

УДК 577.323

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ДНК В ПЛЕНКАХ МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИИ

© 2020 г. С.В. Пастон*, А.М. Поляничко*, О.В. Шуленина**, Д.Н. Осинникова*

*Физический факультет Санкт-Петербургского государственного университета,
198504, Санкт-Петербург, Старый Петергоф, ул. Ульяновская, 1

**Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра
«Курчатовский институт», 188300, Ленинградская обл., Гатчина, мкр. Орлова роща, 1

E-mail: s.v.paston@spbu.ru

Поступила в редакцию 30.11.2019 г.

После доработки 30.11.2019 г.

Принята к публикации 24.09.2020 г.

Водная среда и ионное окружение являются важнейшими факторами, определяющими конформацию ДНК и ее функционирование в клетке. Специфичность взаимодействия ДНК с катионами особенно ярко проявляется при снижении активности воды. В данной работе с помощью ИК-Фурье-спектроскопии (метод нарушенного полного внутреннего отражения) исследован В-А-переход в высокомолекулярной ДНК при уменьшении влажности в пленке с различным содержанием ионов Na^+ . ИК-спектр ДНК не только весьма чувствителен к состоянию ее вторичной структуры, но также позволяет оценить количество связанной с ДНК воды. При дегидратации пленки ДНК в спектре ИК-поглощения наблюдали изменения, характерные для В-А-перехода. С помощью термогравиметрического анализа показано, что степень гидратации ДНК достигает насыщения при относительной влажности 60% и при дальнейшем высушивании снижается незначительно. Установлено, что с ростом концентрации Na^+ снижается количество сильно связанной с ДНК воды. При этом ионы натрия разрушают гидратную оболочку ДНК и способны взаимодействовать непосредственно с фосфатными группами.

Ключевые слова: ДНК, гидратация, вторичная структура, В-А переход, ИК-Фурье-спектроскопия, термогравиметрический анализ.

DOI: 10.31857/S0006302920060034

Взаимодействие с водным окружением играет ключевую роль в структуре и функционировании нуклеиновых кислот. Гидрофобные и гидрофильные взаимодействия стабилизируют двуспиральную вторичную структуру ДНК [1]. В водной среде ДНК сильно и неравномерно гидратирована, что приводит к упорядоченному расположению молекул воды в непосредственной близости от ДНК, формируя так называемые первичную и вторичную гидратные оболочки. Первичная гидратная оболочка заполняется при относительной влажности около 80% и составляет 20 молекул воды на нуклеотид [1, 2]. В порядке уменьшения гидрофильности группы ДНК располагаются следующим образом: 1) отрицательно заряженные фосфатные группы; 2) фосфодиэфирные связи и остатки сахаров; 3) основания. Внутренний слой первичной гидратной оболочки состоит из одиннадцати-двенадцати молекул воды на

нуклеотид, которые связаны непосредственно с группами ДНК [1–3]. Этот внутренний слой сильно отличается по структуре и свойствам от обычной воды, в частности, он не замерзает при температурах значительно ниже 0°C [4, 5]. Остальные восемь-девять молекул воды первичной гидратной оболочки связаны с внутренним слоем. Вторичная гидратная оболочка связана с первичной и существенно менее структурирована [1].

Структура гидратных оболочек ДНК зависит от нуклеотидной последовательности. Методами рентгеновской кристаллографии и ЯМР было показано, что в малой бороздке В-ДНК существует так называемый «водный хребет» (spine of hydration), молекулы воды в котором менее подвижны, чем те, которые расположены в большой бороздке [6–9]. Наиболее сильно связанной оказывается вода в малой бороздке А–Т-последовательностей [9].

Изменение степени гидратации ДНК влечет за собой перестройки вторичной структуры макро-

Сокращение: НПВО – нарушенное полное внутреннее отражение.

молекулы. Понижение активности воды в растворе ДНК случайной нуклеотидной последовательности при количестве молекул воды на один нуклеотид менее двадцати приводит, в зависимости от природы противоиона, к переходу В→А (между разными семействами двойных спиралей, отличающихся конформацией сахара) или внутрисемейственному переходу В→С [1, 3]. Гидратация А-формы двойной спирали более экономична, чем для В-формы, из-за сближения соседних фосфатных групп [10–12]. Сахара и основания при этом не гидратированы. В одной макромолекуле могут соседствовать участки, имеющие разные формы вторичной структуры [13]. Минимальная степень гидратации ДНК оценивается, по разным данным, от трех-шести [1] до пяти-шести [5] молекул воды на нуклеотид, при этом вся ДНК находится в А-форме.

