Դրսոռութիցինի կոնցենտրացիան որոշվել է կշռելու միջոցով: Իրականացվել է ստացված արդյունքների վիճակագրական մշակում:

Ցածր ինտենսիվության միջմետրային էլեկտրամագնիսական ալիքներով ճառագայթված կրկնակի պարուրային նուկլեինաքրումների հետ մի շարք կենսաբանական ակտիվ միացությունների կոմպլեքսների ուսումնասիրությունը

Հալման դիֆերենցիալ կորերի կենտրոնական մոմենտների հաշվարկը: Բլոկային կառուցվածքով ԴՆԹ-ն հարմար է նկարագրել ՀԴԿ միջոցով: ԴՆԹ-ի հետ կենսաբանական ակտիվ միացությունների փոխազդեցության հետևանքով փոխվում է ՀԴԿ-ի տեսքը: Հետևաբար, հաշվելով ՀԴԿ

կենտրոնական մոմենտները, կարելի է գաղափար կազմել այդ փոխազդեցության հետևանքով ԴՆԹ-ի կառուցվածքի և կայունության փոփոխության վերաբերյալ:

ՀԴԿ-ի առաջին կենտրոնական մոմենտի սահմանման համաձայն

$$M_1 = \int_{-\infty}^{\infty} [-V'_T(T)] \cdot T dT = \sum_{l=1}^n S_l T_l \quad (1)$$

M_2 երկրորդ կարգի կենտրոնական մոմենտը կորոշվի

$$M_2 = \int_{-\infty}^{\infty} (T - M_1)^2 [-V'_T(T)] \cdot dT = \sum_{l=1}^n S_l \sigma_l^2 + \sum_{l=1}^n S_l T_l^2 - M_1^2 \quad (2)$$

M_3 երրորդ կարգի կենտրոնական մոմենտը կորոշվի

$$M_3 = \int_{-\infty}^{\infty} (T - M_1)^3 [-V'(T)] \cdot dT = 3 \sum_{l=1}^n T_l S_l \sigma_l^2 + \sum_{l=1}^n S_l T_l^3 - 3M_1 \sum_{l=1}^n S_l \sigma_l^2 - 3M_1^2 \sum_{l=1}^n T_l^2 S_l + 2M_1^3 \quad (3)$$

M_4 չորրորդ կարգի կենտրոնական մոմենտը կորոշվի

$$\begin{aligned} M_4 = & \int_{-\infty}^{\infty} (T - M_1)^4 [-V'_T(T)] \cdot dT = 3 \sum_{l=1}^n S_e \sigma_e^4 + 6 \sum_{l=1}^n T_e^2 S_e \sigma_e^2 + \sum_{l=1}^n T_e^4 S_e - 12M_1 \sum_{l=1}^n T_e S_e \sigma_e^2 - \\ & - 4M_1 \sum_{l=1}^n T_e^3 S_e + 6M_1^2 \sum_{l=1}^n S_e \sigma_e^2 + 6M_1^2 \sum_{l=1}^n S_e T_e^2 - 3M_1^4 \end{aligned} \quad (4)$$

Կենտրոնական մոմենտի M_2 արժեքը որոշում է ԴՆԹ-ի ՀԴԿ-ի միջնքառակուսային շեղումը (σ) համաձայն (5) բանաձևի և որով որոշվում է նաև հալման միջակայքը:

$$\sigma = \sqrt{M_2}; \Delta T = \sqrt{2\pi} \cdot \sigma = \sqrt{2\pi M_2} \quad (5)$$

Կենտրոնական մոմենտի M_3 արժեքը որոշում է ԴՆԹ-ի ՀԴԿ-ի ասիմետրիան, որը անմիջական կապված է ԴՆԹ-ում նուկլեոտիդների բաշխումից

$$A_C = \frac{M_3}{\sigma^4} \quad (6)$$

Կենտրոնական մոմենտի M_4 արժեքը որոշում է, թե ՀԴԿ-ը իր սրությամբ որքանով է տարբերվում Գառուսայի կորից

$$E_K = \frac{M_4}{\sigma^4} - 3 \quad (7)$$

Եթե $E_k > 0$, ապա ՀԴԿ-ը ավելի սուր է գառուսայի կորից, այսինքն, բլոկերը իրարից ավելի քիչ են տարբերվում միջին GC պարունակությամբ:

Իսկ եթե $E_k < 0$, ապա ՀԴԿ-ը գառուսի կորից ավելի փոփած է, այսինքն, ԴՆԹ-ում բլոկերը իրարից խիստ տարբերվում են GC պարունակությամբ:

ԴՆԹ մոլեկուլի վրա ՍԷՄ ալիքների ազդեցության ուսումնասիրությունը հալման դիֆերենցիալ կորերի և խտաչափության միջոցով. Ուսումնասիրվել է կոհերենտ 50.3գՀz; 64.5գՀz և 48.3գՀz հաճախություններով ՍԷՄ ալիքների ազդեցությունը ԴՆԹ-ի ջերմակայունության և նուկլեինաքայլի ջրա-աղային լուծույթի խտության վրա: ԴՆԹ-ի լուծույթները ճառագայթվել են ՍԷՄ ալիքներով 30, 60 և 90 րոպե տևողությամբ, որից հետո ստացվել են շճառագայթված և ճառագայթված ԴՆԹ-ի հալման կորերը: Հալման կորերից որոշվել են հալման պարամետրերը՝ ջերմաստիճանը և միջակայքը: Փորձերը ցույց են տվել, որ ջրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների

ոեզնանսային հաճախություններով ճառագայթելիս աճում է հալման ջերմաստիճանը ($\sim 1,1^{\circ}\text{C}$), նվազում է հալման միջակայքը ($\sim 0,5^{\circ}\text{C}$) և աճում է լուծույթի խտությունը ($\sim 9 \times 10^{-5} \text{ g}/\text{m}^3$) (աղյուսակ 1):

Աղյուսակ 1.

Նուկլեինաթթվի լուծույթի խտությունը՝ չափված 20°C ջերմաստիճանում և $\text{T}_{\text{h}}\text{-ի}$ հալման պարամետրերի արժեքները 64.5ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթման դեպքում (աղյուսակում բերված արժեքները ներկայացնում են 6 չափումների միջին արժեքներ)

T_{h} -ի լուծույթի բնութագրերը	ճառագայթման տևողությունը (րոպե)			
	0	30	60	90
խտությունը՝ ρ (g/m^3)	0.99922	0.99924	0.99928	0.99931
հալման ջերմաստիճան $T_{\text{h}}(^{\circ}\text{C})$	69.3 ± 0.1	69.4 ± 0.1	70.0 ± 0.1	70.4 ± 0.1
հալման միջակայքը $\Delta T(^{\circ}\text{C})$	7.2 ± 0.1	7.0 ± 0.1	6.9 ± 0.1	6.7 ± 0.1
պոլի(G)պոլի(C) լուծույթի խտությունը՝ ρ (g/m^3)	0.99924	0.99927	0.99929	0.99934

