

УДК 577.113

СТРУКТУРНІ ТА ТЕРМОДИНАМІЧНІ ПАРАМЕТРИ КОМПЛЕКСІВ ДАУНОМІЦИНА З ДЕЗОКСИГЕКСАНУКЛЕОТИДАМИ ЗА ДАНИМИ ЯМР-СПЕКТРОСКОПІЇ

Пахомов В.І., Ігон Р.Дж.¹, Веселков К.О., Рогова О.В., Димант Л.Н.

Севастопольський національний технічний університет, 99053,

Севастополь, Студмістечко Україна,

E-mail: veselkov@sevgtu.sebastopol.ua

¹Беркбек коледж, Лондонський Університет,

Gordon House Gordon Square, London WC1H 0PP, Великобританія

Засобами гомоядерної $2M-^1H$ ЯМР-спектроскопії та гетероядерної $^1H-^{31}P$ ЯМР-спектроскопії (НМВС) досліджено комплексоутворення антрациклінового антибіотика дауноміцина (DAU) з дезоксигексануклеотидами 5 ϵ -d(TACGTA), 3 ϵ -d(CGTACG) і 5 ϵ -d(CGCGCG) у водному розчині. Виявлено, що специфіка зв'язування DAU визначається міжмолекулярною взаємодією ліганду з трьома сусідніми парами азотистих основ подвійної спіралі. На основі концентраційних і температурних залежностей хімічних зсувів протонів антибіотика визначено рівноважні термодинамічні параметри утворення 1:1, 1:2, 2:1 і 2:2 комплексів DAU з гексамерами. Розраховано найбільш імовірні просторові структури 1:2 комплексів DAU з дезоксигексануклеотидами.

Вступ. Антрацикліновий антибіотик дауноміцин (DAU) має виражені протипухлинні властивості, зокрема, він ефективний при лікуванні гострої форми мієлоїдної лейкемії. Біологічна активність DAU зв'язана з його спроможністю інтеркалювати в ДНК і завдяки цьому інгібувати синтез ДНК і РНК. Молекулярна структура DAU являє собою тетрагідротетраценхінонний хромофор, який містить три копланарних шестичленних кільця, до якого приєднано позитивно заряджене аміноцукрове кільце, орієнтоване практично перпендикулярно хромофору антибіотика (малюнок 1). Вивчення селективності зв'язування ліганда з нативною ДНК ускладнене зважаючи на складність структури і конформаційну мінливість макромолекули тому характерні структурні властивості інтеркальованих комплексів і сиквенс-специфічність зв'язування ароматичних лігандів з нуклеїновими кислотами доцільно визначати на синтетичних олігонуклеотидах заданої послідовності основ в ланцюзі. Характер фізичних взаємодій, відповідальних за комплексоутворення молекул може бути з'ясований при детальному аналізі енергетики процесів комплексоутворення ліганд-олігонуклеотид і просторових структур молекулярних комплексів у розчині. Зокрема, порівняння величин рівноважних констант взаємодії лігандів з олігонуклеотидами різноманітного складу і послідовності основ в ланцюзі дозволяє виявити селективність інтеркаляції ароматичного ліганда в

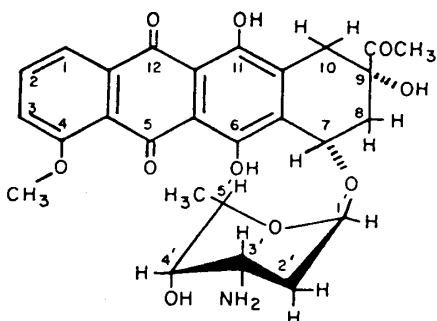


Рисунок 1 – Структурна формула дауноміцина

Проведені раніше засобом ЯМР-спектроскопії дослідження самоасоціації означених дезоксигексануклеотидів в ідентичних умовах розчинника показали, що стабільність гексамерних дуплексів зменшується в послідовності $(CGCGCG)_2 > d(CGTACG)_2 > d(TACGTA)_2$ [1]. Отримані результати добре узгоджуються з теоретичними оцінками по моделі “найближчого сусіда” і пояснюються меншою стабільністю низкоенергетичних $d(TA)/d(AT)$ ланок в олігонуклеотидному ланцюзі [2].

