

О.О. ЛЮБИШ,¹ О.М. АЛЕКСЄЄВ,¹ С.Ю. ТКАЧОВ,¹ С.М. ПЕРЕПЕЛИЦЯ²

¹ Київський національний університет ім. Тараса Шевченка
(Вул. Володимирська, 64, Київ 01033)

² Інститут теоретичної фізики ім. М.М. Боголюбова
(Вул. Метрологічна, 14б, Київ 03680; e-mail: perepelytsya@bitp.kiev.ua)

ЕФЕКТ ІОННОГО ВПОРЯДКУВАННЯ В ЕКСПЕРИМЕНТАХ ПО ЕЛЕКТРОПРОВІДНОСТІ ВОДНИХ РОЗЧИНІВ ДНК

УДК 539.199

Прояви впорядкування іонів у водних розчинах ДНК досліджувалися за допомогою методу кондуктометрії. Вимірювання електропровідності проводилися для водних розчинів ДНК з додаванням солі KCl в температурному діапазоні від 28 до 70 °С. Концентрація солі змінювалася від 0 до 2 М. Також вимірювалася електропровідність розчинів без ДНК з таким самим вмістом солі. Результати показали, що у випадку безсолівого розчину ДНК спостерігають стадії плавлення подвійної спіралі, тоді як у випадку розчину ДНК з додаванням солі, денатурація макромолекули не спостерігалася. Для концентрації солі, нижчої від критичної (0,4 М), електропровідність розчину з ДНК вища за електропровідність відповідного електроліту. Починаючи з критичної концентрації, електропровідність електроліту вища за електропровідність розчину ДНК. Для опису експериментальних даних була розроблена феноменологічна модель, що базується на теорії електролітів. В рамках побудованої моделі запропоновано механізм впорядкування протиіонів. Відповідно до запропонованого механізму за низьких концентрацій солі електропровідність системи зумовлена протиіонами іон-гідратної оболонки ДНК. При підвищенні кількості іонів до критичної концентрації протиіони починають конденсуватися на поліаніони ДНК. Подальше підвищення концентрації солі індукує формування ДНК-сольових комплексів, поява яких приводить до зменшення електропровідності системи.

Ключові слова: ефект іонного впорядкування, водний розчин ДНК, електропровідність, теорія електролітів, механізм впорядкування протиіонів, ДНК-сольовий комплекс.

1. Вступ

Подвійна спіраль ДНК – це сильний поліелектроліт, який при взаємодії з водою дисоціює на поліаніонну макромолекулу та рухливі катіони (протиіони) [1, 2]. В природних умовах протиіони це позитивно заряджені іони металів (зазвичай Na⁺ або K⁺), що нейтралізують негативно заряджені фосфатні групи остова макромолекули. Протиіони та молекули води формують іон-гідратну обо-

лонку навколо ДНК, що стабілізує структуру подвійної спіралі [3–8]. Незважаючи на значну рухливість протиіонів, вони організовані як динамічна структура навколо макромолекули. Ця структура може бути регулярною через однорідність остова ДНК [9, 10]. Впорядкування протиіонів навколо макромолекули ДНК визначає пружні властивості подвійної спіралі (згин, кручення, денатурація), взаємодію ДНК з біологічно активними сполуками (білками, молекулами медичних препаратів) і механізми компактизації макромолекули в невеликі об'єми (хромосоми, вірусні капсиди) [11–

© О.О. ЛЮБИШ, О.М. АЛЕКСЄЄВ, С.Ю. ТКАЧОВ,
С.М. ПЕРЕПЕЛИЦЯ, 2014

16]. Таким чином, вивчення динамічного впорядкування протиіонів ДНК є дуже важливим для розуміння біологічного функціонування ДНК.

Оскільки заряджені частинки розчину взаємодіють з електричним полем, ефекти іонного впорядкування протиіонів навколо подвійної спіралі можуть спостерігатися в експериментах з електропровідності водних розчинів ДНК. Як відомо, електричний струм у водних розчинах ДНК зумовлений рухом протиіонів та молекул ДНК [17–23]. У випадку розчинів ДНК без додавання солі (безсолевий розчин) електропровідність зростає зі збільшенням концентрації ДНК за рахунок динаміки протиіонів іон-гідратної оболонки макромолекули [17, 18]. З підвищенням температури електропровідність системи поступово збільшується, а за температури плавлення подвійної спіралі відбувається раптова зміна електропровідності, зумовлена інтенсивним викидом протиіонів з іон-гідратної оболонки ДНК [18]. У випадку додавання солі до розчину ДНК електропровідність залежить від типу протиіонів та концентрації солі [17, 18]. Залежність від типу протиіонів, в основному, зумовлена різною електрофоретичною рухливістю іонів [17], тоді як залежність від концентрації солі має відображати впорядкування іонів у розчині. Експериментальні дані показують, що при низькій концентрації доданої солі NaCl електропровідність розчину ДНК вища, ніж електропровідність розчину електроліту NaCl. Водночас, починаючи з деякої концентрації, електропровідність розчину ДНК стає нижчою за електропровідність електроліту [19]. Причина такої концентраційної залежності електропровідності розчинів ДНК ще не визначена.