Вторичная структура ДНК является важнейшим фактором ее функционирования. Переход В→А сопутствует многим внутриклеточным процессам, в частности, процессам репликации и транскрипции [14]. Изучать конформационные переходы в ДНК *in vitro* можно путем варьирования активности воды в образце, например, изменяя концентрации противоионов, добавляя спирты или изменяя влажность [1, 5, 13]. Катионы щелочных, щелочноземельных и переходных металлов взаимодействуют с отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК, а также с кетогруппами и эндоциклическими атомами азота оснований [1]. С ростом концентрации противоионов увеличивается степень экранировки заряда ДНК, что приводит к снижению объема макромолекулярного клубка в растворе [15–17]. В разбавленном растворе контакты между одновалентными катионами и электроотрицательными группами ДНК опосредованы водой; проникновение катионов в бороздки двойной спирали определяется соответствием между размерами катиона и бороздки (причем размер последней может «подстроиться» под размер катиона) и, соответственно, зависит от нуклеотидной последовательности [18–20]. Специфичность взаимодействия ДНК с одновалентными катионами обостряется при понижении активности воды: уменьшение влажности в присутствии Na^+ индуцирует переход В→А, а в присутствии Li^+ – переход В→С во вторичной структуре ДНК [1, 13]. Двухвалентные катионы проявляют более ярко выраженную специфичность при взаимодействии с ДНК и могут образовывать даже в разбавленном растворе комплексы не только в форме гидратов, но и непосредственно с электроотрицательными группами ДНК [1, 16, 17, 21, 22]. Ионное окружение ДНК в растворе обуславливает вариации в архитектуре гидратных оболочек макромолекулы и в геометрии двойной спирали в

пределах В-семейства [18, 23–25], определяет стабильность вторичной структуры и радиочувствительность ДНК [26–29]. Взаимодействие с катионами металлов играет ключевую роль в функционировании нуклеиновых кислот, в частности, в разнообразных взаимодействиях «нуклеиновая кислота–белок» [1, 30–35].

В данной работе проводится исследование вторичной структуры высокомолекулярной ДНК со случайной нуклеотидной последовательностью в пленках с различным содержанием NaCl при снижении влажности. Для наблюдения за конформацией ДНК использован метод ИК-Фурье-спектроскопии, весьма чувствительный к форме двойной спирали. Кроме того, ИК-спектр позволяет оценить количество воды в образце. В настоящее время ИК-спектроскопия широко применяется для исследования структуры биологических макромолекул [36–38], в частности, этот метод позволяет анализировать сложные многокомпонентные системы – биологические среды [39–43], клетки и ткани [44, 45], что открывает широкие возможности для его использования не только в фундаментальных исследованиях, но и в диагностике заболеваний [39–41, 43–45]. С помощью ИК-Фурье-спектроскопии удавалось наблюдать переход В→А не только для растворов ДНК, но и для клеточных ядер, а также целых клеток [46], причем во всех этих случаях переход В→А оказывался обратимым.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали натриевую соль ДНК из эритроцитов цыплят производства фирмы Reanal (Болгария) с $M = 1.4 \pm 0.2$ МДа, химически чистый NaCl, деионизованную воду. Растворы NaCl необходимой концентрации готовили из насыщенного раствора. Разбавленные водные растворы ДНК перед измерением ИК-спектров концентрировали на концентраторе биомолекул Concentrator-plus фирмы Eppendorf (Германия), на 1100 об/мин не более 30 мин за один сеанс при комнатной температуре, до достижения концентрации ДНК в растворе 2 мМ в пересчете на нуклеотиды.

ИК-спектры. Одним из главных маркеров А- и В-формы является полоса, соответствующая асимметричным колебаниям фосфатной группы [47].

