

УДК 547.963.3

ИНДУЦИРОВАННАЯ ОПТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОФЛАВИНА В КОМПЛЕКСАХ С ДНК

© 2023 г. А. И. Полетаев*

*Федеральный исследовательский центр химической физики
им. Н.Н. Семёнова Российской академии наук, Москва, Россия*

**E-mail: aip45@mail.ru*

Поступила в редакцию 11.05.2022;
после доработки 17.06.2022;
принята в печать 20.06.2022

Профлавин (ПФ) – 2,6-диаминоакридин – является мутагеном и как один из красителей акридинового ряда способен образовывать комплексы с ДНК, что приводит как к появлению оптической активности в длинноволновой полосе поглощения красителя, так и к изменению оптической активности в УФ-области спектра, где наблюдается поглощение азотистых оснований ДНК. Экспериментальное исследование оптической активности в виде спектров кругового дихроизма (КД) показывает, что в видимой области спектра оптическая активность вызвана экситонным хромофор-хромофорным взаимодействием молекул красителя, образовавших комплекс с асимметричной спиральной молекулой ДНК. Появление дополнительного КД в УФ-области связано с экситонным взаимодействием коротковолновых оптических переходов молекул красителя с близкими по частотам УФ-переходами нуклеиновых оснований. Разложение спектров КД на компоненты позволяет выделить вклад от взаимодействия длинноволновых переходов красителя с коротковолновыми (УФ) переходами соседних хромофоров. В частности, обнаружен вклад от взаимодействия магнитного переходного момента хромофоров в высших колебательных состояниях с дипольными переходными моментами соседних хромофоров. Этот не описанный ранее эффект связан с нарушением плоскости симметрии ароматической системы красителя в высших колебательных состояниях, он отсутствует в области нулевой колебательной полосы. Построенная процедура разложения позволяет выделить из суммарных спектров КД вклады оптических взаимодействий, ранее описанных теоретически, что потенциально позволяет оценить геометрические параметры комплекса.

Ключевые слова: круговой дихроизм, индуцированная оптическая активность, мутагены, профлавин.

DOI: 10.31857/S0207401X23090091, **EDN:** AEJRYJ

ВВЕДЕНИЕ

Выбор объекта исследования в данной работе был в значительной мере продиктован тем, что акридиновый краситель профлавин (ПФ) – 2,6-диаминоакридин обладает легендарно известной биологической активностью (вызывает мутации со сдвигом рамки считывания [1]). Эта активность прямым образом связана с его способностью образовывать комплексы с двойной спиралью ДНК и послужила инструментом для доказательства триплетности генетического кода.

Изучение оптической активности биополимеров и их комплексов актуально по нескольким причинам: во-первых, хиральность биополимеров во многом определяет их структурирование и взаимодействия, в том числе с низкомолекулярными компонентами [2, 3]; во-вторых, хиральность биополимеров в значительной мере определяет характер упаковки генетического материала – хроматина, а также структуру белков и их

специфических комплексов с низкомолекулярными агентами [4]. Исследование оптической активности белково-нуклеиновых комплексов [3] позволило получить сведения о структуре хроматина высших организмов, однако характер укладки генетического материала прокариот [5, 6] еще не полностью ясен. Исследование оптической активности нуклеопротеидных комплексов у бактерий может наряду с другими методами внести вклад в получение структурной информации [6]. Проявление оптической активности в модельных системах минимальной сложности может способствовать установлению относительной важности нескольких причин появления оптической активности, что необходимо для получения структурной информации. Химическая структура профлавина отличается простотой: она содержит три ароматических кольца и две аминокислотные группы (рис. 1) и минимальна по сравнению со структу-

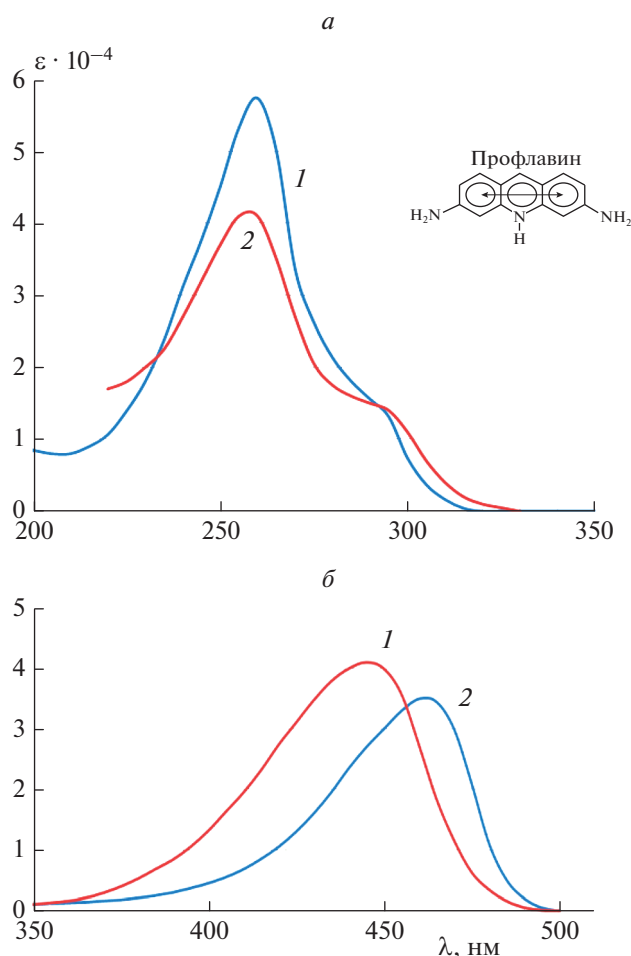


Рис. 1. Спектры поглощения ПФ в ультрафиолетовой (а) и видимой (б) областях спектра: кривые 1 – свободный краситель, кривые 2 – краситель в комплексе с ДНК. На вставке – структурная формула ПФ, стрелкой обозначено направление дипольного момента длинноволнового оптического перехода в молекуле ПФ.

рой других соединений, образующих биологически активные комплексы с ДНК.