Միաժամանակ՝ ոչ ոեզնանսային (օրինակ՝ 48.3ԳՀց) հաճախություններով ճառագայթելիս, նշված պարամետրերի փոփոխությունները գտնվում են չափման սխալի սահմաններում:

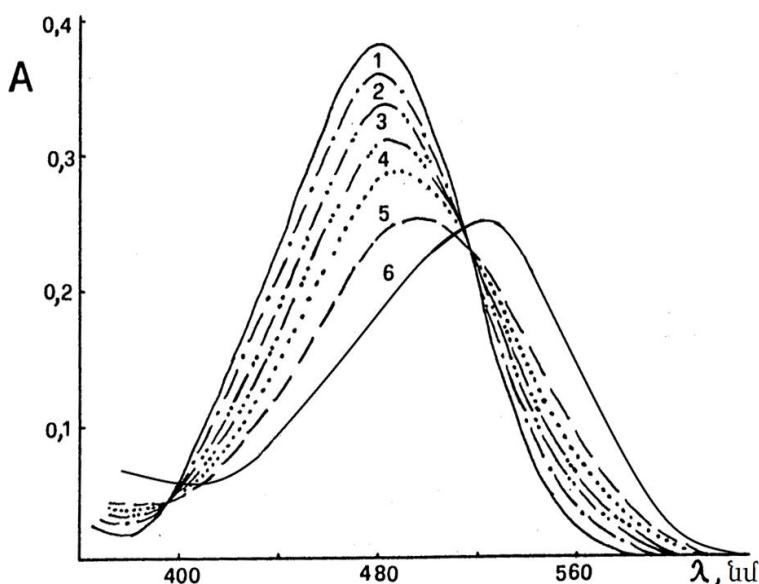
Ենթադրվում է, որ կոհերենս ոեզնանսային ՍԷՄ ալիքներով ճառագայթելիս կատարվում է ջրում լուծված իոնների և կրկնակի պարուրային նուկլեինաթթվի դեփուրատացիա, որի հետևանքով փոքրանում են T_{h} -ի բացասական լիցքերը էլեկտրական ավելի էֆեկտիվ են էլեկտրական ավելի շատ են տեղաշարությունը, որը մեր փորձերում բնութագրվում է հալման ջերմաստիճանով:

Փորձերը ցույց են տալիս, որ 90 րոպե 64.5ԳՀց կամ 50.3°C ալիքներով ճառագայթման դեպքում ZnCl_2 -ը տեղաշարժվում է դեպի բարձր ջերմաստիճանային տիրույթ, միաժամանակ, T_{h} -ի AT-ով հարուստ տեղամասերը GC տեղամասերի նկատմամբ ավելի շատ են տեղաշարժվում:

Որոշվել են 50.3°C ԳՀց հաճախությամբ ՍԷՄ ալիքներով ճառագայթված հորթի թիմուսի T_{h} -ի ZnCl_2 -ներից (1)-(4) բանաձևերով հաշված M_1 , M_2 , M_3 և M_4 կենտրոնական մոմենտների արժեքները՝ կախված ճառագայթման տևողությունից: (5)-(7) բանաձևերի միջոցով որոշվել են ZnCl_2 -ը բնութագրող T_{h} , ΔT , A_c և E_c պարամետրերի արժեքները, որից հետևում է, որ ջրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների ոեզնանսային հաճախություններով T_{h} -ի ջրա-աղային լուծույթը ճառագայթելիս T_{h} -ի AT և GC զույգ ազոտային հիմքերի ջերմակայունությունը աճում է տարբեր չափով. ավելի հիդրատացված AT հիմքերի կայունությունը ավելի շատ է մեծանում, քանի համեմատաբար քիչ ջրի մոլեկուլներ կապված GC զույգ հիմքերի ջերմակայունությանը: Միաժամանակ, ճառագայթման

տևողությունից կախված փոխսպում են նաև A_c և E_k պարամետրերի արժեքները, որոնք բնութագրում են ՀԴԿ-ի տեսքի փոփոխությունը:

Պոլիմուկլեռտիդների վրա ցածրամոլեկուլային միացությունների աղտորքիայի նկարագրությունը փոքր հազեցումների դեպքում. Փորձնական տվյալներից հնարավոր է հաշվել կոմպլեքսագոյացման հետևանքով համակարգի թերմոդինամիկական պարամետրերի փոփոխությունները, եթե հայտնի է լրիվ հազեցած կոմպլեքսների ֆիզիկական բնութագրերը: Ըստ հաճախ կապման պրոցեսը այնքան թույլ է, որ անհնար է որոշել լրիվ կապված վիճակի ֆիզիկական պարամետրերը: Այդ պատճառով փորձնական տվյալներով կառուցված, կապման իզոթերմներից որոշված կապման պարամետրերի արժեքները շատ մոտավոր են: Ուսումնասիրենք էթիդիում բրոմիդի և պոլի(G)-պոլի(C) պոլիուրիդնուկլեոտիդի կապման պրոցեսը և որոշենք կապման պարամետրերը: Փորձերը ցույց են տվել, որ պոլի(G)-պոլի(C) կրկնակի պարուրային պոլիուրիդնուկլեոտիդը էթիդիում բրոմիդի հետ փոխազդում է ինտերկալյացիոն եղանակով, միաժամանակ, լուծույթում առկա են ազատ էթիդիում բրոմիդի մոլեկուլներ, նույնիսկ երբ պոլիմուկլեռտիդի կոնցենտրացիան մոտ հարյուր անգամ գերազանցում է էթիդիում բրոմիդի կոնցենտրացիայից (նկ. 1):



Նկ. 1. Էթիդիումի բրոմիդի կլանման սպեկտրները պոլի(G)-պոլի(C)-ի հետ կոմպլեքսագոյացման ժամանակ: Պոլի(G)-պոլի(C)-ի կոնցենտրացիան լուծույթում կազմում է $C_p=8.65 \cdot 10^{-5}$ (1), $2.3 \cdot 10^{-4}$ (2), $4.1 \cdot 10^{-4}$ (3), $8 \cdot 10^{-4}$ (4), $2 \cdot 10^{-3}$ (5) և $1.2 \cdot 10^{-2}$ M (6): Տիտրացիայի պրոցեսում էթիդիումի բրոմիդի կոնցենտրացիան հաստատում է ($C_0=1.4 \cdot 10^{-4}$ M):

Որոշենք պոլի(G)-պոլի(C) պոլիմուկլեռտիդի հետ էթիդիում բրոմիդի կապման պարամետրերը, նուկլեինաքրվի հետ կապված էթիդիում բրոմիդի դիսպերսիոն անալիզի միջոցով: Զափումները կատարվել են 10 μM Տրիս բուֆեր рН 7.5 (0.1M NaCl, 0.5 mM ԷДТА) պարունակող ջրային լուծույթներում, սենյակային ջերմաստիճանում: Էթիդիում բրոմիդի մոլեկուլների ինքնաասոցիացիան բացառելու համար չափումները կատարվել են էթիդիում բրոմիդի $C_0 \leq 2 \cdot 10^{-4}$ M կոնցենտրացիաների դեպքում: Ցածրամոլեկուլային նյութերի աղտորքիան