Умови експерименту. Дауноміцин ("Fluka") і гексануклеотиди "Oswel DNA Service" (Великобританія), ліофілізували з 99.95% D_2O та розчиняли у дейтерійованому 0.1 М фосфатному буфері, рН 7,1, що містить 10^{-4} моль·л $^{-1}$ ЕДТА. Концентрацію антибіотика визначали спектрофотометрично (коефіцієнт молярної екстинкції $\epsilon_{DAU} = 11500$ л·моль $^{-1}$ ·см $^{-1}$ при $\lambda = 477$ нм). Одновимірні і двовимірні ЯМР-спектри водних розчинів антибіотика і гексануклеотидів вимірювали на спектрометрі "Bruker DRX" (500 МГц). Положення резонансних сигналів протонів досліджених молекул вимірювали відносно внутрішнього стандарту ТМА (бромид тетраметиламонію) і після цього перераховувалися відносно ДСС (2,2-диметил-2-силапентан-5-сульфокислота), $\delta_{DSS} = \delta_{TMA} + 3,178$ (м.д.). Хімічні зсуви ядер фосфору ^{31}P визначали відносно сигналу фосфору буферного розчину. Вимірювання залежностей протонних хімічних зсувів DAU від концентрації антибіотика у розчині з олігонуклеотидами виконано при декількох температурах, в діапазоні 303-318 К. В експериментах концентрація дауноміцина L_0 підтримувалася постійною і рівною $0,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л, концентрація дезоксигексануклеотидів змінювалася в межах від $2 \cdot 10^{-3}$ до 10^{-4} моль/л. Температурні залежності протонних хімічних зсувів взаємодіючих молекул вимірювалися в діапазоні температур від 278 до 343 К при постійних складах розчинів. Термостабілізація зразків ($\Delta T = \pm 0,5$ К)

нуклеотидну послідовність. Для визначення сиквенс-специфічності зв'язування дауноміцина з ДНК засобами 1М- і 2М-ЯМР-спектроскопії (500 МГц) вивчено комплексоутворення DAU з самокомплементарними дезоксигексануклеотидами 5'-d(TpApCpGpTpA), 5'-d(CpGpTpApCpG) і 5'-d(CpGpCpGpCpG) різноманітної послідовності основи в ланцюзі у водному розчині.

здійснювалася з допомогою терморегулятора BVT-3000.

Вимірювання двовірних ЯМР-спектрів (TOCSY/COSY та NOESY) проведено при температурах 303, 308 і 318 К з використанням стандартної послідовності імпульсів. Для аналізу ^1H - ^{31}P спінової системи виміряно спектри гетероядерної кореляції множинних зв'язків (HMBC) при 8 Кб крапок в F2-вимірюванні (^{31}P) і 256 прирощування в F1-вимірюванні (^1H). В обох вимірах перед Фур'є-перетворенням для покращення спектральних характеристик застосовано синусоїдальну функцію аподизації.

Результати і обговорення. Аналіз спектрів 2M-NOESY розчинів гексамерів показав, що є досить інтенсивні крос-піки між протонами H8(*pur*)/H6(*pyr*) основ і протонами H2' зв'язаних із ними цукрових кілець при порівняльно слабких кореляціях між протонами H8/H6 і H1'. Подібне співвідношення інтенсивностей крос-пиків відповідає міжпротонним відстаням, характерним для *anti*-конформації основи відносно дезоксирибозних кілець в досліджених нуклеотидах гексамерів. При цьому сигнали NOE між цукровими протонами H1' і H2'' дезоксирибози виявляються більш інтенсивними у порівнянні з крос-піками H1'-H2'', що свідчить про переважну *S*-конформацію (C2'-*endo*) дезоксирибозних залишків в олігонуклеотидному ланцюзі, і, отже, дуплекси гексамерів d(CGCGCG)₂, d(CGTACG)₂ і d(TACGTA)₂ знаходяться в конформації близької до *B*-форми. Характер змін в ^{31}P -ЯМР-спектрах при доданні

