



# Структура и функция биополимеров

УДК 535.3:543.423:577.1

Д. Н. Говорун, Я. Р. Мищук, Н. В. Желтовский

## НИЗКОЧАСТОТНЫЕ СПЕКТРЫ КР НЕКОТОРЫХ МЕТИЛЗАМЕЩЕННЫХ КОМПОНЕНТОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ: 9-МЕТИЛПРОИЗВОДНЫЕ ПУРИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ

*Выполнено детальное исследование низкочастотных ( $15\text{ см}^{-1} < \nu < 200\text{ см}^{-1}$ ) спектров КР света поликристаллических 9-метиладенина и 9-метилгуанина при 300 К. Отождествлены полосы, соответствующие колебаниям кристаллической решетки. В колебательном спектре 9-метиладенина отнесены полосы, принадлежащие низкочастотным неплоским внутримолекулярным колебаниям.*

Кристаллы компонентов нуклеиновых кислот (НК), в частности метилированных по гликозидной связи азотистых оснований, занимают важное место в семействе последовательно усложняющихся молекулярных систем, моделирующих структуры НК, так как позволяют в условиях пространственной симметрии изучать методами колебательной спектроскопии природу межмолекулярных взаимодействий, стабилизирующих полинуклеотиды.

Изучение низкочастотных спектров КР на колебаниях кристаллической решетки метилпроизводных оснований, представляя большой самостоятельный интерес (к настоящему времени интерпретация колебаний решетки и низкочастотных внутримолекулярных колебаний этих кристаллов представляется недостаточно полной), является одним из необходимых этапов в понимании природы низкоэнергетических колебательных возбуждений НК (см. библиографию в работе [1]), которым приписываются важные биологические функции.

Ранее нами детально исследованы низкочастотные спектры КР азотистых оснований [1, 2]. В развитие этого подхода настоящая работа посвящена детальному изучению низкочастотных спектров их метилпроизводных: 9-Me-Gua и 9-Me-Ade, находящихся в поликристаллическом состоянии, при  $T=300\text{ К}$ .

Методика эксперимента подробно описана в работе [1]. Точность определения частот  $\pm 0,2\text{ см}^{-1}$ , полуширин  $\pm 0,1\text{ см}^{-1}$ ; относительная погрешность измерения относительных интегральных интенсивностей  $\pm 1\%$ . Использованы вещества фирмы «Fluka» (Швейцария) без дополнительной очистки.

Полученные результаты представлены в таблицах и на рисунках. В таблицах для сравнения указаны также данные других авторов, в том числе по решеточным ИК-спектрам. Следует при этом отметить, что приведенные в таблицах значения полуширин и относительных интегральных интенсивностей получены нами впервые.

Работа условно разбита на две части: одна посвящена изучению 9-метилпроизводных пуриновых оснований (9-метиладенина и 9-метил-

гуанина), другая — 1-метилпроизводных пиримидиновых (1-метилцитозина, 1-метилтимина и 1-метилурацила) (см. предыдущий номер).

**9-Ме-Гua: кристаллографические данные отсутствуют.**

Решеточный спектр КР 9-Ме-Гua получен впервые. Отсутствие кристаллографической информации, а также данных по решеточным ИК-спектрам не позволяет провести его количественной интерпретации. Тем не менее, исходя из качественных соображений, можно отнести наиболее интенсивные полосы 78,8 и 26,9 см<sup>-1</sup> к колебаниям либра-