Для з'ясування мікроскопічної картини процесу електропровідності в розчинах ДНК було розроблено феноменологічні підходи і проведено розрахунки на основі атом-атомних потенціальних функцій [24–27]. Результати показали, що динаміка протиіонів поблизу поверхні ДНК модулюється зарядженими атомними групами остова подвійної спіралі. Частина часу протиіони проводять у комплексі з ДНК (приблизно 1 нс), а іншу частину часу – у вільному стані [28–31]. Вільні протиіони значною мірою визначають електропровідність розчину ДНК, що було враховано у феноменологічних моделях [24, 26]. У той самий час, протиіони, що осіли на фосфатні групи, формують

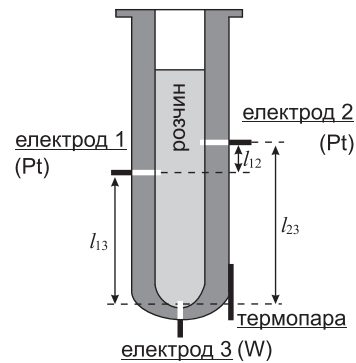


Рис. 1. Схема експериментальної комірки

впорядковану динамічну структуру вздовж остова ДНК, яку можна розглядати як ґратку іонного типу (іон-фосфатну ґратку) [9, 10]. Існування іон-фосфатної ґратки підтверджується спостереженням коливальних мод у низькочастотних спектрах комбінаційного розсіяння світла ДНК ($<200 \text{ см}^{-1}$) [32–35]. Впорядкування протиіонів навколо подвійної спіралі і формування іон-фосфатної ґратки має впливати на електропровідність водних розчинів ДНК.

Метою даної роботи є вивчення проявів впорядкування протиіонів навколо подвійної спіралі ДНК в експериментах з електропровідності водних розчинів ДНК з додаванням солі. Для розв'язання цієї задачі, електропровідність водних розчинів ДНК з сіллю KCl вивчається експериментально в розділі 2. В результаті було отримано концентраційну залежність (0–2 М) електропровідності розчинів ДНК в температурному діапазоні від 28 до 70 °C (розділ 3). Для інтерпретації експериментальних даних була розроблена феноменологічна модель, що ґрунтується на електролітичній теорії (розділ 4). В розділі 5 обговорюється можливий механізм іонного впорядкування навколо подвійної спіралі ДНК.

2. Матеріали та методи

Зразки готувалися з використанням натрієвої солі ДНК з сім'яників лосося, придбаної у компанії Sigma-Aldrich Company (номер продукту D1626). Середня довжина макромолекул ДНК становить приблизно 2000 пар основ [36]. Для приготування зразків порошок ДНК розчиняли в деіонізованій воді до концентрації 10 мг/мл. Для зменшення в'язкості розчину ДНК, його обробляли за допо-

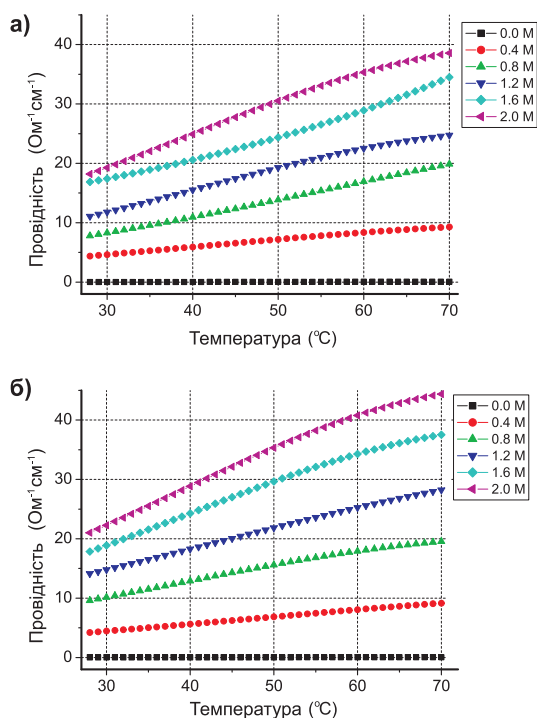


Рис. 2. Температурна залежність електропровідності зразків: а – розчин ДНК з додаванням солі КСl; б – розчин КСl

могою лабораторного автоматичного змішувача і охолоджували до 0 °С (без замерзання води). Потім початковий розчин розбавляли до концентрації ДНК 2 мг/мл і додавали сіль КСl. Концентрації доданої солі були такі: 0,4, 0,8, 1,2, 1,6 та 2 М. Також були приготовлені водні розчини без ДНК з такими самими концентраціями солі КСl. Таким чином, було приготовано дві серії зразків: розчини електроліту КСl та водні розчини ДНК з сіллю КСl.

Для визначення опору зразка, розчин (приблизно 0,3 мл) заливався в циліндричний капіляр, вироблений з кварцового скла з двома платиновими електродами (електрод 1 та 2) та одним вольфрамовим електродом (електрод 3), які вбудовано в стінки капіляра (рис. 1). Експериментальна комірка поміщалася в термостат. Опір визначався за змінного струму частотою 80 КГц.

