

УДК 577.3

Т. С. АРУТЮНЯН

ИЗМЕНЕНИЯ ТРЕТИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ДНК ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ЦИСПЛАТИНОЙ

Антиопухолевый препарат цис-диаминдихлорплатина (II) (цис-DDP) образует ковалентный аддукт с ДНК в *in vivo* и *in vitro* условиях. В данной работе методом УФ-спектроскопии изучается переход спираль-клубок при изменениях в высокомолекулярной двухцепочечной ДНК, которые имеют место вследствие образования комплексов с цис-DDP при относительной концентрации $3 \cdot 10^{-5} < \Gamma_b < 3 \cdot 10^{-3}$, где $\Gamma_b = C_{\text{цис-DDP}}/C_{\text{пар. нукл.}}$.

В настоящее время интерес к платиновым комплексам ДНК достаточно велик, что связано с их высокой противоопухолевой активностью [1, 2]. В данной работе методом УФ-спектроскопии проведено исследование температурного плавления ДНК при низких концентрациях цисплатины ($3 \cdot 10^{-5} < \Gamma_b < 3 \cdot 10^{-3}$, где $\Gamma_b = C_{\text{цис-DDP}}/C_{\text{пар. нукл.}}$ – относительная концентрация цисплатины). Результаты исследований приведены в таблице.

$C_{\text{цис-DDP}}, M$	Γ_b	<i>Calf Thymus</i>		<i>Cl. Perfringens</i>		<i>M. Luteus</i>	
		$T_m, ^\circ C$	$\Delta T, ^\circ C$	$T_m, ^\circ C$	$\Delta T, ^\circ C$	$T_m, ^\circ C$	$\Delta T, ^\circ C$
0	0	65,5	9,8	60,0	5,8	78,8	7,0
10^{-9}	10^{-5}	65,8	10,0	60,1	6,2	69,7	20,0
$5 \cdot 10^{-9}$	$5,8 \cdot 10^{-5}$	69,1	10,3	60,0	6,3	69,9	19,8
10^{-8}	10^{-4}	70,7	10,6	59,7	6,0	–	–
$5 \cdot 10^{-8}$	$5,9 \cdot 10^{-4}$	68,3	10,5	60,8	6,1	66,1	16,0
10^{-7}	$7 \cdot 10^{-4}$	67,8	11,3	58,2	6,2	–	–
$5 \cdot 10^{-7}$	$6 \cdot 10^{-3}$	66,4	10,8	58,0	6,4	66,3	17,1
10^{-6}	$8 \cdot 10^{-3}$	66,0	10,3	55,0	6,7	–	–
$5 \cdot 10^{-6}$	$6 \cdot 10^{-2}$	60,3	9,0	51,8	8,5	62,0	28,8
10^{-5}	10^{-1}	52,0	12,7	43,8	10,9	–	–
$5 \cdot 10^{-5}$	$5,8 \cdot 10^{-1}$	50,5	13,0	45,2	12,8	50,8	20,8

Из таблицы следует весьма необычная зависимость температуры (T_m) и интервала (ΔT) перехода высокомолекулярной ДНК с разным ГЦ-содержанием от концентрации цисплатины.

Как видим, существуют три концентрационные области:

- 1) область монотонного повышения T_m ДНК на $3-4^\circ C$ ($10^{-5} < \Gamma_b < 10^{-4}$);
- 2) область монотонного понижения T_m ДНК ($10^{-4} < \Gamma_b < 10^{-3}$);

3) область резкого понижения T_m ДНК ($10^{-3} < r_b$).

Особенности поведения T_m ДНК в последних двух областях достаточно подробно рассматриваются в работах [3–6].

Существование заметного стабилизирующего эффекта при сверхнизких концентрациях сшивающего агента ($10^{-5} < r_b < 10^{-4}$, несколько молекул на одну макромолекулу) невозможно объяснить локальными конформационными изменениями в отдельных нуклеотидах при комплексообразовании с ДНК [7]. Такие монодентальные или бидентальные комплексы ДНК кинетически инертны [8, 9]. Единственное объяснение этой зависимости T_m ДНК от концентрации цисплатины может быть связано с существенными изменениями в третичной структуре макромолекулы. Мы склонны предполагать, что цисплатина может сшить азотистые основания, удаленные вдоль цепи на расстояния, превышающие длину жесткости нативной ДНК (дальнодействующее сшивание).