Существуют две пространственные модели связывания ароматических красителей с ДНК: модель интеркалирования (прослаивания) молекул красителей между парами оснований ДНК [7, 8] и модель встраивания красителя в желоб двойной спирали ДНК [9]. Известны соединения, комплексы которых относятся как к первой, так и ко второй модели.

Спектры КД в высокой степени чувствительны к пространственной структуре как биополимеров [10], так и их комплексов [3]. Необходимо сразу отметить, что обратная задача – установление структуры биополимеров и их комплексов по спектрам КД – задача некорректная, поскольку одним и тем же параметрам спектров могут соответствовать вполне различные структуры. Данная

работа представляет собой попытку разработки подхода для решения обратной задачи через разделение суммарного эффекта на отдельные компоненты и привлечение теоретического моделирования наблюдаемых эффектов КД [11, 12].

Молекулы профлавины симметричны (группа симметрии C_{2v}) и в свободном виде не обладают оптической активностью. Образуя комплексы с асимметричными полимерными молекулами-матрицами (ДНК или РНК) молекулы ПФ в области полос поглощения проявляют *индуцированную* оптическую активность в форме КД [3]. В соответствии с классическим рассмотрением величина оптической активности для оптического перехода $O \rightarrow a$ из основного состояния O в возбужденное состояние a определяется – силой вращения [11] – параметром

$$R_{Oa} = \text{Im}(\mu_{Oa} m_{Oa}), \quad (1)$$

мнимой частью скалярного произведения электрического дипольного момента перехода μ_{Oa} и магнитного момента перехода m_{Oa} .

Теоретические расчеты оптической активности макромолекул и их комплексов основаны на допущении Кирквуда [12, 13], заключающемся в том, что молекулярную систему можно разбить на части, между которыми нет перекрывания волновых функций, электрического обмена и переноса заряда при возбуждении. В рамках этого приближения с использованием теории возмущений были получены общие выражения, которые достаточно наглядно описывают различные источники возникновения оптической активности макромолекул [14]:

$$R = R^{(1)} + R^{(2)} + R^{(3)} + R^{(4)}; \quad (2)$$

здесь $R^{(1)}$ – вклад “собственной асимметрии” рассматриваемой группы (ее *хиральность*); $R^{(2)}$ – вклад от взаимодействий электрических моментов перехода с магнитными моментами перехода аналогичных групп, находящихся в асимметричном поле соседей; $R^{(3)}$ – вклад от взаимодействий электрических моментов перехода одного хромофора с магнитными моментами перехода другого хромофора; $R^{(4)}$ – корреляционное взаимодействие электрических дипольных моментов переходов различных хромофоров, расположенных поблизости друг от друга (существен для сильных полос поглощения).

Вклад $R^{(4)}$ – взаимодействие одинаковых электронных переходов в идентичных группах макромолекул рассматривается в рамках экситонного формализма [15, 16]. Такого рода анализ для полимеров был проведен в работах Тиноко с сотр. [17, 18], а для комплексов красителей с нуклеиновыми кислотами – в нашей работе [19]. В более поздней работе [20] индуцированная оптическая активность рассматривалась с использованием формализма, перенесенного из физики твердо-

го тела (экситон Френкеля), что, по-видимому, и определило малую точность теоретического описания. В цитированных работах не учитывались магнитные моменты переходов, а рассматривались исключительно электрические дипольные моменты переходов. Тем не менее спектроскопия кругового дихроизма как феноменологический метод оказалась весьма продуктивной при изучении конформационных переходов ДНК (В-форма $\rightarrow$ С-форма, В-форма $\rightarrow$ А-форма) [10], а позднее – и переходов В $\rightarrow$ Z [21].

В последние годы спектроскопия кругового дихроизма показала свою информативность при исследованиях наноразмерных структур, включающих ДНК и проявляющих плазмонный резонанс [22–24]. При этом необходимо отметить, что до сих пор остается без теоретической интерпретации происхождения кругового дихроизма комплексов ДНК с важными антибиотиками типа нетропсина и дистамицина [25]. По этой причине выяснение природы индуцированной оптической активности комплексов ДНК с различными низкомолекулярными соединениями не является завершенной задачей.

Целью настоящей работы было выявление условий, в которых проявляются компоненты $R^{(1)} - R^{(4)}$ индуцированной оптической активности, и оценка вклада магнитных моментов перехода в индуцированную активность красителя в комплексах с полинуклеотидными матрицами.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Измерения спектров КД проводили на дихрографе “Jobin-Yvon Mark III” (France). Спектры поглощения регистрировали на двухлучевом спектрофотометре “Cary-118” (USA).

Спектры связанного красителя определяли с использованием специальных двухкамерных кювет “Hellma 238-QS” (Germany) с длиной оптического пути 2×4.36 мм. Концентрацию красителя определяли по спектрам свободного красителя, помещенного в одну из камер кюветы в канале образца. Во вторую камеру помещали раствор ДНК. Тот же раствор ДНК помещали в одну из камер кюветы, расположенной в канале сравнения спектрофотометра. Раствор ДНК брали с 50-кратным избытком. Спектры свободного красителя регистрировали перед смешиванием с ДНК. После смешивания красителя с ДНК в кювете образца регистрировали спектры поглощения комплексов ДНК с красителем. Такая дифференциальная схема позволяла получить спектры комплексов ПФ с ДНК как в видимой области спектра, так и в УФ-области – в области поглощения ДНК.

Профлавин производства фирмы “BDH” (England) использовали без дополнительной очистки; ДНК из тимуса телят производства фирмы

“Calbiochem” (USA) с содержанием белка $<1\%$ использовали после переосаждения с этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА). Образец двухцепочечной РНК (дцРНК) [16] также переосаждали с ЭДТА и растворяли в рабочем буфере, полагая молярный коэффициент экстинкции равным $\epsilon(260 \text{ нм}) = 6600$.

Молярный коэффициент экстинкции профлавина принимали равным $\epsilon(445 \text{ нм}) = 41\,000$, а для ДНК $\epsilon(260 \text{ нм}) = 6600$. Комплексы и ДНК растворяли в 0.01 М фосфатном буфере с $\text{pH} = 6.1$. Для исследования зависимости величины КД от ионной силы концентрацию NaCl устанавливали путем добавления солевого раствора с концентрацией 4.0 М.