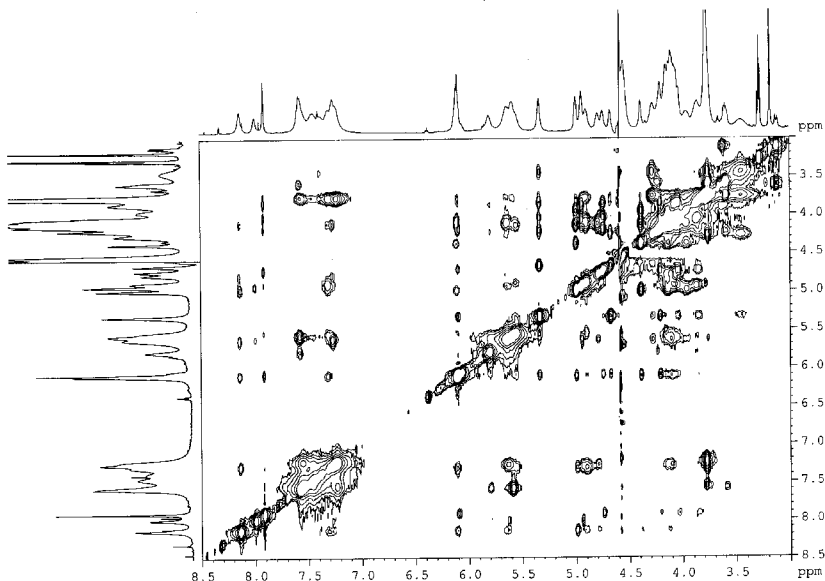
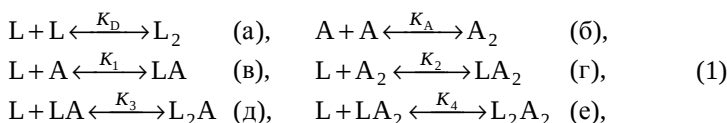


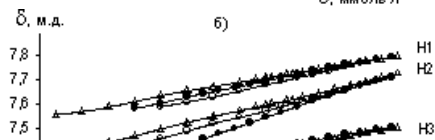
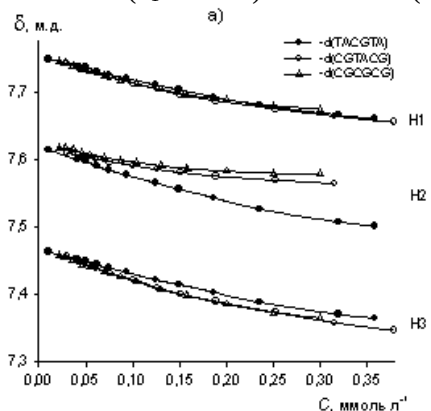
Рисунок 2 – Контурний спектр 2M-NOESY (500 МГц, $\tau_m=250$ мс) водного розчину дезоксигексануклеотида d(CGTACG) і DAU (2 ммоль·л⁻¹:2 ммоль·л⁻¹) при T=318 К

дауноміцина у розчині гексамерів, особливо для кінцевого фосфату P5, а також виявлені міжмолекулярні кореляції NOE протонів ліганда і кінцевих нуклеотидів (див. малюнок 2) свідчать про те, що дауноміцин здебільшого інтеркалює в термінальні сайти гексануклеотидних дуплексів. Аналогічна ситуація має місце і при комплексоутворенні DAU з дезокситетрануклеотидами[3].