Вимірний опір має поляризаційні внески зразків та електродів. Для виключення внесків від електродів вимірювання проводилися між різними парами електродів: 1 та 3, 2 та 3 (рис.1). У цьому випадку опір можна представити у такому

вигляді:

$$R_{13} = \frac{l_{13}}{\pi r^2 \sigma} + R_{Pt} + R_W; \quad (1)$$

$$R_{23} = \frac{l_{23}}{\pi r^2 \sigma} + R_{Pt} + R_W, \quad (2)$$

де l_{13} та R_{23} – вимірні опори між електродами 1–3, 2–3, відповідно; l_{13} та l_{23} – відстань між електродами 1–3 та 2–3, відповідно; r – радіус капіляра; σ – питома провідність, R_{Pt} та R_W – опори платинових та вольфрамового електродів відповідно. Перші члени рівняння (1) та (2) описують опір зразка, а другі та треті описують поляризаційний опір електродів. З рівнянь (1) та (2) одержуємо таку формулу для провідності зразків:

$$\sigma = \frac{l_{12}}{\pi r^2 (R_{13} - R_{23})}, \quad (3)$$

де l_{12} – відстань між електродами 1–2. Використовуючи формулу (3), визначалася електропровідність зразків.

3. Результати

Отримано температурні залежності електропровідності сольового розчину (σ_{KCl}) та розчину ДНК з доданою сіллю ($\sigma_{DNA+salt}$) (рис. 2). Результати показують, що електропровідність всіх досліджуваних зразків зростає з підвищенням температури.

Згідно з активаційним механізмом руху іонів в розчині температурна залежність електропровідності системи може описуватися за допомогою рівняння, аналогічного до рівняння Арреніуса для швидкостей хімічних реакцій [37]:

$$\sigma = \sigma_0 \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T}\right), \quad (4)$$

де σ_0 – коефіцієнт; ΔE – потенціальний бар'єр; k_B – константа Больцмана; T – температура. Експонента описує ймовірність стрибка іонів через потенціальний бар'єр за рахунок теплових флуктуацій. Для аналізу температурної залежності електропровідності використаємо координати Арреніуса: залежність логарифма електропровідності від оберненої температури. З формули (4) видно, що температурна залежність електропровідності в координатах Арреніуса має бути лінійною.

З графіка температурної залежності електропровідності в координатах Арреніуса для безсольового розчину (рис. 3, а) видно, що є дві точки

поділу на лінійні області. Лінійні області в координатах Арреніуса характеризують процес плавлення подвійної спіралі ДНК [18]. Області I (28–37 °С) та III (54–70 °С) відповідають двоспиральній та однотяжовій ДНК, відповідно. Область II (37–54 °С) характеризує денатурацію макромолекули ДНК. У випадку додавання до розчину ДНК солі різниця між даними областями в координатах Арреніуса незначна і точки поділу непомітні (рис. 3, б). Вплив доданої солі можна пояснити додатковою нейтралізацією негативнозаряджених атомних груп подвійної спіралі іонами солі.

Різні області в координатах Арреніуса характеризують різні енергії активації руху іонів у розчині. Значення енергії активації ΔE визначаються кутом нахилу прямих на рис. 3 (див. таблицю). Результати показують, що в безсольовому розчині ДНК при температурах нижче температури плавлення (область I) енергія активації набагато вища у порівнянні з розчином електроліту (приблизно 25 кДж/моль). В проміжній області (область II) енергія активації (приблизно 43 кДж/моль) зростає майже в два рази порівняно з областю I, що зумовлено викидом протиіонів з іон-гідратної оболонки ДНК [9]. При температурах плавлення (область III) значення ΔE зростають.

В розчинах ДНК з додаванням солі потенціальні бар'єри різних областей майже однакові. Порівнюючи ці значення з випадком безсольового розчину, бачимо, що значення ΔE лише трохи зменшуються в області I та III. Водночас, у випадку області II воно зменшилося вдвічі. Той факт, що в області II порівняно низький активаційний бар'єр, показує, що додавання солі приводить до підвищення температури плавлення подвійної спіралі ДНК, що також спостерігається в калориметричних експериментах [2].

Підвищення концентрації доданої солі призводить до збільшення електропровідності і для роз-

Значення потенціального бар'єра ΔE для руху іонів в розчинах ДНК (кДж/моль)

	0 М	0,4 М	0,8 М	1,2 М	1,6 М	2,0 М	Середнє значення
I	25,01	18,55	21,71	21,33	13,15	20,10	19 ± 4
II	41,52	14,07	18,99	15,78	14,90	14,74	16 ± 2
III	13,62	9,98	15,65	9,36	16,83	8,61	12 ± 4 16 ± 4