Измерения проводили на ИК-Фурье-спектрометре Nicolet 8700 (Thermo Scientific, США), оснащенный приставкой однократного нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) на основе кристалла алмаза, а также низкошумящим детектором МСТ (HgCdTe). Оптические пути продували сухим воздухом. Регистрацию ИК-спектров исследуемых образцов осуществляли с

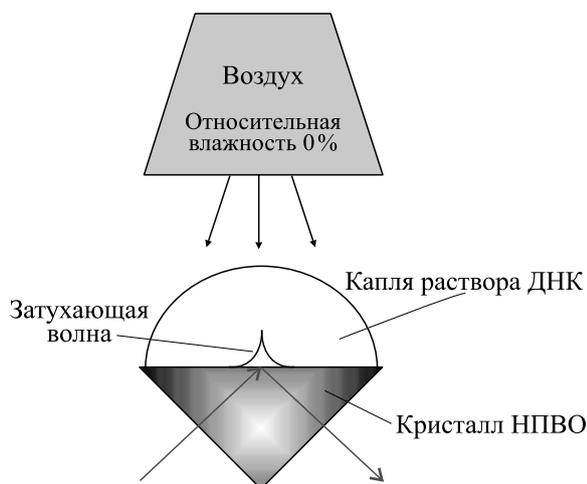


Рис. 1. Схема эксперимента.

помощью модифицированной установки (рис. 1). Над ячейкой НПВО была установлена система подачи чистого сухого воздуха (точка росы не выше -50°C). Спектры регистрировали в диапазоне $3500\text{--}600\text{ см}^{-1}$ с разрешением 2 см^{-1} . Каждый спектр усредняли по десяти накоплениям в течение 13 с. Регистрацию спектров осуществляли в непрерывном режиме в течение всего времени высушивания образца, которое в среднем составляло 10 мин. Начальный объем образца, помещаемого на кристалл, составлял 10 мкл, в концентрации $[\text{P}] = 2\text{ мМ}$ (в пересчете на фосфаты).

После высушивания образца на кристалле НПВО получали тонкую пленку. Спектр пленки регистрировали отдельно с усреднением по 100 накоплениям.

Коррекцию базовой линии спектров и обработку проводили по описанной ранее методике [48]. Каждый спектр нормировали на интенсивность полосы $963 \pm 2\text{ см}^{-1}$ (валентные колебания связей С—С сахаро-фосфатного остова). Группа С—С не взаимодействует с ионами Na^+ , поэтому спектральные изменения полосы $963 \pm 2\text{ см}^{-1}$ незначительны [49]. Процедура нормировки позволила устранить влияние концентрации ДНК (которая варьируется при высушивании образцов) на интенсивность спектра.

Термогравиметрический анализ лиофилизованной ДНК проводили на сорбционном гравиметрическом анализаторе TGA Q5000SA TA Instruments (США) с высокостабильными термостатированными весами (чувствительность 0.1 мкг), в изотермическом режиме при температуре $25.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, точность установки относительной влажности (rh) составляла $\pm 1\%$, шаг по rh — 5% , в атмосфере азота. Содержание натрия в образце $[\text{Na}]/[\text{P}] = 1$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика изменения ИК-спектров в процессе дегидратации образца, помещенного на кристалл НПВО, представлена на рис. 2. На начальном этапе дегидратации в спектрах доминируют полосы поглощения воды, соответствующие колебаниям

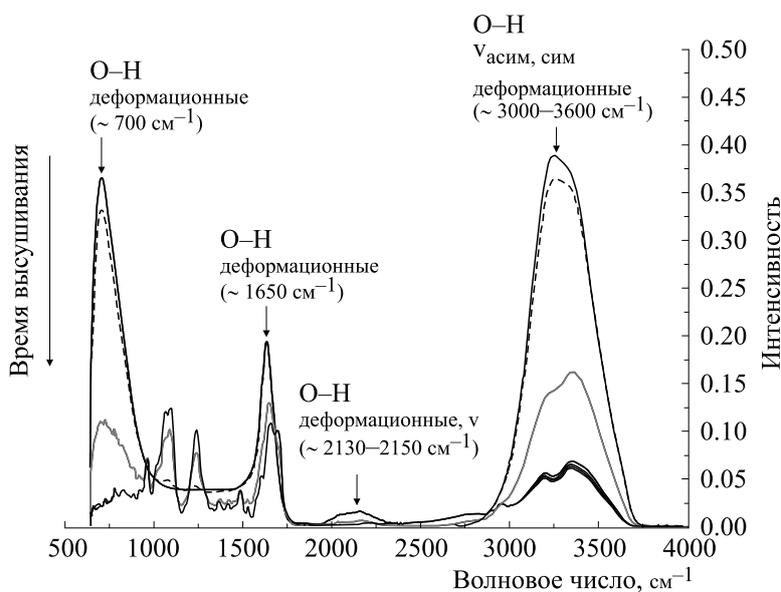


Рис. 2. Серия ИК-спектров (ненормированных) раствора ДНК, измеренных в процессе его высушивания на кристалле НПВО. Стрелками показаны области колебаний О—Н-групп во влажных образцах, которые возникают в основном за счет колебаний молекул воды; ν — валентные колебания.