կրկնակի պարույրային նուկլեինաթթուների վրա հարմար է նկարագրել (8) բանաձևով:

$$\frac{r}{C_f} = K \left(\frac{1-nr}{1-(n-1)r} \right)^n (1-(n-1)r) \quad (8)$$

Որտեղ k և n պարամետրերը բնութագրում են կոմպլեքսը: k -ն կոչվում է կապման հաստատուն, n -ը բնութագրում է, թե կոմպլեքսագոյացման հազեցման դեպքում քանի մոնոմերային միավորների հետ է կապվում ցածրամոլեկուլային միացության մեկ մոլեկուլը: $r = \frac{C_b}{C_p}$; որտեղ C_p -ն ներկայացնում է նուկլեինաթթվի կոնցենտրացիան, իսկ C_b -ն՝ նուկլեինաթթվի հետ կապված միացության կոնցենտրացիան:

Հայտնի է, որ ինտերկալյացիոն փոխազդեցության հազեցման ժամանակ երկու գույգ նուկլեոտիդների հետ կապվում է էթիդիում բրոմիդի մեկ մոլեկուլ ($n=2$): Այս դեպքում, (8) կապման իզոթերմը պարզեցվում է և ստանում հետևյալ տեսքը.

$$\frac{r}{C_f} = K \frac{(1-2r)^2}{1-r} \quad (9)$$

Կապված տեղերի մասը նշանակենք P -ով, $p = \frac{C_b}{C_p/2} = \frac{2C_b}{C_p} = 2r$:

(9) հավասարման մեջ r -ից անցնենք P -ի և հաշվարկենք P -ի արժեքը:

$$P = 1 - \frac{1}{\sqrt{1 + 4KC_f}}$$

Քանի որ էթիդիում բրոմիդի յուրաքանչյուր մոլեկուլի փոխազդեցությունը նուկլեինաթթվի հետ կատարվում է մյուսից անկախ, ապա կարելի է հաշվել պոլինուկլեոտիդի հետ կապված էթիդիում բրոմիդի դիսպերսիան $\overline{\Delta C_b^2}$: Համաձայն հավանականության տեսության

$$\overline{\Delta C_b^2} = P(1-P) \frac{C_p}{2} = \frac{C_p (\sqrt{1 + 4KC_f} - 1)}{2(1 + 4KC_f)} \quad (10)$$

(10)-ից հետևում է, որ $\overline{\Delta C_b^2}$ դիսպերսիայի կախումը ազատ ցածրամոլեկուլային միացության C_f կոնցենտրացիայից ներկայացնում է մաքսիմումով կոր, որտեղից հետևում է, որ $K = \frac{3}{4C_f}$: Փորձնական արդյունքներից հետևում է, որ

պոլի(G)պոլի(C)-էթիդիում բրոմիդ կոմպլեքսի համար $K = 1.5 \cdot 10^3 \text{U}^{-1}$:

Էթիդիում բրոմիդի փոխազդեցությունը ջրի ռեզոնանսային և ոչ ռեզոնանսային հաճախություններով ճառագայթված պոլի [d(G-C)]-պոլի [d(G-C)] ու պոլի [d(I-C)]-պոլի [d(I-C)] պոլինուկլեոտիդների հետ. Հայտնի է, որ կենդանի համակարգերում ընթացող մի շարք պրոցեսների արդյունքում $\Gamma_{\text{ՆՇ}}$ մոլեկուլում կատարվում են մուտացիաներ, որի հետևանքով կարող է փոխվել տարրեր կենսաբանական ակտիվ միացությունների հետ կոմպլեքսագոյացման թերմոդինամիկական պարամետրերը: Մասնավորապես, գուանինը կարող է փոխակերպվել իոնինի (I), որի

արդյունքում ինոզիմ-ցիտոզին (IC) գույգ հիմքերի միջև ի տարրերություն GC-ի, որտեղ իրականանում են 3 ջրածնային կապեր, առաջանում են 2 ջրածնային կապեր: IC գույգ ազոտային հիմքերը ԴՆԹ մոլեկուլի կրկնակի աջ պարուրային կառուցվածքում առաջանում են հարաբերականորեն անկայուն տեղամասեր, որի հետևանքով կենսաբանական ակտիվ միացությունների և ՍԷՄ ճառագայթումը կարող են ավելի մեծ փոփոխություններ առաջացնել ԴՆԹ-ի կառուցվածքում: Ստացվել են չճառագայթված և 60 ու 90 րոպե ճառագայթված պոլի [d(G-C)]-պոլի[d(G-C)] ու պոլի [d(I-C)]-պոլի[d(I-C)] պոլինուկլեոտիդների հետ էթիդիումի բրոմիդի կոմպլեքսների կլանման և ֆլյուորեսցենցիայի սպեկտրները՝ սպեկտրի տեսանելի տիրույթում (որտեղ պոլինուկլեոտիդները չեն կլանում) էթիդիումի բրոմիդի տարրեր հարաբերական կոնցենտրացիաների դեպքում:

Ֆլյուորեսցենցիայի սպեկտրներից որոշվել է էթիդիումի բրոմիդի հետ պոլինուկլեոտիդների կեմպլեքսների թերմոդինամիկական պարամետրերի փոփոխությունները (Ակ. 2): Կապման իզոթերմները ստացվել են էթիդիումի բրոմիդի $C_0=10^{-5}$ Մ կոնցենտրացիայի համար. այդ կոնցենտրացիայի դեպքում էթիդիումի բրոմիդի մոլեկուլների ինքնակամ դիմերիզացիան կարելի է անտեսել: (11) բանաձևերի միջոցով որոշվել է լուծույթում ազատ (C_f) և կապված (C_b) էթիդիումի բրոմիդի կոնցենտրացիան

$$C_b = \frac{F - F_f}{F_b - F_f}; \quad C_b + C_f = C_0 \quad (11)$$

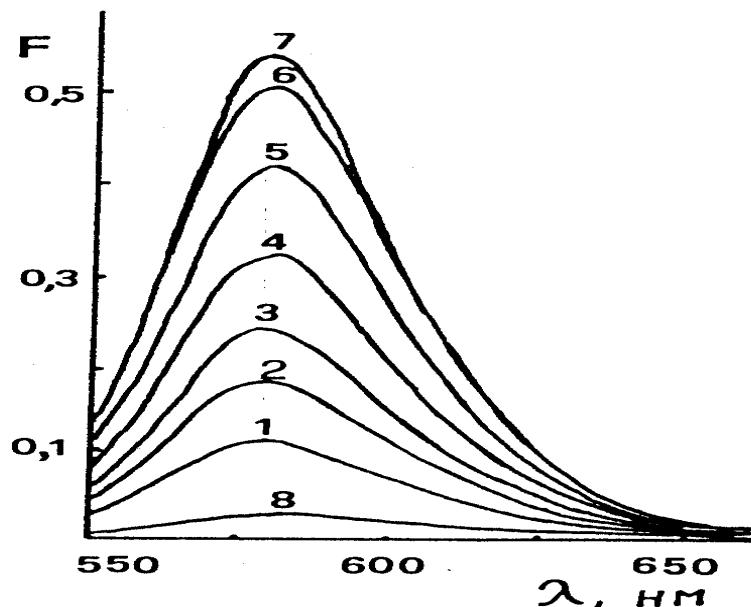
որտեղ F_f և F_b ներկայացնում են լուծույթում ազատ և կապված էթիդիումի բրոմիդի ֆլյուորեսցենցիայի մեծությունը սպեկտրի մաքսիմումին համապատասխանող ալիքի երկարության դեպքում (էթիդիումի բրոմիդի համար, ինչպես երևում է Ակ. 2-ից, $\lambda=580$ նմ): F -ը կոմպլեքսի լուծույթի ֆլյուորեսցենցիան է էթիդիումի բրոմիդի միջանկյալ կոնցենտրացիաների դեպքում: Օգտվելով (11) բանաձևերից հաշված C_f -ի և C_b -ի արժեքներից կառուցվել է պոլի [d(I-C)]-պոլի[d(I-C)] ու պոլի [d(G-C)]-պոլի[d(G-C)] պոլինուկլեոտիդների հետ էթիդիումի բրոմիդի կապման իզոթերմները Սկետչարդի կոռրդինատներով: Կապման իզոթերմները նկարագրվել են (8) բանաձևով: Աշխատանքում առաջարկվում է հետևյալ պարզ մեթոդ K և ո պարամետրերի արժեքների որոշման համար:

Այդ արժեքները հաշվենք (8) հավասարման գծային էքստրապոլյացիայի միջոցով: (8) հավասարումը ներկայացնենք հետևյալ տեսքով

$$\ln \frac{r}{C_f} = \ln k + \ln \frac{(1-nr)^n}{[1-(n-1)r]^{n-1}} \quad (12)$$

Ներմուծենք $y = \ln \frac{r}{C_f}$ և $x = -\ln \frac{(1-nr)^n}{[1-(n-1)r]^{n-1}}$ և շամակումները: Այդ

նշանակումներով (12) հավասարումը կունենա $y=a_0+a_1X$ տեսքը, որտեղ $a_0=\ln K$ և $a_1=-1$: Օգտվելով կապման իզոթերմից, կարելի է գտնել, թե յուրաքանչյուր դեպքում n -ը ինչպիսի արժեքներ կարող են լնդունել և n -ի այդ ինարակոր արժեքներից ընտրել այն, որի դեպքում $y=a_0+a_1X$ ուղիղը X առանցքի հետ կազմի 135° անկյուն ($a_1=-1$):



Նկ. 2. Էթիդիում բրոմիդի ֆլյուրեսցենցիայի սպեկտրները պոլի $[d(I-C)]$ - պոլի $[d(I-C)]$ հետ փոխազդեցության հետևանքով։ Կոմպլեքսագոյացման ընթացքում էթիդիում բրոմիդի կոնցենտրացիան մնում է հաստատուն ($C_0 = 10^{-5}$ U)։ Պոլինուկլեոտիդի կոնցենտրացիան կազմում է $3.7 \cdot 10^{-6}$ (1), $7.3 \cdot 10^{-6}$ (2), $1.1 \cdot 10^{-5}$ (3), $1.8 \cdot 10^{-5}$ (4), $3.3 \cdot 10^{-5}$ (5), $8.0 \cdot 10^{-5}$ (6), $2.4 \cdot 10^{-4}$ (7), 8-ը ներկայացնում է մաքուր էթիդիում բրոմիդի սպեկտրը։

Նկ. 3-ում պատկերված է n-ի երեք տարրեր արժեքների համար կառուցված ուղիղ գծերը էթիդիում բրոմիդ-պոլի $[d(I-C)]$ -պոլի $[d(I-C)]$ պոլինուկլեոտիդ կոմպլեքսի համար։ Ինչպես երևում է նկ. 4-ից, այն ուղիղ գիծը, որը X առանցքի հետ կազմում է 135° անկյուն, համապատասխանում է $n=1.5$ արժեքին։ n-ի այդ արժեքի կապման հաստատունի արժեքը կազմում է $K=1.3 \cdot 10^5$ U¹։ Օգտվելով K-ի արժեքից (13) բանաձևով կարելի է հաշվել կոմպլեքսի գոյացման հետևանքով Գիբսի ազատ փոփոխությունը։

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (13)$$

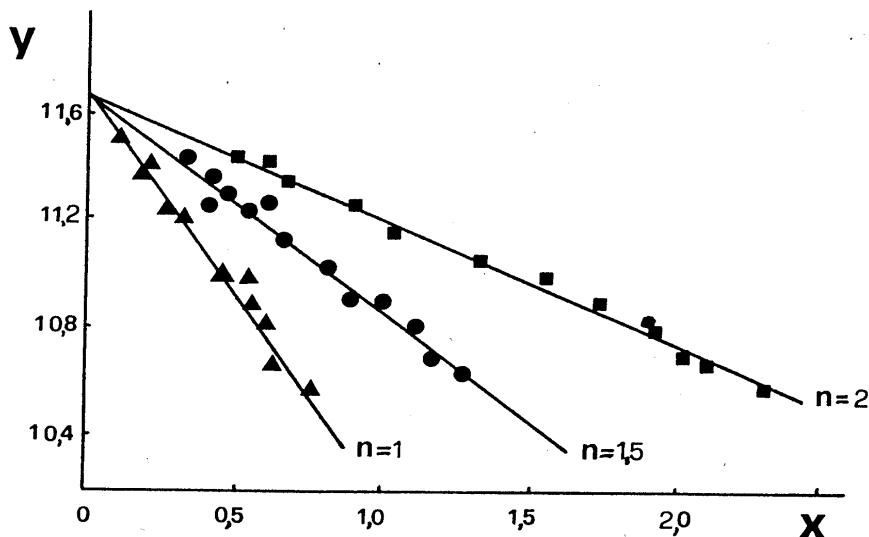
որտեղ R-ը գազային ունիվերսալ հաստատունն է, իսկ T-ն՝ բացարձակ ջերմաստիճանը։

Ենթալպիայի փոփոխությունը էթիդիում բրոմիդի հետ պոլինուկլեոտիդների կոմպլեքսագոյացման արդյունքում կարելի է հաշվել (14) բանաձևից, եթե փորձով որոշված է կապման հաստատունի արժեքները գոնե երեք ջերմաստիճաններում։

$$\Delta H = -R \frac{\delta \ln K}{\delta \left(\frac{1}{T} \right)} \quad (14)$$

Կապման հետևանքով համակարգի էնթրոպիայի (ΔS) փոփոխությունը որոշվում է (15) բանաձևից՝ օգտվելով ΔG -ի և ΔH -ի արժեքներից

$$\Delta S = -\frac{\Delta G - \Delta H}{T} \quad (15)$$



Նկ. 3. Յ մեծության կախվածությունը x-ից n-ի երեք արժեքների համար:

Հաշվումները ցույց են տալիս, որ կոմպլեքսների թերմոդինամիկական պարամետրերի փոփոխությունը կախված է ճառագայթման տևողությունից և հաճախությունից: Զրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների ռեզոնանսային՝ 50.3q^{-2} և 64.5q^{-2} հաճախություններով ճառագայթված պոլի[d(I-C)]-պոլի[d(I-C)]-ԷԲ կոմպլեքսների համար կապման հաստատունի արժեքը կազմում է $(2.7 \pm 0.2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$ և $(2.6 \pm 0.2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$ համապատասխանաբար, իսկ $-\Delta G$ -ն, $-\Delta H$ -ը, ΔS -ը և n -ը չափման սխալի սահմաններում ունեն նույն արժեքները՝ 7.6 ± 0.2 կկալ/մոլ, 2.6 ± 0.1 կկալ/մոլ, 15.1 ± 0.2 կալ/մոլ.Կ և 1.5 համապատասխանաբար: Միաժամանակ ոչ ռեզոնանսային հաճախություններով ճառագայթման դեպքում կոմպլեքսների կապման հաստատունը չի տարբերվում չճառագայթված համապատասխան կոմպլեքսների բնութագրող պարամետրերից և կազմում է $(2.5 \pm 0.2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$, մյուս պարամետրերը չեն տարբերվում ռեզոնանսային հաճախություններով ճառագայթման դեպքում ստացված արժեքներից: Պոլի[d(G-C)]-պոլի[d(G-C)]-ԷԲ կոմպլեքսների համար 50.3q^{-2} և 64.5q^{-2} հաճախություններով ճառագայթելու դեպքում կապման հաստատունը կազմում է $(8.0 \pm 0.2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$ և $(7.9 \pm 0.2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$, իսկ $-\Delta G$ -ն, $-\Delta H$ -ը, ΔS -ը և n -ը նույն են և կազմում են 8.4 ± 0.2 կկալ/մոլ, 3.1 ± 0.2 կկալ/մոլ, 16.3 ± 0.2 կալ/մոլ.Կ և 2 համապատասխանաբար, մինչդեռ ոչ ռեզոնանսային 48.3q^{-2} հաճախությամբ ճառագայթելու դեպքում փոխվում է կապման հաստատունը, որը սակայն նույնն է, ինչ ճառագայթված նմուշների դեպքում ստացված արժեքը՝ $(7.5 \pm 0.2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$: Հետևաբար, ընդհանրացնելով փորձնական տվյալները, կարելի է պնդել, որ գուանին ինոզին մոլիֆիկացիայի հետևանքով չնայած “ԴՆԹ” մոլեկուլի վրա գոյանում են կառուցվածքային անկայուն տեղամասեր “դեֆեկտներ”, եթիդիում բրոմիդի ԴՆԹ-ի հետ կապման հաստատունը նվազում է, աճում է ԴՆԹ-ի գույգ մոնոմերային միավորների հետ կապված եթիդիում բրոմիդի մոլեկուլների թիվը: ԴՆԹ-ի մոլեկուլը ջրի կառուցվածքների տատանումների ռեզոնանսային հաճախություններով

ճառագայթելիս համարյա չի փոխվում նրա կապման պարամետրերը էքիպիում բրոմիդի հետ (փորձի սխալի սահմաններում մի փոքր աճում է):

Միտոքանտրոն և ամետանտրոն հակառառուցքային միացությունների փոխազդեցությունը ՄԷՄ ալիքներով ճառագայթված կրկնակի պարուրային նուկլեինաքրուների հետ. Միտոքանտրոնը և ամետանտրոնը հանդիսանում են կրկնակի պարուրային նուկլեինաքրուների հետ ինտերկալյացիոն մեխանիզմով փոխազդող միացություններ և որպես հակառառուցքային դեղամիջոց ներկայումս կիրառվում են պրակտիկ բժշկության մեջ, չնայած նրանց ազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս ամբողջովին բացահայտված չեն: Ստացվել են 60 և 90 րոպե ռեզոնանսային հաճախություններով ճառագայթված կրկնակի պարուրային նուկլեինաքրուների հետ նշված հակառառուցքային դեղամիջոցների կոմպլեքսների կլանման սպեկտրները սպեկտրի տեսանելի տիրույթում: Կապման իզոթերմները նկարագրվել են (14) բանաձևով, որը առավել ճիշտ է նկարագրվում ցածրամոլեկուլային նյութերի ադսորբցիան կրկնակի պարույրի վրա: Օգտվելով K-ի արժեքից (13)-(15) բանաձևերի միջոցով կարելի է հաշվել կոմպլեքսագոյացման հետևանքով Գիբսի ազատ էներգիայի, էնթալպիայի և էնթրոպիայի փոփոխությունները: Կլանման սպեկտրներից և կապման իզոթերմներից հետևում է, որ միտոքանտրոնը և ամետանտրոնը չճառագայթված և ճառագայթված նուկլեինաքրուների հետ փոխազդում են միևնույն ինտերկալյացիոն մեխանիզմով, սակայն կապման պարամետրերի արժեքները նկատելի տարբերվում են իրարից: Այսպես 60ր. 50.3ԳՀց հաճախությամբ ԴՆԹ-միտոքանտրոն կոմպլեքսի ճառագայթման դեպքում կապման հաստատունը կազմում է $(6,3 \pm 0,2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$, իսկ 90ր. նույն հաճախությամբ ճառագայթելու դեպքում $(6,5 \pm 0,2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$, $-\Delta G\text{-ն}, -\Delta H\text{-ը}, \Delta S\text{-ը}$ և $n\text{-ը}$ փորձի սխալ սահմաններում նույնն են՝ $8,0 \pm 0,2 \text{kcal/mol}$, $3,1 \pm 0,1 \text{kcal/mol}$, $16,3 \pm 0,2 \text{kcal/mol}$. Կ և 2.4 համապատասխանաբար: Հարկ է նշել, որ վերը նշված պարամետրերը չճառագայթված նմուշի և 90ր. 48.3ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթված կոմպլեքսի դեպքում իրարից չեն տարբերվում և կազմում են՝ $(5,3 \pm 0,2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$, $7,8 \pm 0,2 \text{kcal/mol}$, $2,8 \pm 0,1 \text{kcal/mol}$, $16,7 \pm 0,2 \text{kcal/mol}$. Կ և 2.4 համապատասխանաբար: Զճառագայթված պոլի[d(I-C)]-պոլի[d(I-C)]-միտոքանտրոն կոմպլեքսի դեպքում արժեքները կազմում են $(2,1 \pm 0,2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$, $7,5 \pm 0,2 \text{kcal/mol}$, $2,6 \pm 0,1 \text{kcal/mol}$, $15,0 \pm 0,2 \text{kcal/mol}$. Կ և 2 համապատասխանաբար, իսկ 90ր. 50.3ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթելու դեպքում կապման հաստատունը կազմում է $(3,6 \pm 0,2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$, իսկ մյուս պարամետրերը աննշան են փոխվում: Զճառագայթված պոլի[d(G-C)]-պոլի[d(G-C)]-միտոքանտրոն կոմպլեքսի դեպքում հետևյալ պատկերն է ստացվում՝ $(13,5 \pm 0,2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$, $8,6 \pm 0,2 \text{kcal/mol}$, $4,1 \pm 0,1 \text{kcal/mol}$, $17,2 \pm 0,2 \text{kcal/mol}$. Կ և 2.5 համապատասխանաբար, իսկ 90ր. 50.3ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթելու դեպքում կապման հաստատունը կազմում է $(15,1 \pm 0,2) \cdot 10^5 \text{U}^{-1}$, իսկ մյուս պարամետրերը աննշան են փոխվում: Նույն օրինաչափությունը դիտվում է նաև ամետանտրոնի դեպքում: Ստացված տվյալներից հետևում է, որ ռեզոնանսային 50.3ԳՀց և 64.5ԳՀց հաճախություններով ճառագայթահարված ԴՆԹ-ն in vitro ավելի ամուր կոմպլեքս է առաջացնում միտոքանտրոն և ամետանտրոն հակառառուցքային