Концентрационные зависимости амплитуды спектров КД получали при последовательном добавлении концентрированного раствора ПФ ($[\text{ПФ}] = 4.9 \cdot 10^{-4} \text{ М}$) объемом по 20 мкл. Исходная концентрация ДНК соответствовала оптической плотности $A_{260} = 0.61$ опт. ед/см. Измерения спектров КД проводили в кювете с длиной оптического пути 2 см.

Зарегистрированные спектры КД переносились в таблицы программы Excel и обрабатывались средствами этого пакета.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 приведены спектры поглощения ПФ как в свободном состоянии (кривые 1), так и в комплексе с ДНК (кривые 2). Длинноволновая часть спектров была измерена при большом соотношении ДНК/ПФ ($[\text{Р}]/[\text{ПФ}] = 50$, где $[\text{Р}]$ – молярная концентрация фосфатов ДНК). Отметим, что в УФ-области спектра (230–300 нм) наблюдается уменьшение поглощения ПФ при образовании комплекса с ДНК. В видимой области спектра (350–500 нм) связывание с ДНК приводит к сдвигу спектров в длинноволновую сторону.

На рис. 2 приведены спектры КД комплексов тимусной ДНК с ПФ как в УФ-области (220–310 нм) – рис. 1а, так и в области длинноволновой полосы поглощения ПФ (400–500 нм) – рис. 1б. Серии спектров получали при добавлении равных объемов концентрированного раствора ПФ как описано выше (см. разд. “Методика эксперимента”). В обеих сериях спектров наблюдаются изобестические точки: при 258 нм в УФ- и при 451 нм в видимой областях. По мере увеличения концентрации ПФ в комплексе наблюдается рост амплитуд как положительной, так и отрицательной по знаку полос в спектре КД УФ-области. Такого типа эффект (две полосы разных знаков, разнесенные по длинам волн, и примерно одинаковой площади) называется *консервативным*. В длинноволновой части спектров КД амплитуда положительной полосы с максимумом

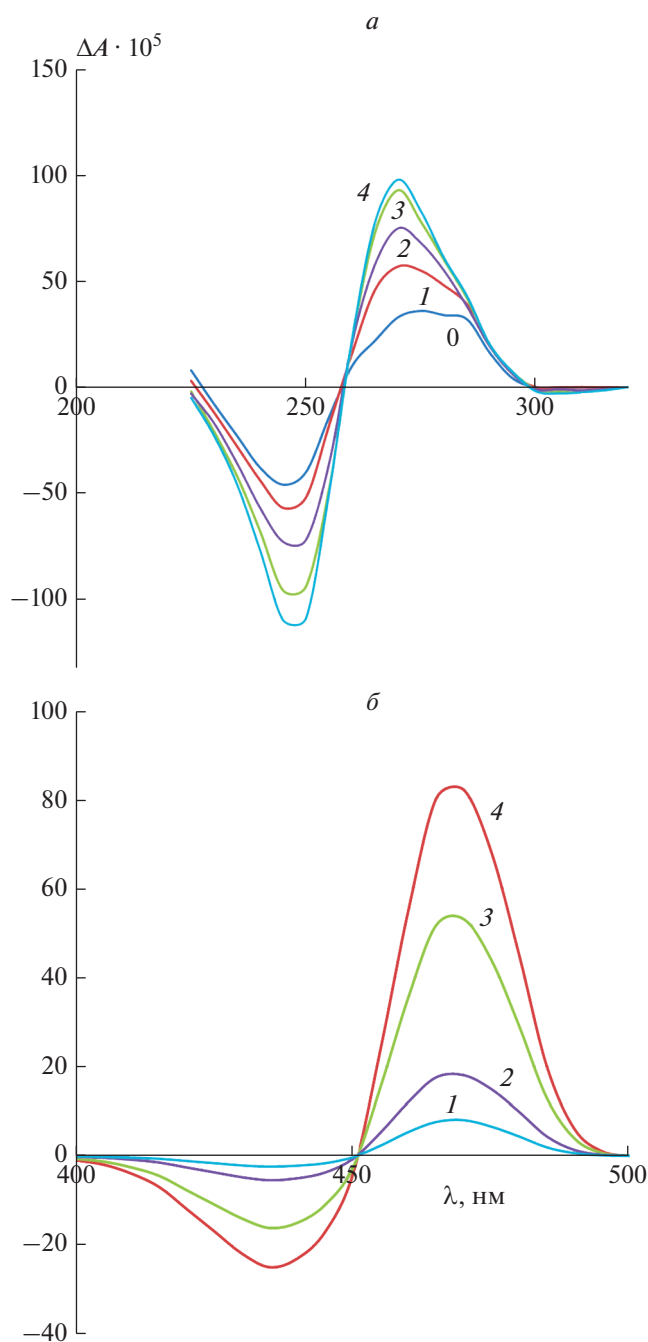


Рис. 2. Спектры КД комплексов ПФ с ДНК: *а* – УФ-область, *б* – видимая область; 0 – свободная ДНК. Концентрация фосфатов ДНК: $[P] = 9.2 \cdot 10^{-5}$ М. Концентрация $[PF]$: 1 – $4.9 \cdot 10^{-6}$ М, 2 – $8.16 \cdot 10^{-6}$ М, 3 – $1.3 \cdot 10^{-5}$ М, 4 – $1.63 \cdot 10^{-5}$ М. По ординате отложена величина кругового дихризма: $\Delta A = A_L - A_R$, где индексы “L” и “R” – лево- и правополяризованный свет.

при $\lambda = 468$ нм превосходит амплитуду отрицательной полосы, имеющей максимум в области $\lambda = 435$ нм, хотя качественно в спектрах КД просматривается вклад консервативного эффекта.