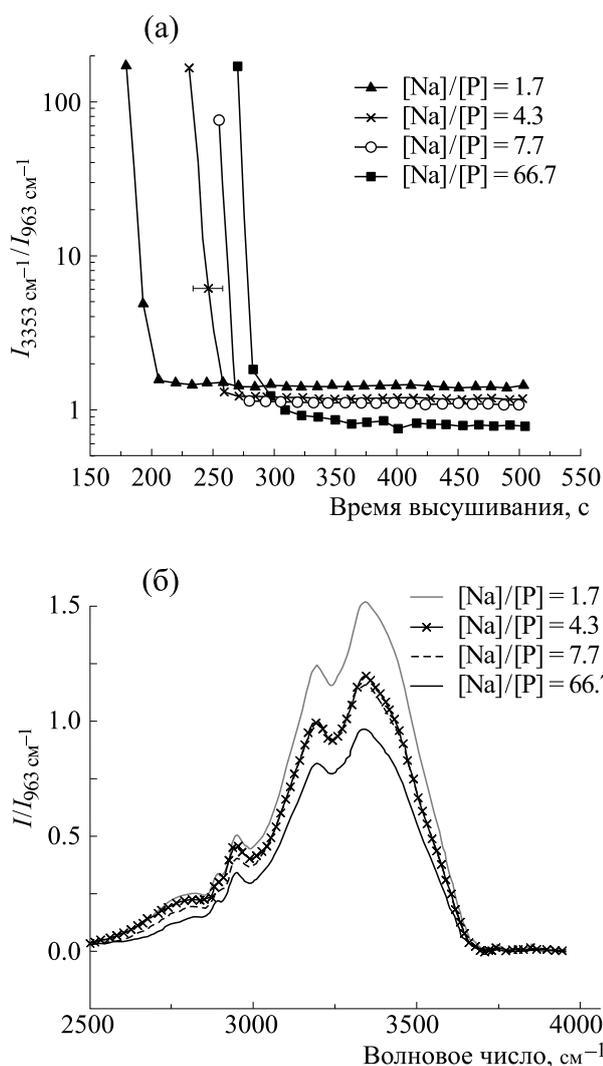


Рис. 3. (а) — Интенсивность полосы 3353 см^{-1} в зависимости от времени высушивания образца; (б) — полоса 3353 см^{-1} в полностью высушенных пленках (после насыщения).

ОН-групп. В процессе высушивания интенсивность полос, соответствующих деформационным колебаниям в молекуле воды, постепенно падает, и начинают проявляться полосы, характерные для колебаний групп в составе ДНК. Широкая полоса в области $3000\text{--}3600 \text{ см}^{-1}$ отвечает комбинации симметричных и антисимметричных валентных, а также обертона деформационных колебаний молекулы воды [50]. По интенсивности именно этой полосы можно судить о количестве воды, оставшейся в пленке. На рис. 3а представлены зависимости I_{3353}/I_{963} величины поглощения в максимуме этой полосы 3353 см^{-1} , отнесенной к величине поглощения при 963 см^{-1} , от времени высушивания образца для растворов с разным содержанием NaCl. Интенсивность по-

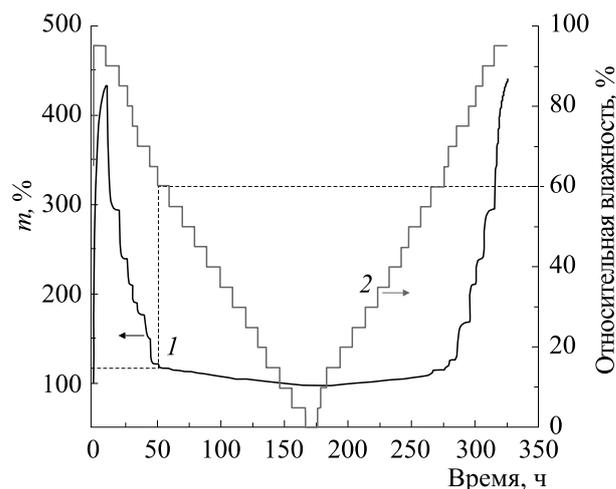


Рис. 4. Термогравиметрический анализ образца ДНК. Зависимости от времени: 1 — массы ДНК, 2 — относительной влажности в измерительной камере. Пунктиром показаны условия стабилизации массы ДНК.