В розрахунку параметрів комплексоутворення DAU з дезоксигексануклеотидами на основі експериментальних концентраційних і температурних залежностей (див. малюнок 3) хімічних зсувів необмінюючихся протонів враховувалася наявність складної рівноваги у розчині [3]:



де L і A – концентрації мономерів ліганда і гексануклеотида відповідно, K_D – рівноважна константа димеризації антибіотика, K_A – рівноважна константа утворення гексамерного дуплекса, K_1 – K_4 – рівноважні константи утворення 1:1 (LA), 1:2 (LA_2), 2:1 (L_2A) і 2:2 (L_2A_2) комплексів відповідно. Значення константи димеризації дауноміцина прийнято рівними 290 л/моль ($T_1 = 303$ K) і 188 л/моль ($T_2 = 313$ K) [3].



Проведені в нинішній роботі ЯМР-експерименти свідчать про відсутність суттєвого уширення резонансних сигналів протонів у всьому дослідженому діапазоні концентрацій і температур. В умовах швидкого обміну в рівноваж-

них реакціях комплексоутвореннямолекул (схема 1) спостерігаємий хімічний зсув протонів DAU згідно адитивній моделі може бути наданий у вигляді [3]:

$$\delta = \frac{L}{L_0} (\delta_m + 2\delta_d K_D L + \delta_1 K_1 A + \delta_2 K_A K_2 A^2 + 2\delta_3 K_1 K_3 LA + 2\delta_4 K_A K_2 K_4 LA^2), \quad (2)$$

де δ_m і δ_d – протонні хімічні зсуви дауноміцина в мономері і димері, $\delta_1 - \delta_4$ – значення граничних хімічних зсувів протонів DAU в складі 1:1, 1:2, 2:1 і 2:2 комплексів L_0 – вхідна молярна концентрація антибіотика

Обчислювальна процедура знаходження параметрів моделі заснована на мінімізації квадратичного функціоналу нев'язки по восьми параметрам: $K_1 - K_4$ і $\delta_1 - \delta_4$ [3]. Розраховані значення $\delta_1 - \delta_4$ і рівноважних констант комплексоутворення DAU з гексамерами при $T = 303$ К для вивчених молекулярних систем наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Розрахункові значення граничних значень хімічних зсувів протонів дауноміцина (δ_i , м.д.) і рівноважні константи (K_i , 10^3 л·моль⁻¹) його комплексоутворення з дезоксигексануклеотидами у 0,1 М фосфатном буфері $T = 303$ К

Протон	δ_1	δ_2	δ_3	δ_4	δ_m	K_1	K_2	K_3	K_4
Дауноміцин+5'-d(CGTACG)									
H1	7,71	7,78	7,41	7,44	7,83	22 (± 4)	6900 (± 500)	36 (± 6)	33 (± 5)
H3	6,80	7,29	7,21	6,92	7,55				
H1'	4,82	5,07	5,45	4,79	5,52				
OMe ₍₄₎	3,32	3,89	3,79	3,31	4,02				
H10e	2,34	2,94	2,89	2,30	3,05				
H10a	2,60	2,56	2,51	2,52	2,81				
Дауноміцин+5'-d(CGCGCG)									
H1	7,44	7,55	7,43	7,25	7,83	68 (± 9)	2200 (± 280)	3,1 ($\pm 2,8$)	49 (± 12)
H2	7,18	7,72	7,61	7,06	7,78				
H3	6,98	7,27	7,22	6,84	7,55				
OMe ₍₄₎	3,51	3,80	3,76	3,38	4,02				
H10e	2,95	3,00	2,87	2,35	3,05				
Дауноміцин+5'-d(TACGTA)									
H1	7,61	7,71	7,70	7,42	7,83	76 (± 11)	1685 (± 210)	5,8 ($\pm 2,2$)	7,2 ($\pm 3,3$)
H3	7,12	7,43	7,24	7,21	7,55				
OMe ₍₄₎	3,76	3,92	3,73	3,56	4,02				
H10e	2,35	2,96	2,62	2,36	3,05				
H10a	2,53	2,54	2,39	2,43	2,81				