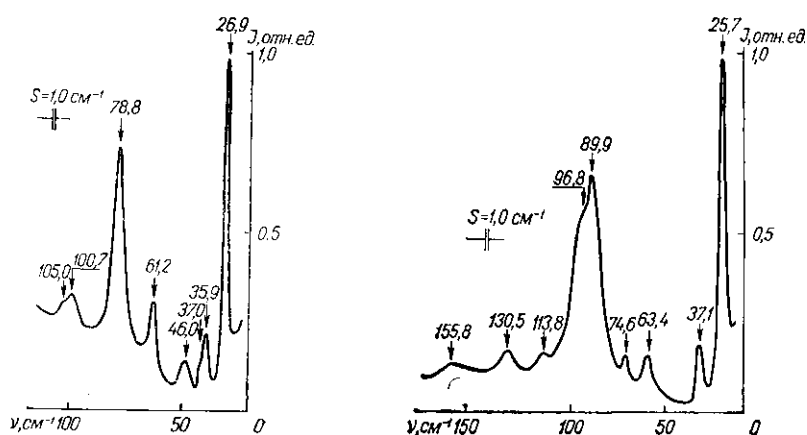


Рис. 1. Низкочастотный (15 см<sup>-1</sup> < ν < 120 см<sup>-1</sup>) спектр КР света поликристаллического 9-метилгуанина при 300 К

Fig. 1. Low-frequency (15 cm<sup>-1</sup> < ν < 120 cm<sup>-1</sup>) Raman spectrum of polycrystalline 9-methylguanine at 300 K

Рис. 2. Низкочастотный (15 см<sup>-1</sup> < ν < 200 см<sup>-1</sup>) спектр КР света поликристаллического 9-метиладенина при 300 К

Fig. 2. Low-frequency (15 cm<sup>-1</sup> < ν < 200 cm<sup>-1</sup>) Raman spectrum of polycrystalline 9-methyladenine at 300 K

ционного типа, а слабую полосу 105,0 см<sup>-1</sup> — к растяжению водородных связей (рис. 1). Исходя из интерпретации внутримолекулярного спектра поликристаллических Gua и 9-Ме-Gua [3, 8], а также принимая во внимание, что «внешние» внеплоскостные крутильные колебания Ме-группы относительно кольца в остальных метилированных нуклеотидных основаниях лежат на частотах не ниже 130 см<sup>-1</sup> (см. ниже), можно утверждать, что все представленные в табл. 1 полосы (к сожалению, нам не удалось продвинуться в сторону больших частот из-за сильной люминесценции образца) принадлежат к колебаниям кристаллической решетки.

Таблица 1

Параметры низкочастотных (15 см<sup>-1</sup> < ν < 120 см<sup>-1</sup>) полос колебаний в спектре КР света поликристаллического 9-метилгуанина при 300 К

Parameters of low frequency (15 cm<sup>-1</sup> < ν < 120 cm<sup>-1</sup>) vibrational bands of polycrystalline 9-methylguanine Raman spectrum at 300 K

ν, см <sup>-1</sup>	Δν <sub>1/2</sub> , см <sup>-1</sup>	I, отн. ед.	ν, см <sup>-1</sup>	Δν <sub>1/2</sub> , см <sup>-1</sup>	I, отн. ед.
26,9	1,9	45	61,2	3,3	17
35,9	3,3	13	78,8	9,5	100
37,0 sh	—	2	100,7	6,5	16
44,2	2,7	7	105,0 sh	—	8
46,9	3,0	7			

Примечание. Интегральная интенсивность самой сильной полосы принята за 100 усл. ед. Все полосы зарегистрированы впервые; sh — плечо.

**9-Me-Ade : P2<sub>1/c</sub> (C<sub>2h</sub><sup>5</sup>), z = 4, Г = 6A<sub>g</sub> (КР) + 6B<sub>g</sub> (КР) + 5A<sub>u</sub> (ИК) + 4B<sub>u</sub> (ИК.)**