лосы, соответствующей валентным колебаниям О—Н, довольно быстро снижается и выходит на плато через $200\text{--}300 \text{ с}$ после начала высушивания; дальнейшее обдувание пленки сухим воздухом не приводит к заметным изменениям интенсивности, что соответствует минимально достижимому в условиях эксперимента количеству воды в пленке. На рис. 3б представлен спектр ИК-поглощения полностью высушенных пленок в области $3000\text{--}3600 \text{ см}^{-1}$.

Для установления степени дегидратации образца обратимся к данным термогравиметрического анализа (рис. 4). На графике приведены зависимости массы образца ДНК и относительной влажности (rh) в измерительной камере от времени. При $rh = 95\%$ ДНК стремительно набухает — масса образца резко увеличивается. Затем постепенное уменьшение влажности приводит к потере массы образца — ДНК теряет воду. Это продолжается до $rh = 60\%$, когда масса ДНК достигает насыщения. Дальнейшее снижение влажности (в течение более чем 100 часов) весьма слабо влияет на массу образца. Можно считать, что это состояние соответствует минимальной степени гидратации ДНК — около шести молекул воды на нуклеотид [5]. Таким образом, можно заключить, что дальнейшее выдерживание пленки ДНК на кристалле НПВО в потоке воздуха с rh , близкой к 0% , также не приведет к заметному снижению количества воды в образце, и наблюдаемое на рис. 3а плато действительно соответствует минимально возможному количеству молекул воды в первичной (и единственной в данном случае) гидратной оболочке ДНК.

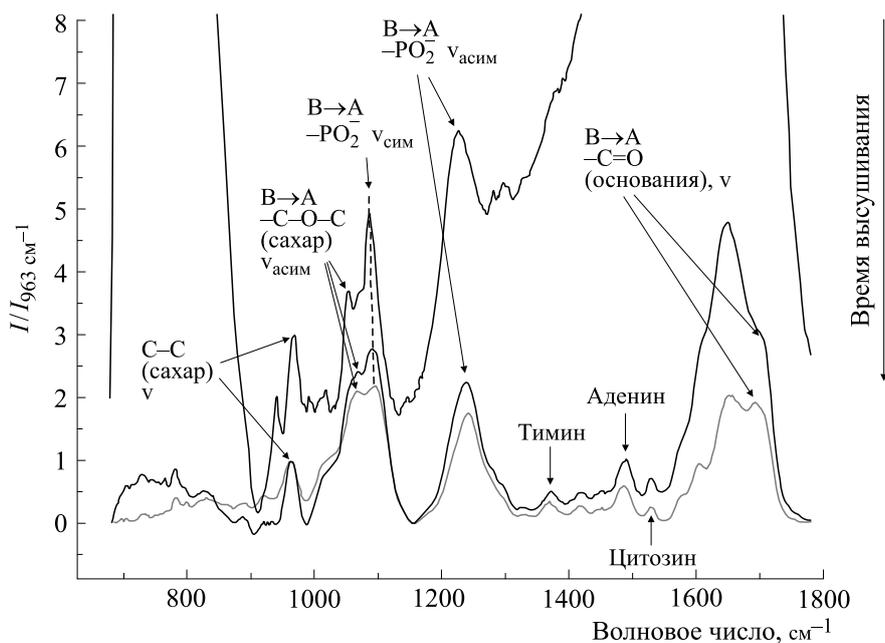


Рис. 5. ИК-спектры (нормированные) раствора ДНК, измеренные в процессе его высушивания на кристалле НПВО. Стрелками показаны полосы колебаний групп ДНК.