Порівняння розрахованих значень рівноважних констант $K_1 - K_4$ утворення 1:1, 1:2, 2:1, 2:2 комплексів DAU з дезоксигексануклетидами

(таблиця 1) показує їхню якісну відповідність для всіх вивчених систем. Отримані дані також якісно узгоджуються з результатами по зв'язуванню DAU з дезокситетрануклеотидами [3]. Так, імовірність утворення комплексу дауноміцина з дуплексом гексамерів (K_2) значно вище імовірностей утворення інших комплексів DAU-гексамер (схема 1) у водному розчині. Значення констант K_4 утворення 2:2 комплексу порівняльно малі, незважаючи на наявність в олігонуклеотидній послідовності двох триплетних ділянок – потенційних місць зв'язування DAU з дуплексом. Це вказує на антикооперативний характер процесу встроювання другої молекули дауноміцина між площинами основ гексамерного дуплекса у розчині. Це, певно, пов'язано з особливостями взаємодії з подвійною спіраллю ДНК молекули дауноміцина (малюнок 1), в якій з ароматичним хромофором зв'язане масивне, позитивно заряджене аміноцукрове кільце, яке створює певні стеричні перешкоди приєднанню до дуплексу другої молекули антибіотика.

Термодинамічні параметри комплексоутворення Розрахунок термодинамічних параметрів реакцій утворення різноманітного типу комплексів зроблено виходячи з молекулярної моделі рівноваги (1) і експериментальних температурних залежностей хімічних зсувів протонів ліганда. Спостерігаємий хімічний зсув $\delta(T)$ протона DAU при даній температурі T було надано у вигляді:

$$\delta(T) = \delta_m f_m(T) + \delta_d f_d(T) + \sum_{i=1}^4 \delta_i f_i(T), \quad (3)$$

де δ_m , δ_d , $\delta_1 - \delta_4$ і $f_m(T)$, $f_d(T)$, $f_1(T) - f_4(T)$ величини протонних хімічних зсувів DAU, що вважаються постійними, і рівноважні частки антибіотика при температурі T в мономерній і димерній формах, а також в складі різноманітного типу комплексів з гексануклеотидами відповідно [3]. Означені мольні частки $f_m(T)$, $f_d(T)$ і $f_i(T)$ є функцією температури і однозначно зв'язані з рівноважними константами димеризації ліганда K_D , дезоксигексануклеотида K_A і утворення комплексів $K_1 - K_4$. Визначення температурних залежностей для констант рівноваги $K_1 - K_4$ дозволяє знайти термодинамічні параметри – ентальпію (ΔH^0) і ентропію (ΔS^0) утворення різноманітних типів комплексів. Величини ΔH^0 і ΔS^0 визначено з використанням параметричних регресійних рівнянь, що описують температурні залежності мольних часток різноманітних комплексів [4]. У середнені за результатами розрахунку для різних протонів рівноважні значення вільної енергії Гіббса (ΔG^0), ΔH^0 і ΔS^0 реакцій комплексоутворення DAU з дезоксигексануклетидами наведено в таблиці 2.

Таблиця 2 – Термодинамічні параметри, ΔG^0 , ΔH^0 і ΔS^0 , комплексоутворення DAU з дезоксигексануклеотидами у 0,1 М фосфатном буфері, $T = 303\text{ K}$

Комплекс	$-\Delta G^0$, кДж/моль	$-\Delta H^0$, кДж/моль	$-\Delta S^0$, Дж/(моль·К)
DAU+5'-d(CpGpTpApCpG)			
1:1	25,2±0,4	160±20	450±56
1:2	39,6±0,3	53±6	45±16
2:1	26,4±0,4	91±11	210±28
2:2	26,2±0,4	42±6	51±10
DAU+5'-d(CpGpCpGpCpG)			
1:1	28,0±0,4	175±24	484±51
1:2	36,8±0,3	98±11	201±33
2:1	20,2±0,4	88±13	225±34
2:2	27,2±0,6	43±5	50±14
DAU+5'-d(TpApCpGpTpA)			
1:1	28,3±0,4	143±15	379±48
1:2	36,1±0,3	100±8	211±30
2:1	21,8±0,8	66±14	147±53
2:2	22,4±0,9	87±13	213±46