Такое сшивание может приводить к образованию структур с топологическими ограничениями на разделение цепей при плавлении (псевдокольцевые структуры) с большей температурой перехода по сравнению с исходной ДНК.

Кафедра биофизики

Поступило 28.11.2005

ЛИТЕРАТУРА

1. Leng M., Brabec V. In DNA Adducts: Identification and Biological Significance, 1994, p. 339–348.
2. Xie G., Gupta R., Lown J.W. – Anti-Cancer Drug Design, 1995, v. 10, № 5, p. 389–409.
3. Haroutunian S.G., Bruni B., Monnani R., Orioli P., Mangani S. – Inorg.Chimica Acta, 1991, № 184, p. 127–132.
4. Haroutunian S.G., Dalyan Y.B., Morozov V.F., Mamasakhilsov Eu.Sh., Shahinyan M.S., Akhrem A.A., Lando D.Yu., Messori L., Orioli P. – Inorg.Chimica Acta, 1998, № 510, p. 275–276.
5. Арутюнян С.Г., Мамасахлисов Е.Ш., Морозов В.Ф., Дальян Е.Б., Хачикян Р.Е., Варdevanyan П.О., Ориоли П., Бруни Б. – Биофизика, 1997, т. 42, с. 353–357.
6. Dalyan Y.B., Haroutunian T.S., Haroutunian S.G., Vardevanyan P.O. – Exp. and Mol. Medicine. 2003, v. 35, № 6, p. 534–537.
7. Lando D.Yu., Haroutunian S.G., Fridman A.S., Benight A.S. In book: Modern Problems of Cellular and Molecular Biophysics. Edited by S.Ayrapetyan and A.C.T.North (UK), Yerevan, 2001, p. 279–290.
8. Eastman A. – Biochemistry, 1986, v. 25, p. 3912–3917.
9. Butour J.-L., Maquet J.-P. – Biochem.Biophys. Acta, 1981, № 653, p. 305.

Տ. Ս. ՀԱՐՈՒՆԻԱՆ

ԴՆԹ-ի ԵՐՐՈՐԴԱՅԻՆ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ՑԻՍՊԼԱՏԻՆԻ ՀԵՏ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ԴԵՊՋՈՒՄ

Ամփոփում

Հակառոտուցքային միացության ցիս-դիամինդիքլորպլատինը (ցիս-DDP) ԴՆԹ-ի հետ առաջացնում է կովալենտ համալիր *in vivo* և *in vitro* պայման-

ներում: Տվյալ աշխատանքում ՈւՄ-սպեկտրոսկոպիկ մեթոդով ուսումնասիրվում է պարույր-կծիկ անցումը բարձրամոլեկուլային երկշղթա ԴՆԹ-ում փոփոխությունների դեպքում, որոնք ի հայտ են գալիս ցիս-DDP-ի հետ կոմպլեքսների առաջացման ժամանակ, երբ ցիս-DDP-ի հարաբերական կոնցենտրացիան փոփոխվում է $3 \cdot 10^{-5} < r_b < 3 \cdot 10^{-3}$ միջակայքում ($r_b = C_{\text{ցիս-DDP}}/C_{\text{գույգ նուկ.}}$):

T. S. HAROUTIUNIAN

CHANGES OF TERTIARY STRUCTURE OF DNA AT INTERACTION WITH CIS-PLATINUM

Summary

The antitumour drug cis-diamminedichloroplatinum(II) (cis-DDP) form covalent adduct with DNA both *in vivo* and *in vitro*. In the present work, UV-spectroscopic helix-coil transition method is used to analyze the changes of the high-molecular DNA double helix occur due to formation of complexes with cis-DDP at the concentration of cis-DDP $3 \cdot 10^{-5} < r_b < 3 \cdot 10^{-3}$, where $r_b = C_{\text{cis-DDP}}/C_{\text{bound nucl.}}$.