դեղամիջոցների հետ, քանի որ ճառագայթված ԴՆԹ-ի դեղամիջոցների կապման հաստատունը ավելի մեծ էն, քան չճառագայթված ԴՆԹ-ի հետ: Ωչ ուզո՞նանսային 48,3 ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթված ԴՆԹ-ի փոխազդեցությունը համարյա չի տարբերվում չճառագայթված ԴՆԹ-դեղամիջոց կոմպլեքսների թերմոդինամիկական հատկություններից:

Նետրոպսինի փոխազդեցությունը ՄԷՄ ալիքներով ճառագայթված և չճառագայթված կրկնակի պարուրային նուկլեինաքրուների հետ. Նետրոպսինը հանդիսանում է կրկնակի պարուրային ԴՆԹ-ի հետ ոչ ինտերկալյացիոն մեխանիզմով փոխազդող հակառակուցքային ճկուն մոլեկուլ: Հանգամանորեն ուսումնասիրվել է նետրոպսինի փոխազդեցությունը չճառագայթված և ուզո՞նանսային ու ոչ ուզո՞նանսային հաճախություններով ճառագայթահարված կրկնակի պարուրային նուկլեինաքրուների հետ: Հաշվումները ցույց են տալիս, որ $n=5$, և $K=3 \cdot 10^8 U^{-1}$, այսինքն փոխազդեցության հանգեցման դեպքում նետրոպսինի մեկ մոլեկուլը կապվում է ԴՆԹ-ի 5 զույգ հիմքերի հետ:

(13)-(15) բանաձևերից որոշվել է հորթի թիմուսից անջատված ԴՆԹ-ի հետ նետրոպսինի կապման հետևանքով Գիրսի ազատ էներգիայի, էնթալպիայի և էնթրոպիայի փոփոխությունները: Ստացվել են հետևյալ արժեքները. $\Delta G=12,1 \frac{\text{կյալ}}{\text{մոլ}}$; $\Delta H=-9,1 \frac{\text{կյալ}}{\text{մոլ}}$ և $\Delta S=10.2 \text{կալ}/\text{մոլ}\cdot\text{Կ}$

Օգտվելով հալման կորերից կարելի է հաշվել Վանդ-Հոֆի էնթալպիան, օգտվելով հետևյալ բանաձևից:

$$\Delta H_{V.H.} = \frac{-A}{\frac{1}{T_{1/2}} - \frac{1}{T_{3/4}}} \quad (16)$$

որտեղ $T_{1/2}$ և $T_{3/4}$ համապատասխանաբար այն ջերմաստիճաններն են, երբ մոնոմերային միավորների կեսը և $3/4$ մասը գտնվում են դենատուրացված վիճակում: Մաքուր ԴՆԹ-ի համար ($r=0$) $A=4,37$, իսկ ԴՆԹ-նետրոպսին հագեցած ($r=0,2$) կոմպլեքսի համար՝ $A=5,09$: (16) բանաձևից հետևում է, որ ԴՆԹ-նետրոպսին հագեցած կոմպլեքսների համար կոռպերատիվության միավորը փոքրանում է (51-ից ազատ ԴՆԹ-ի համար, դառնում է 43): Ուսումնասիրվել է նետրոպսինի փոխազդեցությունը նաև ճառագայթված ԴՆԹ-ի հետ: Ստացվել են ջրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների ուզո՞նանսային (50.3ԳՀց և 64.5ԳՀց) և ոչ ուզո՞նանսային (48.3ԳՀց) հաճախություններով 90 րոպե ճառագայթված ԴՆԹ-ի և նետրոպսինի կոմպլեքսների կլանման սպեկտրները 0,1 U Տրի բուֆերում:

Հաշվումները ցույց են տվել, որ ուզո՞նանսային հաճախություններով ճառագայթված ԴՆԹ-ի հետ նետրոպսինը առաջացնում է ավելի ամուր կոմպլեքս $K=2 \cdot 10^9 U^{-1}$ և $n=5$: Համեմատելով K -ի ստացված արժեքը չճառագայթված ԴՆԹ-ի հետ առաջացրած կոմպլեքսի կապման հաստատունի ($K = 3 \cdot 10^8 U^{-1}$) հետ, նկատում ենք, որ 50.3 ԳՀց ու 64.5 ԳՀց հաճախություններով ճառագայթված ԴՆԹ-ի հետ նետրոպսինի կապման հաստատունի արժեքը մոտովորապես մեկ կարգով ավել է չճառագայթվածի նկատմամբ:

Դրսողութիցինի փոխազդեցությունը ջրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների ռեզոնանսային հաճախություններով ճառագայթված կրկնակի պարուրային նուկլեինաթթուների հետ. Դրսողութիցինը հանդիսանում է կրկնակի պարուրային նուկլեինաթթուների հետ հիմնականում ինտերկալյացիոն մեխանիզմով փոխազդող հակառակուցքային դեղամիջոց: Կլանման սպեկտրները ստացվել են դրսողութիցինի այնպիսի կոնցենտրացիաների համար, որոնց դեպքում դրսողութիցինի մոլեկուլների ինքնակամ ասոցիացիան կարելի է անտեսել ($C_0=7\cdot10^{-5}$ U): Որոշվել են դրսողութիցինի կրկնակի պարուրային ԴՆԹ-ի հետ կոմպլեքսագոյացման հետևանքով համակարգի թերողինամիկական պարամետրերի փոփոխության արժեքները: Ստացված արդյունքներից հետևում է, որ դրսողութիցինը ԴՆԹ-ի (որը գտնվում է Բ-կոնֆորմացիայում) և պոլի(G)-պոլի(C) սինթետիկ պոլիոիդնուկլեոտիդի (որը միշտ գտնվում է Ա-կոնֆորմացիայում) հետ առաջացնում է կապման հաստատունի տարբեր արժեքներով բնութագրվող կոմպլեքսներ. կապման հաստատունի արժեքը ԴՆԹ-դրսողութիցին կոմպլեքսի համար մոտովորապես 2 անգամ գերազանցում է ՌՆԹ-դրսողութիցինի նկատմամբ: Ցածր ինտենսիվության ՄԷՄ ալիքներով ճառագայթված կրկնակի պարուրային նուկլեինաթթուները դրսողութիցինի հետ առաջացնում են ավելի ամուր կոմպլեքսներ: Կապման հաստատունի փոփոխության չափը կախված է նուկլեինաթթվի տեսակից (ԴՆԹ, թե ՌՆԹ) և ճառագայթման հաճախությունից: Ջրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների ռեզոնանսային (50.3ԳՀ և 64.5ԳՀ) հաճախություններով 90ր. ճառագայթված ԴՆԹ-ն շատ ավելի ամուր է կապվում հակառակուցքային դեղամիջոց դրսողութիցինի հետ՝ $(50.2\pm0.2)\cdot10^5$ U⁻¹ և $(48.1\pm0.2)\cdot10^5$ U⁻¹ համապատասխանաբար, մինդեռ չճառագայթված կոմպլեքսի համար՝ $(5.1\pm0.2)\cdot10^5$ U⁻¹ (կապման հաստատունի արժեքը չճառագայթվածի նկատմամբ աճում է մեկ կարգով), քան ՌՆԹ-ն՝ 90ր. 50.3ԳՀ հաճախությամբ ճառագայթելու դեպքում պոլի(G)-պոլի(C)-դրսողութիցին կոմպլեքսի կապման հաստատունը կազմում է $(4.8\pm0.2)\cdot10^5$ U⁻¹, մինչդեռ չճառագայթվածի դեպքում՝ այն կազմում է $(2.2\pm0.2)\cdot10^5$ U⁻¹ (կապման հաստատունի արժեքը չճառագայթվածի նկատմամբ աճում է մոտովորապես 2 անգամ):