Рассмотрим спектральный интервал 900–1800 см^{-1} , в котором можно наблюдать полосы колебаний различных групп ДНК в процессе дегидратации пленок (рис. 5) (подробное отнесение полос в этой области спектра можно найти в работах [47, 50]). Положение и форма этих полос изменяются с уменьшением влажности пленки, что отражает изменение конформации ДНК. Наибольший интерес представляет полоса антисимметричных колебаний фосфатной группы, кото-

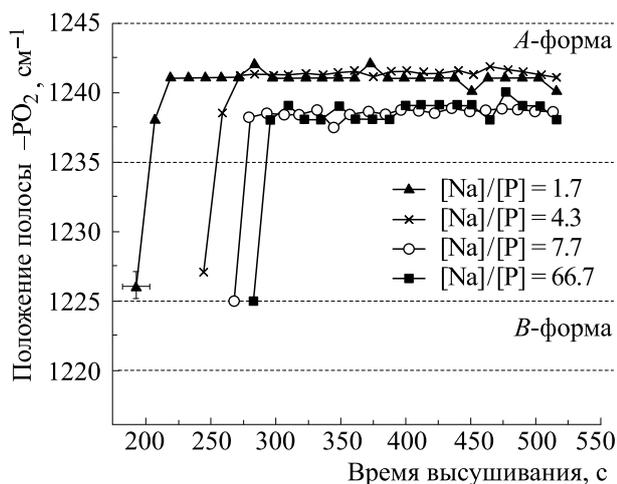


Рис. 6. ИК-спектры (нормированные) раствора ДНК, измеренные в процессе его высушивания на кристалле НПВО. Стрелками показаны полосы колебаний групп ДНК.

рая считается одним из главных маркеров перехода В→А во вторичной структуре ДНК: положение 1225–1220 см^{-1} отвечает В-форме, а 1245–1235 см^{-1} – А-форме [47]. На рис. 6 показаны зависимости положения этой полосы от времени высушивания образцов с разным содержанием NaCl. Области значений волновых чисел для данной полосы, отвечающие В- и А-формам ДНК, отмечены на рисунке. Видно, что резкое падение интенсивности полосы 3353 см^{-1} (см. рис. 3а), соответствующее быстрому снижению содержания воды в пленке, сопровождается изменением положения полосы антисимметричных колебаний PO_2^- . Выход на плато интенсивности полосы валентных колебаний О–Н (рис. 3а), отражающее полную дегидратацию пленки, соответствует окончанию смещения полосы колебаний фосфатных групп (рис. 6), которое к этому моменту прочно устанавливается в области, отвечающей А-форме ДНК. Таким образом, можно сделать вывод о том, что плато на рис. 3а, действительно, соответствует ситуации, когда в образце осталась только сильно связанная вода в первичной гидратной оболочке А-ДНК, в количестве около 6 молекул воды на нуклеотид.

Обратим внимание, что в ИК-спектрах высушенных пленок ДНК с разным содержанием NaCl увеличение концентрации соли приводит к снижению интенсивности полосы колебаний О–Н (3000–3600 см^{-1}) (рис. 3б). Иными словами, присутствие соли приводит к уменьшению количества молекул воды в первичной гидратной обо-

лочке ДНК. В литературе есть сведения о том, что одновалентные катионы могут встраиваться в гидратную оболочку ДНК, особенно в условиях низкой активности воды [15, 17, 18, 23]. Таким образом, уменьшение количества связанной воды в высушенных пленках с ростом концентрации NaCl можно объяснить нарушением первичной гидратной оболочки молекулы ДНК ионами натрия в условиях пониженной влажности. Кроме того, из графиков на рис. 6 видно влияние ионов натрия на положение полосы колебаний фосфатных групп в области, отвечающей А-форме ДНК; оно немонотонно по соотношению $[Na]/[P]$. Можно заключить, что вторичная структура, которую принимает ДНК в высушенной пленке, относится к семейству А-форм и зависит от содержания ионов Na^+ , которые, вытесняя молекулы воды из первичной гидратной оболочки, образуют непосредственные контакты с фосфатными группами ДНК.