Как видно из табл. 2, полученные нами данные по частотам колебаний хорошо согласуются с данными других авторов [4—6] как по наличию линий в спектре [5, 6], так и по точности их определения [6]. При этом уточнено значение частоты наиболее низкочастотного либрационного колебания 25,7 см<sup>-1</sup>, а также колебания 96,8 см<sup>-1</sup>, соответствующего растяжению водородных связей. Кроме того, в районе 50 см<sup>-1</sup> нами не обнаружено никаких колебаний (рис. 2) — в работах [5] и [6] в этой области спектра зарегистрирована полоса на частоте 52 и 49 см<sup>-1</sup> соответственно. На наш взгляд, нужны дополнительные исследования в этой области при лучшем соотношении сигнал/шум. Необходимо также отметить, что в 9-Me-Ade по сравнению с Ade верхняя граница решеточного спектра КР сдвигается в область низких частот почти на 80 см<sup>-1</sup>, что может свидетельствовать об ослаблении межмолекулярных взаимодействий в кристаллической решетке. В этой связи представляется актуальным проведение прецизионных измерений спектра КР 9-Me-Ade (желательно на монокристаллическом образце) в области частот < 25 см<sup>-1</sup> с тем, чтобы убедиться в реальности колебаний на частотах 8 (B<sub>g</sub>) и 11 см<sup>-1</sup> (A<sub>g</sub>), предсказываемых расчетом [5]; по той же причине существенный интерес представляют аналогичные ИК-измерения в области ν < 40 см<sup>-1</sup>.

Изложим также некоторые соображения, касающиеся интерпретации низкочастотных неплоских внутримолекулярных колебаний 9-Me-Ade, — в литературе эта проблема практически не обсуждалась. Согласно расчету колебательного спектра решетки, вышеупомянутые внутримолекулярные колебания лежат на частотах выше 120 см<sup>-1</sup> [5]. Так, дублет, наблюдающийся в спектре КР на частотах 130,5 —

Таблица 2

Параметры низкочастотных (15 см<sup>-1</sup> < ν < 250 см<sup>-1</sup>) полос в колебательном спектре твердого 9-метиладенина

Parameters of low frequency (15 cm<sup>-1</sup> < ν < 250 cm<sup>-1</sup>) bands of vibrational spectrum of 9-methyladenine (lattice and intramolecular vibrations are divided by the horizontal line)

КР			ИК				
Наши данные <sup>1</sup> (300 К)			[4] <sup>2</sup> (307—308 К)		[5] <sup>3</sup>	[6] <sup>4</sup>	[5] <sup>3</sup>
ν, см <sup>-1</sup>	Δν <sub>1/2</sub> , см <sup>-1</sup>	I, отн. ед.	ν, см <sup>-1</sup>	I, отн. ед.	ν, см <sup>-1</sup>	ν, см <sup>-1</sup>	ν, см <sup>-1</sup>
25,7	3,2	61	—	—	29(—)	—	
37,1	3,4	13	—	—	39(—)	38	
—	—	—			52 —	49	44(43)
63,4	4,3	11	67(—)	2(—)	66(63)	64	61?(60?)
74,6 sh	—	6	—	—	74(73)	75	
							81(79)
							88(86)
89,9	8,7	100	96(94)	10(10)	93(90)	90	
96,8	7,0	62	—	—	98(98)	—	
							99(98)
							117(114)
113,8 sh	—	5	—	—	118(116)	113	
130,5	7,5	13	135(—)	0(—)	135(132)	130	143(141)
155,8	—	10	165(—)	0(—)	157(158)	15	204(200)
			210(—)	0(—)	208(207)	205	215(212)
						245	

Примечание. Колебания решетки отделены от внутримолекулярных колебаний горизонтальной чертой. <sup>1</sup>Поликристалл; <sup>2</sup>поликристалл; в скобках приведены значения для 9-метиладенина-d<sub>2</sub>; интенсивность внутримолекулярной полосы при 1330 см<sup>-1</sup> (1332 см<sup>-1</sup>) принята за 10 ед.; <sup>3</sup>монокристалл; температура не указана; в скобках приведены значения для 9-метиладенина-d<sub>2</sub>; <sup>4</sup>поликристалл; температура не указана.