На рис. 2 приведены спектры выборочно, а детальные зависимости амплитуд КД от концентрации добавленного ПФ приведены на рис. 3. Даже при беглом взгляде на приведенные зависимости заметно, что прирост амплитуды КД, ΔA , в УФ-области (кривая 1) линейно зависит от концентрации добавленного красителя, в то время как в длинноволновой части спектра прирост амплитуды при 468 нм (кривая 2) отличен от линейного. Это различие будет обсуждаться далее. Также отметим, что уменьшение ΔA в области больших относительных концентраций красителя ($[PF]/[P] > 0.09$) связано с насыщением мест связывания ПФ на ДНК.

При регистрации спектров КД в длинноволновой области (400–500 нм) был отмечен небольшой по амплитуде сигнал при малых относительных концентрациях ПФ ($[PF]/[P] \sim 0.01$). В отдельной серии экспериментов были использованы высокие концентрации красителя – $[PF] \sim 10^{-5}$ М ($A_{460 \text{ нм}} \sim 0.4$) и ДНК – $[P] > 10^{-3}$ М при сохранении соотношения $[PF]/[P] \sim 0.01$. На рис. 4а приведены спектры КД комплексов ДНК–ПФ, полученные при разных ионных силах – концентрациях $[Na^+]$. На приведенных графиках амплитуда пересчитана в молярные единицы – $\Delta \epsilon$. Спектр 1 соответствует раствору с $[Na^+] = 10^{-2}$ М, а спектр 2 значительно более высокой концентрации соли – 1 М. Если при малой ионной силе амплитуда спектра КД лишь незначительно превышает уровень шумов измерения (спектр 1), то при высокой концентрации соли натрия (спектр 2) спектр КД измеряется с точностью, достаточной, чтобы констатировать его подобие по форме со спектром поглощения связанного с ДНК профлавином (рис. 1, спектр 2). Была исследована зависимость величины амплитуды КД от концентрации ионов Na^+ , точнее от ее логарифма – $p[Na^+]$ (рис. 4б). Нетрудно заметить, что изменение амплитуды КД происходит в области концентраций ионов натрия от 0.1 до 1 М. Этот диапазон соответствует конформационному переходу молекул ДНК из В-формы в С-форму [10].

Установление факта зависимости индуцированной оптической активности ПФ от конформации полимера-матрицы побудило исследовать спектры КД комплексов ПФ с рибополимером, который имеет конформацию А-формы в области спаривания оснований [10]. На рис. 5а представлен спектр КД (спектр 1) комплекса ПФ с дцРНК, которая, как известно, состоит из двуспиральных участков с конформацией типа А-формы [26]. Спектр КД комплекса дцРНК–ПФ в длинноволновой области по форме отличен от спектров КД комплексов ДНК–ПФ и представлен широкой полосой, имеющей положительную амплитуду. Существенного знакопеременного консервативного вклада в спектр КД не наблюдается. Это различие в характере спектров КД комплексов ДНК–

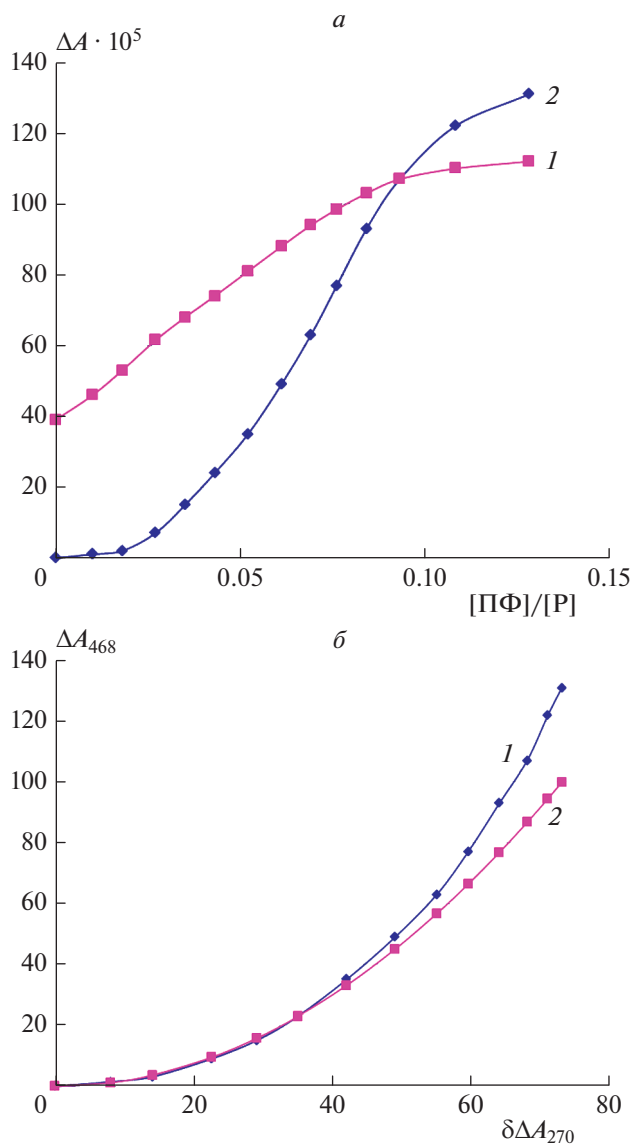


Рис. 3. *a* – Зависимость изменения амплитуды КД от относительной концентрации ПФ в комплексе ($[PF]/[P]$) при 270 нм (кривая 1) и 468 нм (кривая 2); *б* – зависимость величины амплитуды КД при 468 нм от прироста КД в УФ-области при 270 нм (кривая 1); кривая 2 – квадратичная аппроксимация начального участка кривой 1.