ВЫВОДЫ

Наблюдали переход В→А во вторичной структуре высокомолекулярной ДНК со случайной нуклеотидной последовательностью в пленках с различным содержанием NaCl при уменьшении влажности. Установлено, что степень гидратации ДНК достигает постоянного значения при относительной влажности 60% и при дальнейшем просушивании снижается незначительно. Достигнутая в исследуемых образцах степень гидратации ДНК соответствует примерно 6 молекулам воды на нуклеотид. Вторичная структура ДНК при этом относится к А-семейству, но варьирует в зависимости от содержания Na^+ в пленке. С ростом концентрации NaCl в образце количество воды в нем, соответствующее предельной дегидратации, снижается. В условиях низкой влажности ионы натрия разрушают гидратную оболочку ДНК и взаимодействуют непосредственно с фосфатными группами.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования проведены с использованием оборудования ресурсных центров Научного парка СПбГУ «Оптические и лазерные методы исследования вещества», «Термогравиметрические и калориметрические методы исследования» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №18-08-01500).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. Зенгер, *Принципы структурной организации нуклеиновых кислот* (Мир, М., 1987).
2. J. Texter, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **33**, 83 (1979).
3. *Water and Biological Macromolecules. Topics in Molecular and Structural Biology*, Ed. by E. Westhof (Palgrave, London, 1993).
4. M. Falk, A. G. Poole, and C. G. Goymour, *Can. J. Chem.* **48**, 1536 (1970).
5. N. J. Tao, S. M. Lindsay, and A. Rupprecht, *Biopolymers* **28**, 1019 (1989).
6. H. R. Drew and R. E. Dickerson, *J. Mol. Biol.* **151**, 535 (1981).
7. M. L. Kopka, A. V. Fratini, H. R. Drew, and R. E. Dickerson, *J. Mol. Biol.* **163**, 129 (1983).
8. M. G. Kubinec and D. E. Wemmer, *J. Am. Chem. Soc.* **114** (22), 8739 (1992).
9. E. Liepinsh, G. Otting, and K. Wüthrich, *Nucl. Acids Res.* **20** (24), 6549 (1992).
10. B. Schneider, K. Patel, and H. M. Berman, *Biophys. J.* **75**, 2422 (1998).
11. M. Harmouchi, G. Albiser, and S. Premilat, *Eur. Biophys. J.* **19**, 87 (1990).
12. M. Egli, V. Tereshko, M. Teplova, et al., *Biopolymers (Nucl. Acid Sci.)* **48**, 234 (1998).
13. V. I. Ivanov, L. E. Minchenkova, E. E. Minyat, et al., *J. Mol. Biol.* **87** (4), 817 (1974).
14. В. И. Иванов, *Биополимеры и клетка* **1** (1), 5 (1985).
15. Э. В. Фрисман и Н. А. Касьяненко, *Молекуляр. биология* **24**, 301 (1990).
16. Н. А. Касьяненко, Н. Е. Дьяконова, Э. В. Фрисман, *Молекуляр. биология* **23**, 975 (1989).
17. Н. А. Касьяненко, *Журн. структур. химии* **47** (1), 163 (2006).
18. N. V. Hud and M. Polak, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **11**, 293 (2001).
19. M. Egli, *Chemistry & Biology* **9**, 277 (2002).
20. Y. Lu and N. C. Stellwagen, *Biophys. J.* **94**, 1719 (2008).
21. A. M. Polyanichko, V. V. Andrushchenko, E. V. Chikhirzhina, et al., *Nucl. Acids Res.* **32** (3), 989 (2004).
22. A. M. Polyanichko, E. V. Chikhirzhina, V. V. Andrushchenko, et al., *Biophysics* **50** (5), 710 (2005).
23. B. Heddi, N. Foloppe, E. Hantz, and B. Hartmann, *J. Mol. Biol.* **368**, 1403 (2007).
24. M. L. Sushko, D. G. Thomas, S. A. Pabit, et al., *Biophys. J.* **110**, 315 (2016).
25. M. A. Young, B. Jayaram, and D. L. Beveridge, *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 59 (1997).