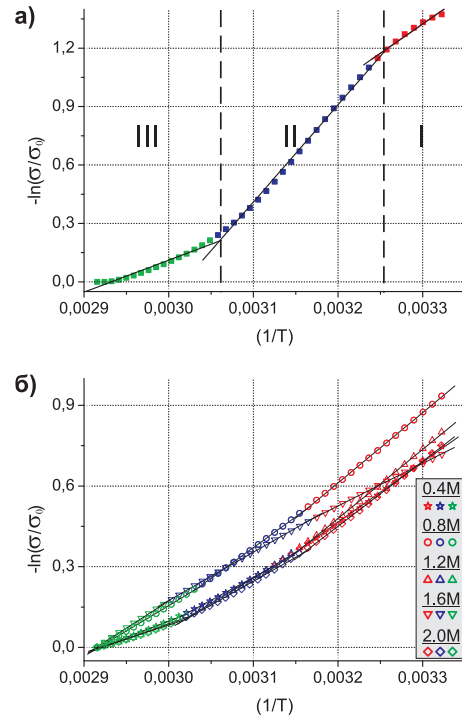


Рис. 3. Температурна залежність електропровідності в координатах Арреніуса для водних розчинів ДНК; а – безсольовий розчин. I двотяжова ДНК (червоні крапки); II проміжна область плавлення подвійної спіралі (сині крапки); III область однотяжової ДНК (зелені крапки); б – розчин ДНК з додаванням солі. Суцільна чорна пряма – лінійна апроксимація

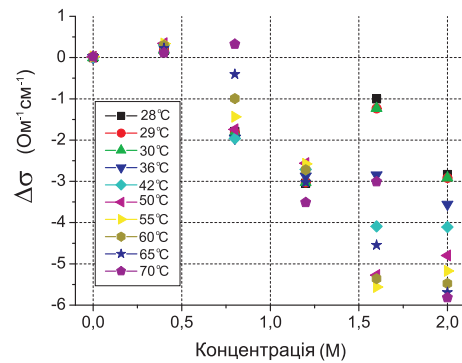


Рис. 4. Концентраційна залежність різниці електропровідностей розчину ДНК та розчину електроліту

чину ДНК, і для електроліту (рис. 2). Для порівняння електропровідності розчину ДНК з доданою сіллю та електропровідності розчину електроліту КСl аналізувалася різниця $\Delta\sigma = \sigma_{\text{DNA+КСl}} - \sigma_{\text{КСl}}$ (рис. 4). Результати показують, що при концентра-

ції нижче критичної (приблизно $c_{cr} \approx 0,4$ М), електропровідність розчину ДНК вища за електропровідність сольового розчину ($\sigma_{DNA+salt} > \sigma_{salt}$). За критичної концентрації ($c = c_{cr}$) електропровідності розчину ДНК та розчину КСІ однакові ($\Delta\sigma = 0$). Починаючи з критичної концентрації ($c > c_{cr}$) електропровідність розчину ДНК нижча, ніж електропровідність відповідного електроліту ($\sigma_{DNA+salt} < \sigma_{salt}$). Характер залежності різниці електропровідностей від концентрації солі в діапазоні від 0 до c_{cr} приблизно однакова для різних температур, в той час як у концентраційному діапазоні від c_{cr} до 2 М вона є різною для різних температур. Зміни величин $\Delta\sigma$ при зміні концентрації доданої солі повинні відображати структурні зміни, що відбуваються в розчині ДНК.

4. Модель

Для того щоб зрозуміти механізм електропровідності водних розчинів ДНК, проаналізуємо стан макромолекули ДНК в розчині. У зв'язку з великою контурною довжиною макромолекула ДНК має форму клубка. Розмір клубка може бути оцінений з використанням персистентної моделі [2, 38]. В рамках цієї моделі середньоквадратична відстань між кінцями макромолекули визначається таким чином:

$$\bar{D}^2 = 2P^2(L/P - 1 + e^{-L/P}), \quad (5)$$

де L та P – контурна та персистентна довжини макромолекули відповідно. Контурна довжина ДНК з сім'яників лосося $L \approx 0,68$ мкм [36]. Персистентна довжина ДНК $P \approx 500$ А [3, 36]. Використовуючи ці параметри, оцінюємо середній об'єм клубка ДНК – $0,02$ мкм³. Враховуючи те, що середнє число макромолекул ДНК в 1 мл досліджуваного розчину становить 10^{15} , загальний об'єм, що займають клубки молекул ДНК, має дорівнювати приблизно 20 мл. Можна зробити висновок, що клубки макромолекул у даному розчині перекриваються. Тому, процес електропровідності може бути пов'язаний лише рухом мобільних іонів, оскільки рух макромолекул ускладнений. Кількість рухомих іонів, що беруть участь в процесі електропровідності, визначається концентрацією протиіонів ДНК та іонів доданої солі. Беручи це до уваги, електропровідність розчину мо-

жна представити таким чином:

$$\sigma_{DNA+salt}(c) = \sigma_1(c) + \sigma_2(c), \quad (6)$$

де $\sigma_1(c)$ – електропровідність, зумовлена мобільними іонами солі (вільні іони); $\sigma_2(c)$ – електропровідність, зумовлена протиіонами іон-гідратної оболонки ДНК; c – концентрація доданої солі. Беручи до уваги, що іони солі можуть конденсуватися на макромолекулі ДНК, електропровідність вільних іонів може розглядатись таким чином:

$$\sigma_1(c) = \sigma_{salt}(c) - A_1(c)(\lambda^+ + \lambda^-), \quad (7)$$

де $\sigma_{salt}(c)$ – внесок іонів солі в провідність системи; $A_1(c)$ – концентрація іонів солі, що сконденсувалися на макромолекулі ДНК; λ^+ та λ^- – рухливості додатно і від'ємно заряджених іонів, відповідно. Другий член в (7) описує зменшення електропровідності, що зумовлена асоціацією позитивно та негативно заряджених іонів з ДНК. Необхідно зазначити, що негативно заряджені іони можуть осідати на позитивно заряджені іони, що вже сконденсувалися на фосфатні групи остова ДНК.