ПФ и РНК–ПФ свидетельствует о принципиальном влиянии конформации полимера-матрицы на характер индуцированной оптической активности красителя, связанного с матрицей.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Приведенные на рис. 1*a* спектры показывают, что при образовании комплекса с ДНК спектр поглощения ПФ в УФ-области проявляет *гипохромный* эффект (уменьшение величины погло-

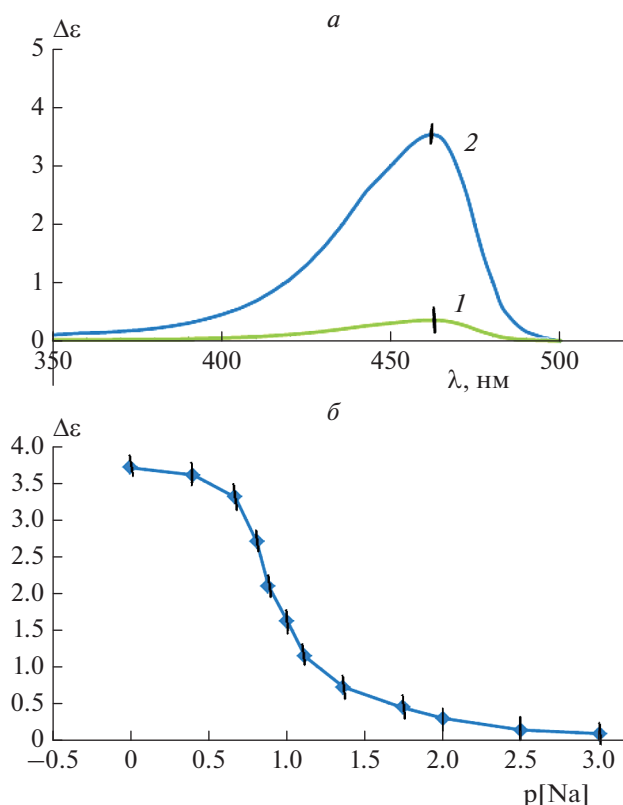


Рис. 4. Зависимость амплитуды спектров КД комплекса ДНК–ПФ ($[PF]/[P] \sim 0.012$) от ионной силы буфера: *a* – спектр 1 получен при концентрации $[Na^+] = 10^{-2}$ М, спектр 2 – при концентрации $[Na^+] = 1.0$ М; *б* – детальная зависимость амплитуды КД при 460 нм от логарифма концентрации Na^+ – $p[Na^+]$. По ординате приведены молярные величины КД, на спектрах и кривой обозначены величины ошибки измерения.

щения). Естественно интерпретировать этот факт как следствие контакта ароматических колец красителя с плоскостями оснований ДНК и взаимодействия электронных переходов красителя с переходами азотистых оснований ДНК. Аналогичное явление наблюдается и у других красителей, способных образовывать комплексы с ДНК и имеющих выраженную ароматическую систему в основе своей структуры [26]. Образование комплекса с ДНК проявляется и в длинноволновой части спектров ПФ (рис. 1) сдвигом максимума спектра в область более длинных волн (*батохромный* сдвиг), что есть следствие изменения локального окружения молекул красителя при переходе его из водного раствора в комплекс.

Приведенные на рис. 2 серии спектров КД в УФ- (рис. 2*a*) и видимой областях (рис. 2*б*), полученные путем последовательного увеличения концентрации ПФ, показывают различный характер зависимости амплитуды КД от концентрации ПФ. В УФ-области наблюдается близкий к ли-

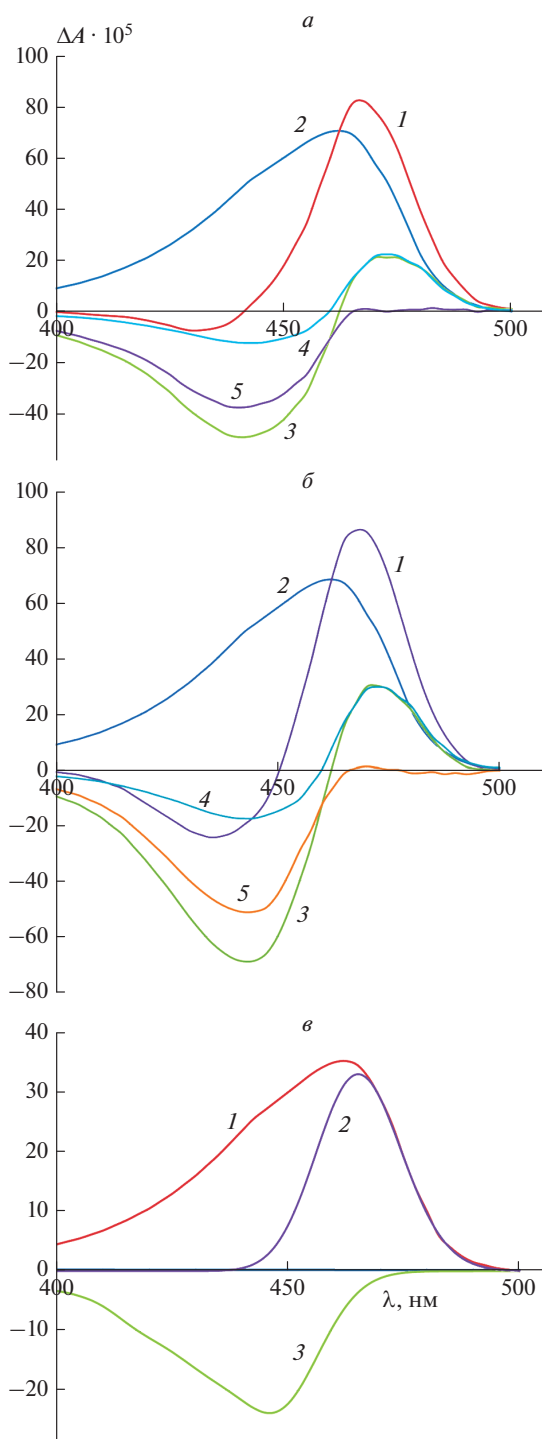


Рис. 5. Разложение на компоненты спектров КД комплексов дцРНК–ПФ ($[ПФ]/[Р] = 0.085$) — а и ДНК–ПФ — б (спектр 4 на рис. 2б): 1 — экспериментально измеренный спектр КД; 2 — неконсервативный вклад в спектр КД; 3 — разность спектра 1 и неконсервативного вклада (спектр 2); 4 — вклад расщепленной консервативной компоненты в спектр 3; 5 — разностный спектр 3 за вычетом консервативной компоненты 4. На рис. 5в приведен нормированный спектр поглощения ПФ в комплексе с ДНК (кривая 1); кривая 2 — полоса нулевой вибронной компоненты спектра 1, полученная аппроксимацией в шкале частот; кривая 3 — разность спектров 1 и 2, подобная по форме кривым 5 рис. 5а и 5б.