На основі даних таблиці 2 можна зробити висновок, що всі реакції комплексоутворення DAU з гексамерами є екзотермічними. Значення ΔG^0 , ΔH^0 і ΔS^0 утворення 1:1, 2:1 і 2:2 комплексів дауноміцина з гексамерами досить близькі з урахуванням експериментальної помилки їхнього визначення. Однак спостерігається велика відмінність в значеннях термодинамічних параметрів утворення 1:2 комплексу, що вказує на істотні відзнаки в імовірності зв'язування антибіотика з триплетними ділянками дуплексів вивчених гексануклеотидів. Враховуючи, що найбільш імовірною ділянкою зв'язування дауноміцина з дуплексом d(TACGTA)₂ є d(TpA)-сайт, а у гексамерів d(CGCGCG) і d(CGTACG) ділянка d(CpG), відмінності, що спостерігаються в термодинамічних параметрах можуть бути пов'язані як з особливостями малих борізодок двоспіральних гексануклеотидів так і з енергетикою взаємодії хромофора ліганда з парами основ (зокрема утворення міжмолекулярних H-зв'язків). З таблиці 2 видно, що абсолютні величини ентальпії і ентропії утворення 1:2 комплексу DAU з d(CGTACG) суттєво менші, ніж ΔH^0 і ΔS^0 для подібних комплексів антибіотика з d(CGCGCG) і d(TACGTA). Таким чином, можна зробити висновок, що гідрофобні взаємодії, які дають позитивний ентропійний внесок, грають більш істотну роль при зв'язуванні антибіотика з d(CGTACG) у порівнянні з

гексамерами d(CGCGCG) і d(TACGTA).

Зважаючи на те, що гексамери d(CGTACG) і d(CGCGCG) мають ідентичну d(CpG) ділянку інтеркаляції антибіотика, спостерігаємо відмінності в термодинамічних параметрах можуть бути пов'язані з особливостями малих канавок двоспіральних гексануклеотидів. Можна припустити, що конформаційно жорстке аміноцукрове кільце DAU краще відповідає по своїй структурі малій канавці подвійної спіралі, що містить АТ-пари, ніж канавці дуплекса d(CGCGCG)₂. Це підтверджується міжмолекулярними NOE-контактами H2'/H2''(DAU)-H5'(A4), CH₃(DAU)-H4'(A4) в комплексі DAU+d(CGTACG)₂, а також результатами теоретичного аналізу [5], що вказують на стеричне відштовхування між аміноцукровим кільцем DAU і 2-аміногрупою G4 в малій канавці двоспірального дуплекса d(CGCGCG)₂, що перешкоджає встановленню енергетично вигідних ван-дер-ваальсовських контактів між хромофором антибіотика і парами основ ДНК. Ці обставини є основним фактором переважного зв'язування DAU з триплетами d(CGTACG)₂, що містять АТ-пари, у порівнянні з трьома послідовними CG-парами в d(CGCGCG)₂ в водному розчині. Додаткове зниження константи утворення 1:2 комплексу для системи DAU+d(TACGTA) може бути пояснене меншою енергетикою d(AT)-пар, і, отже, меншою стабільністю комплексів ліганда з термінальними сайтами.

Проведені дослідження дозволяють зробити висновок про сиквенс-специфічність зв'язування DAU з триплетними нуклеотидними послідовностями, при цьому спорідненість антибіотика до триплетів зменшується в ряді 5'-d(CGT) > 5'-d(CGC) > 5'-d(TAC). Таким чином, енергетично більш вигідна інтеркаляція антибіотика в 5'-d(CpG)-сайт в порівнянні з 5'-d(TrA)-сайтом, за умови, що аміноцукрове кільце розташовується в малій канавці подвійної спіралі, в області АТ-пари азотистих основ, що узгоджується з даними теоретичних досліджень [5].