Внесок протиіонів іон-гідратної оболонки ДНК в електропровідність системи враховується таким чином:

$$\sigma_2(c) = c_p \lambda^+ - A_2(c) \lambda^+, \quad (8)$$

де c_p – концентрація протиіонів, що приблизно дорівнює кількості фосфатних груп ДНК; $A_2(c)$ – концентрація протиіонів, зв'язаних з від'ємнозарядженими атомними групами макромолекули ДНК. Перший член в (8) описує внесок протиіонів ДНК в електропровідність системи. Другий член в (8) описує зменшення електропровідності за рахунок асоціації протиіонів з фосфатними групами макромолекули. Беручи до уваги формули (6), (7) і (8), внесок ДНК в електропровідність розчину поліелектроліту ($\Delta\sigma = \sigma_{DNA+salt} - \sigma_{salt}$) може бути визначений таким чином:

$$\Delta\sigma = c_p \lambda^+ - A_2(c) \lambda^+ - A_1(c)(\lambda^+ + \lambda^-). \quad (9)$$

Концентрацію сконденсованих іонів можна вважати пропорційною до концентрації солі та концентрації фосфатних груп ДНК, відповідно: $A_1(c) = \beta(c)c$ і $A_2(c) = \alpha(c)c_p$. Коефіцієнти $\alpha(c)$ і $\beta(c)$ залежать від концентрації доданої солі і описують частку іонів, сконденсованих на поверхню

макромолекули. Розглянемо функції $\alpha(c)$ і $\beta(c)$ в лінійному наближенні:

$$\alpha(c) = \alpha_0 + \alpha_1 c; \quad \beta(c) = \beta_0 + \beta_1 c, \quad (10)$$

де α_0 , α_1 , β_0 і β_1 – параметри, що можуть бути визначені з наступних умов.

У випадку безсолевого розчину ($c = 0$) електропровідність визначається вільними протиіонами ДНК і $\alpha|_{c=0} = 0$, тому $\alpha_0 = 0$. Підвищення концентрації солі приводить до зростання ступеня нейтралізації ДНК, і при деякій критичній концентрації ($c = c_{cr}$) всі фосфатні групи подвійної спіралі будуть нейтралізовані. Для протиіонів, що осіли на макромолекулу ДНК і не беруть участі у процесі електропровідності, має виконуватися умова $\alpha|_{c \geq c_{cr}} = 1$, з якої випливає $\alpha_1 = 1/c_{cr}$. Іони доданої солі конденсуються на протиіони, що вже осіли на фосфатні групи остова ДНК, тому $\beta|_{c \leq c_{cr}} = 0$ і $\beta_0 = -\beta_1 c_{cr}$. Подальше збільшення концентрації солі приводить до кристалізації іонів солі, і при деякій концентрації ($c = c_{max}$) кристалізація буде максимальною, що відповідає умові $\beta|_{c=c_{max}} = 1$. З цього випливає $\beta_1 = 1/(c_{max} - c_{cr})$. Таким чином, формули (10) можуть бути записані у такій формі:

$$\alpha(c) = \frac{c}{c_{cr}}; \quad \beta(c) = \frac{c - c_{cr}}{c_{max} - c_{cr}}. \quad (11)$$

Температурна залежність рухливості іонів може бути врахована аналогічно до рівняння (4): $\lambda = \lambda_0 \exp(-\Delta E/k_B T)$, де λ_0 – характеристична рухливість. Значення λ_0 можна визначити за відомими значеннями рухливості іонів за певної температури T_0 : $\lambda_0 = \lambda(T_0) \exp(\Delta E/k_B T_0)$. Беручи це до уваги, і підставивши формулу (11) в рівняння (9), формула для $\Delta\sigma$ може бути записана в такій формі:

$$\Delta\sigma = \begin{cases} \frac{(c_{cr} - c)c_p \lambda_0^+}{c_{cr}} \exp\left[-\frac{\Delta E(1 - T/T_0)}{k_B T}\right], & c \leq c_{cr}; \\ -\frac{(c - c_{cr})c(\lambda_0^+ + \lambda_0^-)}{c_{max} - c_{cr}} \exp\left[-\frac{\Delta E(1 - T/T_0)}{k_B T}\right], & c > c_{cr}. \end{cases} \quad (12)$$

В рівнянні (12) λ_0^+ та λ_0^- – рухливості додатно та від'ємно заряджених іонів при температурі T_0 .

Як видно, величина $\Delta\sigma$ додатна в діапазоні концентрацій солі $c \leq c_{cr}$. У випадку вищої концентрації доданої солі $c > c_{cr}$, значення $\Delta\sigma$ – від'ємне.