Եզրակացություններ

1. Առաջարկվել է նոր մեթոդ, որը թույլ է տալիս հաշվել կապման հաստատունի, և հետևաբար, կապման թերմոդինամիկական պարամետրերը թույլ կապման դեպքում, երբ կապման իզոթերմերի ստացումը համընդհանուր ընդունված եղանակով հնարավոր չէ:
2. ԴՆԹ մոլեկուլի առաջնային կառուցվածքում գուանին-ինոզին մոդիֆիկացիայի հետևանքով ինտերկալյացիոն մեխանիզմով փոխազդող ցածրամոլեկուլային միացությունները ԴՆԹ-ի հետ ավելի թույլ են կապվում:
3. Կրկնակի պարուրային նուկլեինաթթուների վրա ցածր ինտենսիվության (ոչ ջերմային) ՍԷՄ ալիքների ազդեցությունը կարելի է պարզաբանել հալման դիֆերենցիալ կորերի կենտրոնական մոմենտների միջոցով:
4. Զրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների ռեզոնանսային հաճախություններով ճառագայթված կրկնակի պարուրային նուկլեինաթթուները ինտերկալյացիոն (միտոքանտրոն, ամենտանտրոն, էթիդիում բրոմիդ և դոքսոռութիցին) և ոչ ինտերկալյացիոն (նետրոպսին) մեխանիզմներով փոխազդող կենսաբանական ակտիվ միացությունների հետ առաջացնում են ավելի ամուր կոմպլեքսներ:
5. Զրի մոլեկուլային կառուցվածքների տատանումների ոչ ռեզոնանսային 48,3 ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթելիս, փորձի սխալի սահմաններում, ԴՆԹ-ի ջուր-աղային լուծույթի և ցածրամոլեկուլային միացությունների հետ առաջացրած կոմպլեքսների թերմոդինամիկական հատկությունները մնում են անփոփոխ:

ՀՐԱՏԱՐԱԿՎԱԾ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐԻ ՑՈՒՑԱԿ

1. Yu. Babayan, A. Sh. Markaryan, M. A. Parsadanyan, A.P. Antonyan, P.O. Vardevanyan. Some characteristics of DNA melting curve. *J. Biomol. Str. Dyn.*, 2003, v.20, N6, p.917-918.
2. P.O. Vardevanyan, A.P. Antonyan, A. Sh. Markaryan, R.S. Kazaryan, Yu.S. Babayan. Disperse of bound ligands method in study of adsorption isotherm. *J. Biomol. Str. Dyn.*, 2003, v.20, N6, p.857.
3. Գ.Գ. Պոտիքյան, Ա.Բ. Առաքելյան, Ս.Յ. Բաբայան, Ա.Ռ. Մարգարյան. Стохастическое описание адсорбции лигандов на макромолекулах. *Известия НАН Арм., Физика*, 2002, т. 37, N6, с. 378-381.
4. Yu.S. Babayan, A. Sh. Margaryan, S. N. Hakobyan, R.S. Kazaryan. Comparative spectroscopic and microcalorimetric analyses of the interaction of anticancer drugs with DNA_s isolated from normal and tumor tissues. *Inter. Sym. Hydration and Thermodynamics of molecular recognition*, 2005, p.45.
5. Yu.S. Babayan, R.S. Kazaryan, A. Sh. Margaryan, H.E.Sngryan. Comparative spectroscopic and microcalorimetric analysis of the interaction of anticancer drugs with double-stranded nucleic acids. *Inter. conf. Modern problems gen. radiobiol., radioec. and evolution*, Dubna, 2005, p.55.
6. A. Sh. Margaryan. Influence of antitumor preparation on DNA of sarcoma 45. *Inter. conf. Modern problems gen. radiobiol., radioec. and evolution*, Dubna, 2005, p.77.
7. Յու.Ս. Բաբայան, Վ.Պ. Քալանթարյան, Ս.Ն. Հակոբյան, Ա.Ռ. Մարգարյան: Յաձր ինտենսիվության միլիմետրային էլեկտրամագնիսական ալիքների ազդեցությունը ԴՆԹ մոլեկուլի ջերմակայունության վրա: ԵՊՀ գիտական տեղագիր, 2005, N2, էջ 142-143:
8. ՅՈ.Ս. Բաբայան, Ս.Ի. Ակոպյան, Ա.Ռ. Մարկարյան, Ր.Ը. Կազարյան, Ա.Ա. Օգանեսյան. Определение моментов функции дифференциальной кривой плавления ДНК. *Весник МАНЭБ*, 2005 т.10, N5, с.180-183.
9. ՅՈ.Ս. Բաբայան, Ա.Ռ. Մարկարյան, Վ.Պ. Կալանթարյան, Ր.Ը. Կազարյան, Մ.Ա. Պարսադանյան, Պ.Օ. Վարdevanyan. Воздействие низкоэнергетического миллиметрового электромагнитного излучения на стабильность молекул ДНК в растворе. *Биофизика*, 2007, т.52, N2, с.382-384.
10. Yu.S. Babayan, V.G. Kalantaryan, A.Sh. Margaryan, S.N. Hakobyan, M.A. Parsadanyan. The influence of millimetric electromagnetic waves on thermostability of DNA. An International Symposium on Hydration and Thermodynamics of Molecular Recognition. Abstracts, March 1-5, 2005, Tsakhkadzor, Armenia, p. 46.
11. A.Sh. Margaryan. Influence of millimeter electromagnetic waves of non-thermal intensity on the stability of AT and GC nucleotide steams of DNA. "Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology and evolution" The second international conference dedicated to the 105th anniversary of the birth of N.W. Timofeeff-Ressovsky and the 70th anniversary of the paper "On the Nature of Gene Mutations and Gene Structure", Yerevan, September 8-11, 2005, p. 108.
12. Ա.Ռ. Մարգարյան. Յաձր ինտենսիվության միլիմետրային էլեկտրամագնիսական ալիքներով ճառագայթված պոլիմուլետիդների և որոշ կենսաբանական ակտիվ միացությունների կոմպլեքսագոյացման առանձնահատկությունները: Հայաստանի կենսաբանական հանդես, 65, 3, 2013, էջ 11-13:

МАРГАРЯН АЛЕКСАН ШАМИЛЕВИЧ

ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПЛЕКСОВ НЕКОТОРЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ДНК ОБЛУЧЕННОЙ МИЛЛИМЕТРОВЫМИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМИ ВОЛНАМИ

РЕЗЮМЕ

Ключевые слова: миллиметровые электромагнитные волны, двойная спираль нуклеиновых кислот, митоксантрон, аметантрон, нетропсин, доксорубицин, бромистый этидий, резонансная частота для воды

В настоящее время миллиметровые (ММ) волны широко применяются в областях практической медицины, промышленности, сельского хозяйства и др. Эксперименты и наблюдения показали, что в зависимости от частоты облучения ММ волны могут иметь различное влияние на живые организмы. В частности, облучая эмбрион живых организмов определенной частотой ММ волн можно стимулировать или подавлять процесс формирования любого органа.

Поэтому изучая влияние ММ волн низкой интенсивности на молекулы имеющие большую биологическую значимость – ДНК, РНК, можно не только выяснить влияние этих волн на нуклеиновые кислоты, делать выводы об их структурных изменениях, но и предсказывать особенности комплексообразования биологически активных соединений с нуклеиновыми кислотами при длительном воздействии ММ волн.

При облучении водно-солевого раствора нуклеиновых кислот (тимус теленка и полиг(Г)-поли(С)) резонансными частотами колебаний гексагональной структуры воды (50.3ГГц) и триад (64.5ГГц) термостабильность молекулы ДНК увеличивается на $\sim 1,2^{\circ}\text{C}$, а плотность водно-солевого раствора нуклеиновой кислоты – на $\sim 10^4\text{г}/\text{см}^3$. При облучении раствора двойных спиралей нуклеиновых кислот не резонансной для воды частотой (48.3ГГц) измеряемые величины в рамках ошибки эксперимента не меняются. Предполагается, что при облучении резонансными частотами низкой интенсивности, в воде происходит дегидратация растворенных ионов и нуклеотидов. Следует отметить, что это предположение не противоречит эксперименту. За счет дегидратации ионов они более эффективно экранируют отрицательно заряженные фосфатные группы нуклеиновых кислот, вследствие чего возрастает термостабильность двойных спиралей нуклеиновых кислот. Мономолекулярные молекулы воды оторванные от ионов и нуклеотидов легко могут расположиться в “пустотных” областях гексагональной структуры. Благодаря такому перерасположению молекул воды, увеличивается плотность водно-солевого раствора, что и обнаруживается в экспериментальных исследованиях.

Впервые было исследовано взаимодействие нескольких низкомолекулярных соединений с двойными спиралями нуклеиновых кислот

облученных ММ волнами частотами резонансными для воды с помощью центральных моментов дифференциальных кривых плавления.

В работе исследованы также особенности комплексообразования лигандов с двойными спиралями полинуклеотидов формировавшихся в результате гуанин-инозин модификации.

При облучении частотами 50.3ГГц и 64.5ГГц молекул поли[d(I-C)·поли[d(I-C)]] параметры связывания с бромистым этидием почти не меняются.

Исследовано также взаимодействие противоопухолевых веществ – митоксантрона, аметантрона, нетропсина и доксорубицина с двойными спиралями нуклеиновых кислот облученных ММ волнами низкой интенсивности и резонансными и не резонансными для воды частотами.

Обобщая полученные результаты можно заключить, что при облучении ММ волнами частотами резонансными для воды противоопухолевые вещества взаимодействующие интеркаляционным (митоксантрон, аметантрон, бромистый этидий и доксорубицин) и не интеркаляционным (нетропсин) механизмами с двойными спиралями нуклеиновых кислот связываются прочнее (прочнее с ДНК).

THE INVESTIGATION OF COMPLEXES OF SOME LOW MOLECULAR
COMPOUNDS WITH DNA IRRADIATED BY MILLIMETER
ELECTROMAGNETIC WAVES

SUMMARY

Key words: millimeter electromagnetic waves, double helix of nucleic acids, mitoxantron, ametantron, netropsin, doxorubicin, ethidium bromide, resonant frequency for water

Nowadays millimeter (MM) electromagnetic waves are widely applied in regions of practical medicine, industry, agriculture etc. Experiments and observations have shown that depending on irradiation frequency MM waves may have different effects on living organisms. Particularly irradiating the embryo of living organisms by certain frequency of MM waves the formation process of some organ may be stimulated or inhibited.

Consequently investigating the influence of MM waves with low intensity on the molecules having a significant biological value – DNA and RNA, it is possible to reveal not only the influence of these waves on nucleic acids and to make the conclusions about their structural changes but also to predict the peculiarities of complex-formation of biologically active compounds with nucleic acids at long duration of influence of MM waves.

At irradiation of double helix nucleic acids (calf thymus and poly(G)·poly(c)) by resonant frequencies for water hexagonal structure (50.3GHz) and triads (64.5GHz) the thermostability of DNA molecule enhances by $\sim 1.2^{\circ}\text{C}$ and the density of nucleic acid water-saline solution increases by $\sim 10^4\text{ g/cm}^3$. At irradiation of the solution of double helix nucleic acids by non resonant (48.3GHz) frequency the measuring magnitudes remain unaltered in the frames of experiment errors. It is assumed that at irradiation by water resonant frequencies with low intensity the dehydration of solved ions and nucleotides takes place. It should be mentioned that this fact does not discrepant with experimental data. Due to dehydration of ions they screen more effectively the negatively charged phosphate groups in consequence of which the thermostability of double helix nucleic acids increases. The monomolecular water molecules torn from ions and nucleotides may be easily distributed into “empty” regions of hexagonal structure. As a result of such redistribution of water molecules the density of water-saline solution increases which is observed in experimental investigations.

In present work it has been firstly investigated the interaction of several low molecular compounds with double helix nucleic acids irradiated by water resonant frequencies through central moments of differential melting curves.

It has been also investigated the complex-formation peculiarities of ligands with double helix polynucleotide induced by guanine-inozine modification.

At irradiation of poly[d(I-C)]poly[d(I-C)] by 50.3GHz and 64.5GHz frequencies the binding parameters with ethidium bromide are not almost changed.

The interaction of antitumor compounds – mitoxantrone, ametantrone, netropsin and doxorubicin with double helix nucleic acids irradiated by MM waves with water resonant and non resonant frequencies with low intensity has been also investigated. Generalizing the obtained results it may be concluded that due to the irradiation by water resonant frequencies the antitumor compounds interacting by intercalation (mitoxantrone, ametantrone, ethidium bromide and doxorubicin) and non intercalation (netropsin) mechanisms bind to double helix nucleic acids more firmly (more firmly with DNA).