155,8  $\text{cm}^{-1}$ , а также полосу 143  $\text{cm}^{-1}$  в ИК-спектре [5] (см. табл. 2) следует отнести к «внешнему» крутильному колебанию Me-группы. Полоса в КР-спектре при 245  $\text{cm}^{-1}$  [6] соответствует самому низкочастотному внеплоскостному колебанию кольца типа «бабочка» ( $\nu_{21}$  в обозначениях, принятых в работе [7]). Полосу при 205  $\text{cm}^{-1}$  в спектре КР [6] и соответствующий ей дублет 204 — 215  $\text{cm}^{-1}$  в ИК-спектре [5] можно рассматривать как качание Me-N<sub>9</sub>, хотя ее частота несколько занижена по сравнению с аналогичными частотами для метилпроизводных остальных азотистых оснований.

#### Резюме

Проведено детальне вивчення низькочастотних ( $15 \text{ cm}^{-1} < \nu < 200 \text{ cm}^{-1}$ ) спектрів КР світла полікристалічних 9-метиладеніну і 9-метилгуаніну при 300 К. Ототожено смуги, що відповідають коливанням кристалічної ґратки. В коливальному спектрі 9-метиладеніну віднесені смуги, що належать низькочастотним неплоским внутрішньомолекулярним коливанням.

#### Summary

Low-frequency ( $15 \text{ cm}^{-1} < \nu < 200 \text{ cm}^{-1}$ ) Raman spectra of polycrystalline 9-methyladenine and 9-methylguanine at 300 K have been studied in detail. The lattice vibrational bands were identified. Assignment of low-frequency out-of-plane intramolecular vibrations was performed for 9-methyladenine vibrational spectrum.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Говорун Д. Н., Мищук Я. Р., Желтовский Н. В. Низкочастотные фоновые спектры комбинационного рассеяния света компонентов нуклеиновых кислот: пуриновые основания // Биополимеры и клетка.— 1990.— 6, № 3.— С. 24—31.
2. Говорун Д. Н., Мищук Я. Р., Желтовский Н. В. Низкочастотные фоновые спектры комбинационного рассеяния света компонентов нуклеиновых кислот: пиримидиновые основания // Там же.— С. 31—39.
3. Delabar J.-M., Majoube M. Infrared and Raman spectroscopic study of <sup>15</sup>N and D-substituted guanines // Spectrochim. acta.— 1978.— 34A, N 2.— P. 129—140.
4. Lord R. C., Thomas G. J., Jr. Raman spectral studies of nucleic acids and related molecules. I. Ribonucleic acid derivatives // Ibid.— 1967.— 23A, N 9.— P. 2551—2591.
5. Harada I., Lord R. C. Low-frequency infrared and Raman spectra of some adenine and uracil crystals // Ibid.— 1970.— 26A, N 12.— P. 2305—2318.
6. Raman and infrared spectra of crystalline 9-methyladenine and its methylmercury complexes / R. Savoie, D. Poirier, L. Prizant, A. L. Beachamp // J. Raman Spectroscopy.— 1981.— 11, N 6.— P. 481—486.
7. Infrared and Raman spectra of adenine and its <sup>15</sup>N and <sup>13</sup>C substitution products / A. Y. Hirakawa, H. Okada, S. Sasagawa, M. Tsuboi // Spectrochim. acta.— 1985.— 41A, N 1/2.— P. 209—216.
8. Szczepaniak K., Szczesniak M. Matrix isolation infrared studies of nucleic acid constituents // J. Mol. Struct.— 1987.— 156, N 1/2.— P. 29—42.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев

Получено 12.07.90

УДК 575.113/577.21

**В. Т. Соловьян, В. Л. Макитрук, Г. Н. Руденко**

### **ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ ДНК ЭУКАРИОТ В ПУЛЬСИРУЮЩЕМ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ПРИРОДА ОБРАЗОВАНИЯ ДИСКРЕТНЫХ ДНК-ФРАГМЕНТОВ**

*Представлены данные, подтверждающие ферментативную природу образования дискретных ДНК-фрагментов, выявляемых пульс-электрофорезным фракционированием лизированных ядер.*

© В. Т. СОЛОВЬЯН, В. Л. МАКИТРУК, Г. Н. РУДЕНКО, 1991