Структури комплексів. Кількісне визначення структур DAU з дезоксигексануклеотидними дуплексами (1:2 комплексами) було зроблено з використанням програми X-PLOR і даних про внутрішні і міжмолекулярні NOE контакти в спектрі досліджуємих розчинів, а також з урахуванням розрахункових значень граничних хімічних зсувів протонів антибіотика δ_2 в складі 1:2 комплексу (таблиця 1). В розрахунках використано модифіковану модель еквівалентних магнітних диполів, засновану на апроксимації квантово-механічних кривих екранування для азотистих основ нуклеїнових кислот, алгоритм перетворення координат атомів і програму, що реалізує цей алгоритм, розроблені в ІТЕБ РАН.

Послідовність перетворень координат в подвійній спіралі відповідала зміні параметрів ω (пропелер пари), κ (злом пари), τ (нахил пари), ρ (крен),

D_x (зсув), D_y (ковзання), D_z (підняття), Ω (закручування). Обчислювальну процедуру визначення конформаційних параметрів інтеркальованих комплексів детально описано раніше в [3]. Результати розрахунків спіральних параметрів інтеркальованих комплексів DAU-дезоксигексануклеотиднаведено в таблиці 3.

Таблиця 3 – Розрахункові значення спіральних параметрів дезоксигексануклеотидів на ділянці інтеркаляції дауноміцина в дуплекси гексамерів d(CGCGCG), d(CGTACG) і d(TACGTA)

Структурні параметри							
$D_x, \text{нм}$	$D_y, \text{нм}$	$D_z, \text{нм}$	$\kappa, ^\circ$	$\omega, ^\circ$	$\Omega, ^\circ$	$\tau, ^\circ$	$\rho, ^\circ$
Дауноміцин+d(CGCGCG) ₂							
0,08	0,15	0,68	2,0	4,2	33	2,0	4,0
Дауноміцин+d(CGTACG) ₂							
0,07	0,19	0,65	4,0	3,6	36	5,0	4,0
Дауноміцин+d(TACGTA) ₂							
0,01	-0,04	0,65	3,0	4,0	34	6,2	4,0

На малюнку 4, як приклад, наведено найбільш імовірну просторову структура 1:2 комплексу DAU з дуплексом d(TACGTA)₂, яка відповідає інтеркаляції антибіотика в 5'-d(TrA)-сайт дезоксигексануклеотида. Розрахунки показали, що хромофор антибіотика в інтеркальованих комплексах DAU з d(CGTACG)₂ і d(CGCGCG)₂ орієнтований під кутом $\Psi \approx 110^\circ$, а в комплексі з d(TACGTA)₂ під кутом $\Psi \approx 122^\circ$ до продольної осі пар основ в подвійній спіралі гексамерних дуплексів. Це добре узгоджується з даними рентгеноструктурного аналізу комплексів DAU з олігонуклеотидами [6]. В свою чергу відмінності, що спостерігаються в структурних конформаційних параметрах інтеркальованих комплексів DAU з дезоксигексануклеотидами (див. таблицю 3), можливо, зумовлені

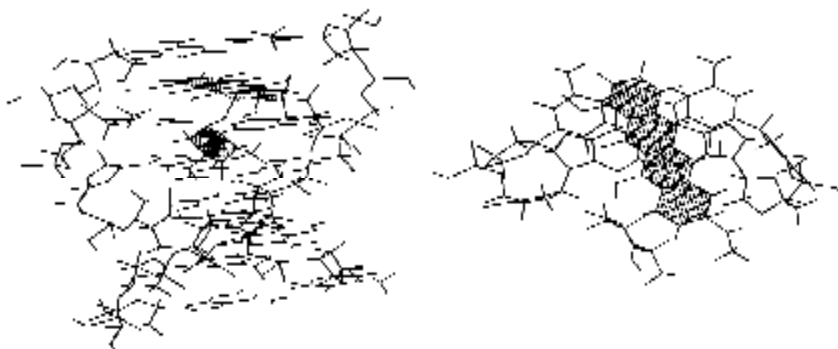


Рисунок 4 - Розрахункова структура комплексу DAU+5'-d(TACGTA)₂, відповідна інтеркаляції хромофора антибіотика в термінальний d(TrA)-сайт дуплекса:

а) вид збоку з боку малої борозни;

б) - вид згори (хромофорліганда і його аміноцукрове кільце виділені штриховкою)

особливостями розташування аміноцукрового кільця DAU в малій канавці олігонуклеотидних дуплексів різноманітної послідовності основ в ланцюзі. Декілька відмінний кут повороту хромофора антибіотика по відношенню до поздовжньої осі пари основ в раніше досліджених 1:2 комплексах DAU з тетрамерами ($\Psi \approx 90^\circ$) [3] у порівнянні з інтеркальованими комплексами антибіотика з гексамерами може бути пов'язаний з різною стабільністю двоспіральних структур тетрамерів і гексамерів в експериментальних умовах розчинника.

Таким чином, на основі проведених досліджень можна зробити наступні висновки:

1. Кількісний аналіз комплексоутворення DAU з дезоксигексануклеотидами d(CGCGCG), d(CGTACG) і d(TACGTA) свідчить про переважне зв'язування антибіотика з триплетною нуклеотидною послідовністю, що містить дві сусідні CG-пари, фланковані АТ-парою в d(CGTACG)₂ гексамері у порівнянні з триплетом, що містить три послідовні CG-пари в d(CGCGCG)₂ і з триплетом d(TAC) в дуплексі d(TACGTA). Це в значній мірі зумовлено гідрофобними взаємодіями аміноцукрового залишку антибіотика в малій канавці подвійної спіралі дезоксиолігонуклеотидного дуплекса у водному розчині.
2. Антибіотик дауноміцин виявляє певну специфічність зв'язування з d(CpG)-сайтом в одониткових послідовностях дезоксигексануклеотидів

Висловлюємо вдячність Об'єднаному дослідному центру Лондонського університету за надану можливість використати в Беркбек коледжі ЯМР спектрометр (500 МГц). Проведені дослідження частково фінансувалися Міжнародною програмою INT AS (грант № INT AS-97 31753).

Бібліографічний список

1. ЯМР-анализ термодинамических характеристик самоассоциации молекул дезоксигексануклеотида 5'-d(TrApCpGpTrA) в водном растворе/ А.Н. Веселков, В.И. Пахомов, Р.Дж. Итон, Д.Б. Дэвис // Доповіді НАНУ. — 2001. — № 3. — С. 95–101.
2. Predicting DNA duplex stability from the base sequence (nearest-neighbor interactions)/DNA structure/thermodynamics/ K.J. Breslauer, R. Frank, H. Blöcker, L.A. Marky // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1986. — V. 83. — P. 3746–3750.
3. NMR investigation of the complexation of daunomycin with deoxytetranucleotides of different base sequence in aqueous solution / D.B. Davies, R.J. Eaton, S.F. Baranovsky, A.N. Veselkov // J. Biomol. Str. Dyn — 2000. — V. 17. — № 5. — P. 887–901.
4. Davies D.B. Structural and thermodynamical analysis of molecular complexation by ¹H NMR spectroscopy - intercalation of ethidium bromide with the isometric deoxytetranucleoside triphosphates 5'-d(GpCpGpC) and 5'-d(CpGpCpG) in aqueous solution / D.B. Davies, A.N. Veselkov // J. Chem. Soc. Faraday Trans. — 1996. — V. 92. — P. 3545–3557.
5. Pullman B. Molecular mechanisms of specificity in DNA-antitumor drug interactions / B. Pullman // In Advances in Drug Research. — L., 1989. — V. 18. — P.

1–113.

Поступила в редакцію 4.04.2002 з.

УДК 541.49+539.1.12.43