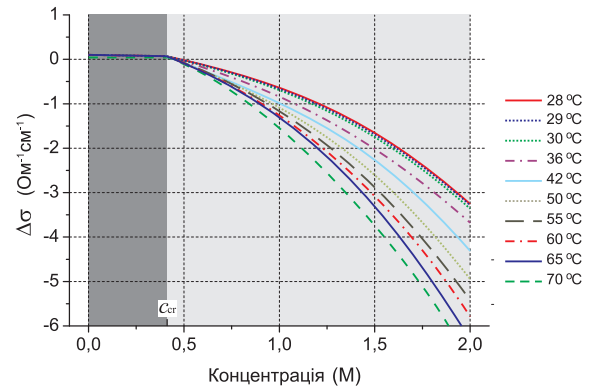


Рис. 5. Концентраційна залежність різниці електропровідностей розчинів ДНК та електроліту, розрахована за формулою (12)

Внесок ДНК в електропровідність поліелектроліту несуттєвий ($\Delta\sigma = 0$), коли всі фосфатні групи остова ДНК нейтралізовані ($c = c_{cr}$). Необхідно зазначити, що розроблена модель не враховує процес руйнування макромолекули ДНК при досягненні температури плавлення.

5. Обговорення

Для того щоб охарактеризувати вплив макромолекул ДНК на електропровідність системи оцінимо $\Delta\sigma$ за формулою (12). Параметри, необхідні для розрахунків, визначалися таким чином. Концентрація фосфатних груп у розчині визначалась відповідно до концентрації ДНК в експериментальних зразках (2 мг/мл) $c_p = 6,35$ М. Максимальна концентрація солі була взята рівною межі розчинності солі КСІ, $c_{max} = 4,6$ М [39]. Значення критичної концентрації доданої солі $c_{cr} = 0,4$ М визначено з умови $\Delta\sigma = 0$. Характеристична рухливість λ_0^+ та λ_0^- для іонів K^+ і Cl^- взята такою, як у іонів розчинів електролітів $\lambda_0^+ = 55,1 \text{ см}^2 \Omega^{-1} \text{ моль}^{-1}$ і $\lambda_0^- = 55,8 \text{ см}^2 \Omega^{-1} \text{ моль}^{-1}$ при температурі 25°C [37]. Потенціальний бар'єр $\Delta E \approx 16$ кДж/моль взятий рівним середньому значенню енергії активації (див. таблицю). В результаті концентраційна залежність для $\Delta\sigma$ наведена на рис. 5.

Легко бачити, що електропровідність розчину ДНК у діапазоні концентрацій $c < c_{cr}$ практично така сама, як і електропровідність відповідного розчину електроліту. Значення $\Delta\sigma$ – додатні. За високих концентрацій ($c > c_{cr}$) різниця між електропровідностями розчину ДНК та розчину еле-

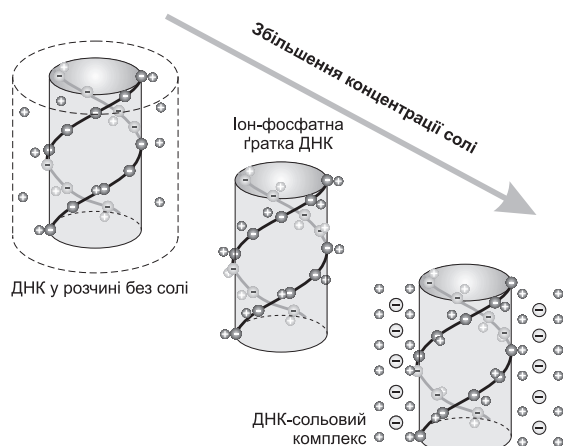


Рис. 6. Схема процесу іонного впорядкування навколо подвійної спіралі макромолекули ДНК при різних концентраціях доданої солі

ктроліту є від'ємною. З підвищенням температури значення $\Delta\sigma$ зростає в цьому діапазоні концентрацій. Результати розрахунків (рис. 5) якісно узгоджуються з експериментальними даними (рис. 4). Проте, в діапазоні концентрацій $c < c_{cr}$ експериментально отримані значення $\Delta\sigma$ більші, що може бути зумовлено складністю механізму конденсації протіонів на ДНК.

За результатами проведених оцінок може бути запропонований наступний механізм іонного впорядкування навколо макромолекули ДНК. При низьких концентраціях доданої солі ступінь нейтралізації фосфатних груп приблизно такий самий, як і для безсолевого розчину (рис. 6). Протіони іон-гідратної оболонки макромолекули визначають електропровідність системи. З підвищенням концентрації солі кількість нейтралізованих фосфатних груп збільшується, і за критичної концентрації вони стають повністю нейтралізованими. Протіони разом з фосфатними групами формують електрично нейтральну систему подібну до ґратки іонного кристала (іон-фосфатна ґратка) [30–33]. Формування іон-фосфатної ґратки приводить до зменшення електропровідності системи. Після формування іон-фосфатної ґратки, аніони солі конденсуються на протіони, що осіли на фосфатні групи макромолекули. Таким чином формуються ДНК-сольові комплекси, що можуть спостерігатися на поверхні після випаровування розчину [16]. Формування ДНК-сольових ком-

плексів знижує електропровідність системи за рахунок зменшення кількості позитивно і негативно заряджених іонів, що беруть участь у створенні електричного струму.