26. Z.-J. Tan and S.-J. Chen, *Biophys. J.* **90**, 1175 (2006).
27. G. L. Eichhorn and Y. A. Shin, *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 7323 (1968).
28. S. A. Tankovskaia, O. M. Kotb, O. A. Dommes, and S. V. Paston, *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectroscopy* **200**, 85 (2018).
29. S. V. Paston, I. M. Zyryanova, Yu. V. Zaichikova, and V. V. Zamotin, *J. Struct. Chem.* **48** (4) 734 (2007).
30. S. A. Mauro and G. B. Koudelka, *J. Mol. Biol.* **340**, 445 (2004).
31. A. M. Polyanichko, E. V. Chikhirzhina, V. V. Andrushchenko, et al., *Mol. Biol.* **38** (4), 590 (2004)
32. A. M. Polyanichko, E. V. Chikhirzhina, E. I. Kostyleva, and V. I. Vorob'ev, *Mol. Biol.* **38** (6) 891 (2004).
33. A. M. Polyanichko, E. U. Chikhirzhina, V. V. Andrushchenko, et al., *Biopolymers* **83** (2), 182 (2006).
34. E. V. Chikhirzhina, A. M. Polyanichko, E. I. Kostyleva, and V. I. Vorobyev, *Mol. Biol.* **45** (2), 318 (2011).
35. A. M. Polyanichko, V. I. Vorob'ev, and E. V. Chikhirzhina, *Mol. Biol.* **47** (2), 299 (2013).
36. A. Polyanichko and H. Wieser, *Biopolymers* **78** (6), 329 (2005).
37. A. M. Polyanichko and H. Wieser, in *Methods in Protein Structure and Stability Analysis: Vibrational Spectroscopy*, Ed. by E. Permyakov and V. Uversky (Nova Science Publishers Inc., N.-Y., 2007), pp. 267–302.
38. A. Polyanichko, V. Andrushchenko, P. Bouř, and H. Wieser, in: *Circular Dichroism: Theory and Spectroscopy*, Ed. by D. S. Rodgers (Nova Science Publishers Inc., N.-Y., 2012), pp. 67–126.
39. L. V. Plotnikova, M. O. Kobeleva, E. V. Borisov, et al., *Cell Tissue Biol.* **13** (2), 130 (2019).
40. L. Plotnikova, A. Polyanichko, M. Kobeleva, et al., *J. Physics: Conf. Ser.* **784** (1), 012047 (2017).
41. L. Plotnikova, A. Polyanichko, T. Nosenko, et al., *AIP Conf. Proc.* **1760**, 020052 (2016)
42. K. V. Abrosimova, O. V. Shulenina, and S. V. Paston, *J. Physics: Conf. Ser.* **769**, 012016 (2016).
43. M. Gniadecka, O. F. Nielsen, D. H. Christensen, and H. C. Wulf, *J. Invest. Dermatol.* **110**, 393 (1998).
44. Z. Movasaghi, Sh. Rehman, and I. ur Rehman, *Appl. Spectrosc. Rev.* **43**, 134 (2008).
45. L. B. Mostaco-Guidolin and L. Bachmann, *Appl. Spectrosc. Rev.* **46**, 388 (2011).
46. D. R. Whelan, K. R. Bambery, P. Heraud, et al., *Nucl. Acids Res.* **39** (13) 5439 (2011).
47. M. Banyay, M. Sarkar, and A. Graslund, *Biophys. Chem.* **104**, 477 (2003).
48. A. M. Polyanichko, N. M. Romanov, T. Y. Starkova, et al., *Cell Tissue Biol.* **8** (4), 352 (2014).
49. J. F. Neault and H. A. Tajmir-Riahi, *Biophys. J.* **76**, 2177 (1999).
50. J. Chalmers and P. Griffiths, *Handbook of Vibrational Spectroscopy* (Wiley, Chichester, 2002).

Study of DNA Structure in Films by Means of FTIR Spectroscopy

S.V. Paston*, A.M. Polyanichko*, O.V. Shulenina**, and D.N. Osinnikova*

*Faculty of Physics, St. Petersburg State University, Ulyanovskaya ul. 1, Stariy Peterhof, St. Petersburg 198504 Russia

**Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov, National Research Center «Kurchatov Institute», mkr. Orlova Roshcha 1, Gatchina, Leningrad Region, 188300 Russia

The aqueous environment and ionic surrounding are the most important factors determining the conformation of DNA and its functioning in the cell. The specificity of the interaction between DNA and cations is especially pronounced with a decrease in water activity. In this work, we studied the B-A transition in high molecular weight DNA with a decrease of humidity in the film with different contents of Na⁺ ions using FTIR spectroscopy. The IR spectrum of DNA is not only very sensitive to the state of its secondary structure, but also allows us to estimate the amount of water bound to DNA. Upon dehydration of the DNA film, changes characteristic of the B-A transition were observed in the IR absorption spectrum. Using thermogravimetric analysis, it was shown that the degree of DNA hydration reaches the saturation level at a relative humidity of 60% and decreases slightly upon further drying. It has been established that with increasing Na⁺ concentration, the amount of water strongly bound to DNA decreases. Along with it, sodium ions destroy the hydration shell of DNA and are able to interact directly with phosphate groups.

Keywords: DNA, hydration, secondary structure, B-A transition, FTIR spectroscopy, thermogravimetric analysis