нейному росту амплитуды КД с увеличением относительной концентрации ПФ. Наблюдается максимум при 270 нм в положительной части и при 248 нм — в отрицательной. В серии спектров наблюдается изобестическая точка при 259 нм, что свидетельствует о наличии только одного типа спектрально различимого комплекса. В длинноволновой области концентрационная зависимость далека от линейности, но в серии спектров наблюдается изобестическая точка при 401 нм, что свидетельствует о наличии только одной спектроскопической формы комплекса.

На рис. 3а приведены подробные концентрационные зависимости амплитуд индуцированного КД в положительной полосе при 270 нм (кривая 1) и в длинноволновой части спектра (468 нм). Линейный рост амплитуды в УФ-области свидетельствует о том, что данный эффект индуцируется за счет взаимодействия индивидуальных молекул красителя с асимметричной матрицей (ДНК). Естественно называть эффект такого типа *мономерным*. Природа его в данном проявлении связана с взаимодействием УФ-переходов в хромофорах красителя (см. рис. 1а) с различными УФ-переходами азотистых оснований ДНК [27]. Причина появления этого консервативного эффекта, не зависящего от относительной концентрации красителя на линейной молекуле ДНК (величина $[ПФ]/[Р]$), описывается, как уже отмечалось во Введении (вклад $R^{(4)}$), в рамках экситонного формализма [16]. Такого рода теоретическое описание для биополимеров было проведено в работах Тиноко с сотр. [17, 18], а для комплексов красителей с нуклеиновыми кислотами — в работе [19].

Поскольку амплитуда КД в УФ-части спектра линейно зависит от концентрации связанного с ДНК красителя, было естественным построить зависимость амплитуды длинноволновой полосы КД (468 нм) от величины амплитуды КД при 270 нм. Эта зависимость приведена на рис. 3б. По оси абсцисс отложен прирост амплитуды при 270 нм, а по оси ординат — амплитуда КД при 468 нм. Построенное отложение позволяет учесть эффект насыщения при больших величинах относительной концентрации красителя — $[ПФ]/[Р]$. Полученная кривая 1 по форме близка к параболе. Кривая 2 на рис. 3б представляет собой параболическую аппроксимацию начального участка зависимости. На начальном участке, до величины $[ПФ]/[Р] \sim 0.05$, рост хорошо соответствует квадратичной зависимости, что свидетельствует о *димерном* характере возникающего индуцированного эффекта КД [20]. Отклонение кривой роста амплитуды КД ΔA_{468} при величинах $[ПФ]/[Р] > 0.05$ от параболической зависимости может быть вызвано двумя причинами. Во-первых, появлением не только “димеров” молекул красителя на соседних местах связывания, но и “тримеров” и других, более

высоких по числу молекул красителя, сочетаний. Во-вторых, отклонение ΔA_{468} от параболы может быть связано с изменением пространственной структуры самой ДНК, вызванным связыванием красителя при больших величинах $[PF]/[P]$.

Влияние конформации ДНК на величину индуцированного мономерного КД продемонстрировано в экспериментах, результаты которых приведены на рис. 4. Если при низкой ионной силе буферного раствора имеет конформацию В-формы, индуцированный мономерный эффект КД по величине мал и лишь немного превышает по амплитуде точность его регистрации (рис. 4а), то повышение ионной силы буфера вызывает его существенный рост. Рост индуцированной КД идет по концентрации $[Na]$ симбатно переходу ДНК в С-конформацию (рис. 4б) [10]. Следует отметить, что по форме спектра КД этот индуцированный эффект (рис. 4а, кривая 2) в высокой степени подобен спектру поглощения связанного ПФ (рис. 1б, спектр 2). По своей природе эффект этого типа естественно интерпретировать как $R^{(2)}$ — вклад от взаимодействий электрических моментов перехода хромофора с его магнитным моментом перехода, находящимся в асимметричном поле соседей (формула (2)). В данном случае переход ДНК из В-конформации [28] в С-конформацию [29] происходит с определенными изменениями геометрических параметров двойной спирали.

Существенная зависимость характера индуцированного КД от конформации полинуклеотидной матрицы хорошо иллюстрируется результатами, приведенными на рис. 5а. Длинноволновая часть спектра КД комплекса дцРНК–ПФ (рис. 5а, кривая 1) существенно отличается по своей форме от спектра ДНК–ПФ (рис. 5б, кривая 1). Спектр комплекса дцРНК–ПФ резко неконсервативен, т.е. представлен практически только полосой положительного знака и лишь малым эффектом КД в области меньших длин волн (410–440 нм). Поскольку основная часть эффекта КД в видимой области возникает в результате парных взаимодействий хромофоров красителя, располагающихся на ДНК на соседних местах связывания (рис. 3), он определяется вкладом $R^{(4)}$ в формуле (2). Для детального анализа различий в форме спектров КД комплексов ДНК–ПФ и дцРНК–ПФ было проведено разложение обоих спектров на консервативную и неконсервативную компоненты в соответствии с результатами теоретического описания этих эффектов, приведенного в работе [19]. Сразу отметим, что в упоминаемой работе рассматривались только взаимодействия дипольных моментов переходов соседних хромофоров на спиральной полимерной матрице.

Разложение спектров КД на составляющие компоненты

Для разложения из серии спектров КД комплекса ДНК–ПФ (рис. 5б) был выбран спектр, близкий по суммарной амплитуде к спектру КД комплекса дцРНК–ПФ (рис. 5а). В соответствии с результатами нашей работы (см. рисунок в [19]) неконсервативную компоненту спектра полагали совпадающей по форме со спектром поглощения — кривые 2 на рис. 5а и б. Спектры КД за вычетом неконсервативного вклада представлены на рис. 5 кривыми 3. Необходимо напомнить, что неконсервативный вклад в спектр КД возникает в результате взаимодействия длинноволновых и коротковолновых переходов в “димере” соседних хромофоров [3, 19]. Этот вклад пропорционален квадрату относительной концентрации $[PF]/[P]$ [3, 19].