6. Висновки

У даній роботі досліджено впорядкування іонів в водних розчинах ДНК за допомогою методів кондуктометрії. В результаті отримано температурну залежність (від 28 до 70 °С) електропровідності розчинів ДНК з сіллю КСl (концентрація солі від 0 до 2 М). У випадку розчину без солі отримано три області, що описують стадії процесу плавлення подвійної спіралі ДНК. У разі додавання до розчину ДНК солі характерні стадії плавлення макромолекули ДНК ледь помітні, що може бути пов'язано зі стабілізацією подвійної спіралі іонами доданої солі. Порівняння електропровідності розчину ДНК з доданою сіллю та розчину електроліту показує, що при концентрації нижче, ніж 0,4 М (критична концентрація) електропровідність розчинів ДНК є вищою за електропровідність відповідного розчину електроліту. Починаючи з критичної концентрації електропровідність електроліту вища за електропровідність розчину ДНК.

На основі розробленої феноменологічної моделі електропровідності розчинів ДНК, запропоновано механізм іонного впорядкування в розчинах ДНК. Вважається, що при низьких концентраціях доданої солі протіони ДНК роблять значний внесок в електропровідність системи. При підвищенні концентрації солі до деякого критичного значення протіони конденсуються на макромолекулі ДНК і формують іон-фосфатну ґратку. Подальше збільшення концентрації солі приводить до того, що аніони солі конденсуються на катіонах, що вже осіли на фосфатних групах остова ДНК і, таким чином, формуються ДНК-сольові комплекси. Зростання комплексів ДНК і сіллю зменшує електропровідність системи. Представлений механізм якісно описує спостережувані під час експерименту зміни електропровідності розчинів ДНК.

Робота виконана за часткової підтримки Державного фонду фундаментальних Дослідження України: Проект 0112U007406. Автори висловлюють подяку кандидату біологічних наук С.Я. Мандрику за консультації по приготуванню зразків ДНК.

1. W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure* (Springer, New York, 1984).
2. Yu.P. Blagoi, V.L. Galkin, V.L. Gladchenko, S.V. Kornilova, V.A. Sorokin, and A.G. Shkorbatov, *The Complexes of Nucleic Acids and Metals in the Solutions* (Naukova Dumka, Kiev, 1991).
3. V.Ya. Maleev, M.A. Semenov, M.A. Gassan, and V.A. Kashpur, *Biofizika*, **38**, No. 5, 768 (1993).
4. Y. Levin, *Rep. Prog. Phys.* **65**, 1577 (2002).
5. A.A. Kornyshev, D.J. Lee, S. Leikin, and A. Wynveen, *Rev. Mod. Phys.* **79**, 943 (2007).
6. G.S. Manning, *Q. Rev. Biophys.* **11**, 179 (1978).
7. V.A. Bloomfield, *Biopolymers*, **44**, 269 (1997).
8. R. Das, T. T. Mills, L.W. Kwok, G.S. Maskel, I.S. Millet, S. Doniach, K.D. Finkelstein, D. Herschlag, and L. Pollack, *Phys. Rev. Lett.* **90**, 188103 (2003).
9. S.M. Perepelytsya and S.N. Volkov, *Ukr. J. Phys.* **49**, 1074 (2004).
10. S.M. Perepelytsya and S.N. Volkov, *Eur. Phys. J. E* **24**, 261 (2007).
11. L.D. Williams and L.J. Maher III, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **24**, 497 (2000).
12. C.G. Baumann, S.B. Smith, V.A. Bloomfield, and C. Bustamante, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 6185 (1997).
13. V.B. Teif and K. Bohinc, *Progr. Biophys. Mol. Biol.* **105**, 208 (2011).
14. A. Estevez-Torres and D. Baigl, *Soft Matter*, **7**, 6746 (2011).
15. M.-L. Ainalem and T. Nylander, *Soft Matter*, **7**, 4577 (2011).
16. S.M. Perepelytsya, G.M. Glibitskiy, and S.N. Volkov, *Biopolymers*, **99**, 508 (2013).
17. I. A. Kuznetsov and N.V. Apolonnik, *Biopolymers*, **20**, 20831 (1981).
18. I. A. Kuznetsov, N.V. Apolonnik, and I. S. Shklover, *Biopolymers and Cell*, **3**, No. 2, 72 (1987).
19. O.M. Alekseyev, L. A. Bulavin, and D.O. Shamayko, *Ukrainica Bioorganica Acta*, No. 1, 45 (2009).
20. D. Truzzoillo, F. Bordi, C. Cametti and S. Sennato, *Phys. Rev. E* **79**, 011804 (2009).
21. T. Vuletic, S. Dolanski Babik, D. Grgicin, D. Aumiler, J. Radler, F. Livolant, and S. Tomic, *Phys. Rev. E* **83**, 041803 (2011).
22. J.I. Sheu and E.Y. Sheu, *AAPS Pharm. Sci. Tech.* **7(2)**, 36 (2006).
23. Yi-S. Liu, P.P. Banada, S. Bhattacharya, A.K. Bhunia, and R. Bashir, *Appl. Phys. Lett.* **92**, 143902 (2008).
24. G.S. Manning, *J. Phys. Chem.* **79**, 262 (1975).
25. G.S. Manning, *J. Phys. Chem.* **85**, 1508 (1981).
26. A. Dobrynin and M. Rubinstein, *Prog. Polym. Sci.* **30**, 1049 (2005).
27. D.B. Wells, S. Bhattacharya, R. Carr, C. Maffeo, A. Ho, J. Comer, and A. Aksimentiev, *Methods Mol. Biol.* **870**, 165 (2012).
28. P. Varnai and K. Zakrzewska, *Nucleic Acids Res.* **32**, 4269 (2004).
29. S.Y. Ponomarev, K.M. Thayer, and D.L. Beveridge, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 14771 (2004).
30. Y. Cheng, N. Korolev, and L. Nordenskiold, *Nucleic Acids Res.* **34**, 686 (2006).
31. S.Sen, D. Andreatta, S.Y. Ponomarev, D.L. Beveridge, and M. A. Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 1724 (2009).
32. L.A. Bulavin, S.N. Volkov, S.Yu. Kutovy, and S.M. Perepelytsya, *Reports of National Academy of Science of Ukraine*, No. 11, 69 (2007); arXiv:0805.0696.
33. S.M. Perepelytsya and S.N. Volkov, *Eur. Phys. J. E* **31**, 201 (2010).
34. S.M. Perepelytsya and S.N. Volkov, *J. Molecular Liquids*, **5**, 1182 (2011).
35. S.M. Perepelytsya and S.N. Volkov, *Ukr. J. Phys.* **58**, No. 2, 554 (2013).
36. K. Tanaka and Y. Okahata, *J. Am. Chem. Soc.* **118(44)**, 10679 (1996).
37. T. Erdey-Gru, *Transport Phenomena in Aqueous Solutions* (Akademiai Kiado, Budapest, 1974).
38. A.Yu. Grosberg and A.R. Khokhlov, *Statistical Physics of macromolecules* (Nauka, Moscow, 1989).
39. B.P. Nikolskiy *et al.*, *Handbook of Chemistry*. **2** (Chemistry, Leningrad, 1964).

Одержано 21.10.13

О.А. Любич, А.Н. Алексеев,
С.Ю. Ткачѐв, С.Н. Перепелица

ЭФФЕКТ ИОННОГО УПОРЯДОЧЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ ПО ЭЛЕКТРОПРОВОДИМОСТИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ДНК

Резюме

Проявления упорядочения ионов в водных растворах ДНК исследовались при помощи кондуктометрии. Измерение электропроводимости проводилось для водных растворов ДНК с добавлением соли в температурном диапазоне от 28 до 70 °С. Концентрация соли изменялась от 0 до 2 М. Также проводились измерения электропроводимости растворов без ДНК с таким же содержанием соли. Результаты показали, что в случае бессолевого раствора ДНК наблюдаются стадии плавления двойной спирали, тогда как в случае раствора ДНК с добавлением соли денатурация макромолекулы не наблюдается. Для концентрации соли ниже критической (0,4 М) электропроводимость раствора с ДНК выше электропроводимости соответствующего электролита. Начиная с критической концентрации электропроводимость электролита выше электропроводимости раствора ДНК. Для описания экспериментальных данных была разработана феноменологическая модель, базирующаяся на теории электролитов. В рамках построенной модели предложен механизм упорядочения противоионов. Согласно предложенному механизму при низких концентрациях соли электропроводимость системы обусловлена противоионами ион-гидратной оболочки ДНК. При повышении количества

ионов до критической концентрации противоионы начинают конденсироваться на полианионе ДНК. Последующее увеличение концентрации соли индуцирует формирование ДНК-солевых комплексов, появление которых приводит к уменьшению электропроводимости системы.

*O.O. Liubysh, O.M. Alekseev,
S.Yu. Tkachov, S.M. Perepelytsya*

EFFECT OF IONIC ORDERING
IN CONDUCTIVITY EXPERIMENTS
OF DNA AQUEOUS SOLUTIONS

S u m m a r y

The effects of ionic ordering in DNA water solutions are studied by conductivity experiments. The conductivity measurements are performed for the solutions of DNA with KCl salt in the temperature interval from 28 to 70 °C. The salt concentration varied from 0 to 2 M. The measurements of the conductivity of solutions without DNA but with the same concentra-

tion of KCl salt are also performed. The results show that, in the case of a salt-free solution of DNA, the melting process of the double helix is observed, while, in the case of the DNA solution with added salt, the macromolecule denaturation is not featured. For salt concentrations lower than some critical one (0.4 M), the DNA solution conductivity is higher than the conductivity of a KCl water solution without DNA. Starting from the critical concentration, the conductivity of a KCl solution is higher than the conductivity of a DNA solution with added salt. For the description of the experimental data, a phenomenological model is elaborated basing on electrolyte theory. In the framework of the developed model, a mechanism of counterion ordering is introduced. According to this mechanism the electrical conductivity of the system at low salt concentrations is caused by counterions of the DNA ion-hydrate shell. At an increasing the amount of salt to the critical concentration, counterions condense on the DNA polyanion. A further increase of the salt concentration leads to the formation of DNA-salt complexes, which decreases the conductivity of the system.