Консервативный вклад в спектры КД от взаимодействия хромофоров ПФ в “димерах” полагали по форме соответствующим первой производной спектра поглощения [19]. Производная спектра поглощения равна нулю в максимуме спектра. Именно в этой точке спектра КД определяется амплитуда для нормирования величины неконсервативного вклада — амплитуда кривых 2 на рис. 5.

Результат вычитания (кривые 3 на рис. 5) не является консервативным: амплитуды положительных длинноволновых частей по площади существенно меньше, чем амплитуды и площади коротковолновых отрицательных компонент спектров. Этот факт был отмечен достаточно давно [3], но не нашел естественного объяснения. Вклады, соответствующие производной спектра поглощения связанного ПФ (рис. 5, кривые 4), нормировали по амплитуде длинноволновой части (465–490 нм) остаточных вкладов (рис. 5, кривые 3). Вычитание консервативных вкладов типа 4 дает остаточные вклады типа 5 (рис. 5а и б). Для спектров как комплекса ДНК–ПФ, так и дцРНК–ПФ эти “остаточные” спектры имеют отрицательную амплитуду и простираются в области 400–465 нм. Для комплексов ПФ с обоими типами полинуклеотидов вклады типа 5 весьма схожи по форме и имеют широкий отрицательный максимум при 440–450 нм. В области спектра 465–500 нм эти эффекты близки к нулю (с точностью до ошибки разложения). Естественно встает вопрос о природе этих вкладов (кривые 5 на рис. 5а и б).

Принципиально важно отметить, что близкие к нулевым амплитуды вкладов типа 5 располагаются в области колебательного подуровня $0 \rightarrow 0$ в спектре ПФ [30]. Была проведена аппроксимация длинноволновой части спектра поглощения связанного с ДНК профлавины отдельной колебательной полосой гауссовой формы. Аппроксимацию проводили в частотной шкале:

$$A(\nu) = A_0 \exp\{-(\nu - \nu_0)^2 / \Delta\nu^2\}, \quad (3)$$

со следующими параметрами полосы: A_0 — амплитуда в максимуме полосы, ν_0 — частота в максимуме, $\Delta\nu$ — ширина полосы. Для разложения, приведенного на рис. 5в, $\nu_0 = 21500 \text{ см}^{-1}$, а $\Delta\nu = 600 \text{ см}^{-1}$. Эти параметры соответствуют кривой 2 рис. 5в. Кривая 3 на рис. 5в представляет собой разность спектра поглощения (кривая 1) и нулевой колебательной полосы (кривая 2). Сравнение кривой 3 рис. 5в с кривыми 5 рис. 5а и б демонстрирует достаточно высокое совпадение их по форме. Для выяснения природы этого совпадения обратимся к данным спектроскопии красителей.

Влияние колебательной структуры спектров красителей на форму спектров КД теоретически было рассмотрено в работах Франка-Каменецкого и Лукашина [31, 32]. Теоретическое рассмотрение учитывало три типа вкладов: 1) от асимметризации движения электронов при неподвижных ядрах атомов в молекуле; 2) от смещения равновесных положений атомов вдоль асимметричных нормальных координат в основном электронном состоянии; 3) от различной асимметризации молекул в основном и возбужденном состояниях. Вклады первых двух типов приводят к спектрам КД, подобным по форме спектрам поглощения. В работе [33] анализировалось влияние колебательной структуры оптических переходов на спектры поглощения и флуоресценции мономеров и ковалентно связанных димеров хромофоров красителей. Исследование спектров КД димерных красителей показывает [34], что в коротковолновой области расщепленная компонента спектров имеет неконсервативный характер и качественно подобна кривым 3 рис. 5. Этот факт остался без внимания и объяснения, но вполне соответствует приведенному выше анализу.

Имеющиеся теоретические описания [31, 32] не помогают объяснить природу остаточных вкладов типа 5 от взаимодействий хромофоров красителя, располагающихся на ДНК на соседних местах связывания. Для объяснения этого эффекта можно предположить механизм другого типа.

Логично было бы связать эти компоненты с вкладом $R^{(3)}$ в формуле (2), точнее, с нарушением плоской симметрии хромофоров красителя, находящихся в высших колебательных (фононных) состояниях: $0 \rightarrow 1$, $0 \rightarrow 2$ и т.д. Это нарушение симметрии должно вызывать изменение величины и ориентации магнитного момента перехода для этих колебательных подуровней. В результате в парах соседних хромофоров возникает дополнительная оптическая активность от вклада типа $R^{(3)}$ (формула (2)) — взаимодействий электрических моментов перехода одного хромофора с магнитными моментами перехода другого хромофора, находящегося на высшем колебательном подуровне. Уместно отметить, что ширина полосы колебательного безфононного подуровня $0 \rightarrow 0$, не участву-

ющего в формировании этого вклада, как раз соответствует зоне нулевой интенсивности кривых 5 рис. 5 — 465–490 нм. Ширина колебательного подуровня для акридиновых хромофоров в шкале частот имеет величину порядка $800\text{--}1000 \text{ см}^{-1}$ [35], что как раз охватывает зону нулевой интенсивности кривых 5 рис. 5. Колебания с указанной частотой должны проявляться в ИК-спектрах хромофоров. Действительно, ИК-полосы с частотами около 1000 см^{-1} характерны для колебаний боковых заместителей ароматических систем [36]. Колебания боковых групп должны нарушать симметрию плоских ароматических молекул и приводить к появлению магнитной и квадрупольной компонент переходного момента и, как следствие, к появлению дополнительного вклада $R^{(3)}$ (рис. 5, кривые 5) в суммарный эффект КД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Индукцированная оптическая активность молекул ПФ в комплексах с асимметричными полимерами (ДНК и дцРНК) возникает в результате различных взаимодействий: 1) взаимодействий электрических моментов оптических переходов с магнитными моментами перехода аналогичных групп, находящихся в асимметричном поле полинуклеотидов; 2) взаимодействия электрических дипольных моментов переходов различных хромофоров, расположенных поблизости друг от друга; 3) взаимодействий электрических моментов перехода одного хромофора с магнитными моментами перехода соседних хромофоров. Вклады второго и третьего типов зависят от измеряемых спектральных характеристик связанных хромофоров и геометрических параметров комплексов, что позволяет провести параметризацию теоретических выражений в явном виде.

В следующих публикациях планируется продемонстрировать результаты количественного анализа этих взаимодействий, позволяющего оценить геометрические характеристики комплексов некоторых биологически активных соединений с ДНК. Описанная выше процедура разложения спектров КД является основой этого анализа.

Логично сделать вывод, что комплексы профлавины с ДНК и дцРНК являются достаточно простой (если не минимальной) моделью, в которой проявляются различные типы эффектов индуцированной оптической активности.

Работа выполнена в рамках госзадания (тема № 122 040 400 089-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Crick F.H., Barnett L., Brenner S. et al. // Nature. 1961. V. 192. P. 1227; <https://doi.org/10.1038/1921227a0>

2. *Стовбун С.В., Занин А.М., Скоблин А.А. и др.* // Хим. физика. 2019. Т. 38. № 5. С. 54; <https://doi.org/10.1134/S0207401X19040113>
3. *Полетаев А.И.* // Итоги науки и техники. Сер. "Молекулярная биология". Т. 8. Ч. II. М.: ВИНТИ, 1976. С. 180.
4. *Пронкин П.Г., Татиколов А.С.* // Хим. физика. 2021. Т. 40. № 2. С. 3; <https://doi.org/10.31857/S0207401X2102014X>
5. *Терешкин Э.В., Терешкина К.Б., Коваленко В.В. и др.* // Хим. физика. 2019. Т. 8. № 10. С. 48; <https://doi.org/10.1134/S0207401X19100091>
6. *Крупянский Ю.Ф.* // Хим. физика. 2021. Т. 40. № 3. С. 60; <https://doi.org/10.31857/S0207401X21030079>
7. *Lerman L.S.* // J. Mol. Biol. 1961. V. 3. P. 18.
8. *Lerman L.S.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1963. V. 49. P. 94.
9. *Гурский Г.В.* // Биофизика. 1966. V. 11. P. 737.
10. *Ivanov V.I., Minchenkova L.E., Scholkina A.K. et al.* // Biopolymers. 1973. V. 12. P. 89; <https://doi.org/10.1002/bip.1973.360120109>
11. *Rosenfeld L.* // Z. Physik. 1928. V. 52. P. 161.
12. *Снатске Г.* // Дисперсия оптического вращения и круговой дихроизм в органической химии. М.: Мир, 1970. С. 45.
13. *Kirkwood J.G.* // J. Chem. Phys. 1937. V. 5. P. 479; <https://doi.org/10.1063/1.1750060>
14. *Tinoco I.* // Adv. Chem. Phys. 1962. V. 4. P. 113.
15. *Moffitt W.* // J. Chem. Phys. 1956. V. 25. P. 467.
16. *Woody R.W., Tinoco I.* // Ibid. 1967. V. 46. P. 4927; <https://doi.org/10.1063/1.1840658>
17. *Tinoco I.* // Rad. Res. 1963. V. 20. P. 133.
18. *Johnson W.C., Tinoco I.* // Biopolymers. 1969. V. 7. P. 727; <https://doi.org/10.1002/bip.1969.360080603>
19. *Макаров В.Л., Полетаев А.И., Волькенштейн М.В.* // Молекуляр. биология. 1977. Т. 11. С. 238.
20. *Kamiya M.* // Biochim. Biophys. Acta. 1979. V. 562. P. 70; [https://doi.org/10.1016/0005-2787\(79\)90127-8](https://doi.org/10.1016/0005-2787(79)90127-8)
21. *Kypr J., Kejnovska I., Renciuik D. et al.* // Nucleic Acids Res. 2009. V. 37. P. 1713; <https://doi.org/10.1093/nar/gkp026>
22. *Schreibe R., Luong N., Fan Z. et al.* // Nat. Commun. 2013. V. 4. P. 2948; <https://doi.org/10.1038/ncomms3948>
23. *Wang X., Tang Z.* // Small. 2017. V. 13. P. 1601115; <https://doi.org/10.1002/sml.201601115>
24. *Shin S.W., Yuk J.S., Chun S.H. et al.* // Nano Converg. 2020. V. 7. P. 2; <https://doi.org/10.1186/s40580-019-0211-4>
25. *Zimmer Ch., Wahnert U.* // Prog. Biophys. Molec. Biol. 1986. V. 47. P. 31; [https://doi.org/10.1016/0079-6107\(86\)90005-2](https://doi.org/10.1016/0079-6107(86)90005-2)
26. *Макаров В.Л., Полетаев А.И., Свешников П.Г. и др.* // Молекуляр. биология. 1979. Т. 13. С. 450.
27. *Moore D.S., Wagner N.T.* // Biopolymers. 1973. V. 12. № 1. P. 201; <https://doi.org/10.1002/BIP.1974.360130512>
28. *Langridge R., Marvin D.F., Seeds W.E. et al.* // J. Mol. Biol. 1960. V. 2. P. 38; [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(60\)80005-8](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(60)80005-8)
29. *Fuller W., Wilkins M.H.F., Wilson Y.R. et al.* // Ibid. 1965. V. 12. P. 60; [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(65\)80282-0](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(65)80282-0)
30. *Теренин А.Н.* Фотоника молекул красителей и родственных органических соединений Л.: Наука, 1967.
31. *Франк-Каменецкий М.Д., Лукашин А.В.* // Оптика и спектроскопия. 1971. Т. 30. С. 481.
32. *Иванов А.А., Пурецкий А.А., Лукашин А.В. и др.* // Письма в ЖЭТФ. 1971. Т. 14. С. 419.
33. *Иванов А.А., Пурецкий А.А., Лукашин А.В. и др.* // Оптика и спектроскопия. 1972. Т. 32. С. 481.
34. *Пермогоров В.И.* // Молекуляр. биология. 1973. Т. 7. С. 20.
35. *Dagleish D.G., Fujita H., Peacocke A.R.* // Biopolim-ers. 1969. V. 8. P. 623; <https://doi.org/10.1002/BIP.1969.360080506>
36. *Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К.* Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных. М.: Мир, 2006.