

4. Tejero J., Kapralov A.A., Baumgartner M.P., Sparacino-Watkins C.E., Anthony-mutu T.S., Vlasova I.I., Camacho C.J., Gladwin M.T., Bayir H., Kagan V.E. Peroxidase activation of cytoglobin by anionic phospholipids: Mechanisms and consequences. *Biochim. Biophys. Acta.* – 2016. – V. 1861. – P. 391-401.

СРАВНЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА СТАБИЛЬНОСТЬ ДНК ПРОМЕЖУТОЧНЫХ И КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ МОДИФИКАЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ПРЕПАРАТОМ ЦИСПЛАТИН И ЕГО НЕАКТИВНЫМ АНАЛОГОМ ТРАНСПЛАТИНОМ

Галюк Е.Н.¹, Чанг Ч.-Л.³, Ринейская О.Н.¹, Ландо Д.Ю.^{2,3}

¹*Кафедра биоорганической химии БГМУ, Минск, Беларусь,*

²*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск,*

³*Institute of Physics, Academia Sinica, Nankang, Taipei, Taiwan*

Ранее было показано, что и промежуточные монофункциональные, и конечные бифункциональные продукты, образованные противоопухолевым препаратом цисплатин в ДНК, дестабилизируют двойную спираль [1,2]. Наши УФ-спектрофотометрические эксперименты по плавлению показали, что дестабилизация монотонно возрастает со временем инкубации [1]. Для трансплатина картина оказалась более сложной. Для малых времен его инкубации с ДНК в течение 0.5 и 3 часов при 37°C, молярном отношении Рт/нуклеотид $r_b=0.05$, $[Na^+]=110$ мМ, рН 7 было обнаружено небольшое, но воспроизводимое *уменьшение* температуры плавления $-0.7\pm0.2^\circ\text{C}$. Примерно такое же *увеличение* ($+0.6\pm0.25^\circ\text{C}$) имеет место после 48-часовой инкубации. Эти результаты нашли подтверждение и в калориметрических исследованиях [2]. Последнее позволяет предположить, что монофункциональные продукты трансплатина дестабилизируют, а конечные продукты – стабилизируют двойную спираль. Однако, смещение температуры плавления незначительно и сопоставимо с погрешностью спектральных и калориметрических экспериментов.

Цель данного исследования – точное измерение воздействия на стабильность ДНК промежуточных и конечных продуктов химической модификации трансплатином при помощи сочетания метода дифференциальной сканирующей калориметрии и техники отрицательных вторых

производных, а также сравнение с результатами полученными ранее для дисплатина [1,2].

Мы показали, что метод вторых отрицательных производных позволяет с высокой точностью (до $0.05-0.1^{\circ}\text{C}$) измерить воздействие различных продуктов платинирования на стабильность двойной спирали. На рисунке показаны вторые отрицательные температурные производные калориметрического профиля плавления ДНК до и после обработки трансплатином. Инкубации смеси ДНК и трансплатина проводилась в течение 0 (контроль), 0.5, 3 и 48 часов. К сожалению, четыре узких пика сателлитной ДНК, используемые нами ранее в подобных исследованиях, при платинировании исчезают. Поэтому их нельзя использовать для оценки изменения стабильности. Однако первый минимум на кривой вторых отрицательных производных, хорошо выражен не только для исходной ДНК (79.0°C , левая вертикальная пунктирная линия на рисунке), но и сохраняется после 0.5 и 3 часовой инкубации с трансплатином. Величина смещения минимума в целом совпадает с изменением температур плавления, но измеряется со значительно более высокой точностью ($\sim 0.1^{\circ}\text{C}$).

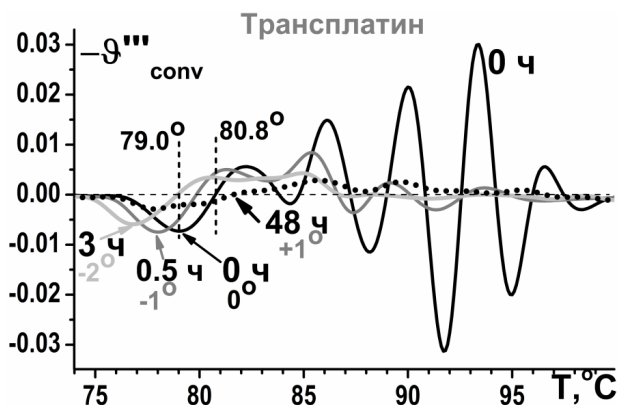


Рисунок – Вторая отрицательная температурная производная калориметрического профиля плавления, нормированного на площадь, до (0 часов) и после инкубации смеси ДНК и трансплатина в течение 0.5, 3 и 48 часов.

Однако после 48 часов инкубации и данный пик сильно искажается. Поэтому мы использовали другую характерную точку - первое пересечение кривых с нулевой осью. Для исходной ДНК это пересечение

обозначено на рисунке вертикальной линией, расположенной при температуре 80.8°C. В данном случае, величины дестабилизации близки к данным, полученным для температуры плавления и для положения минимума. Стабилизация, возникающая после 48 часов инкубации, также хорошо выражена. По величине она несколько меньше по сравнению с определенной по положению минимума. Последнее связано с отмеченной выше деформацией пика.

Полученные результаты показывают, что стабилизация, обусловленная конечными продуктами трансплатина, в основном возникает из-за внутрипочечных сшивок, поскольку монофункциональные продукты вызывают дестабилизацию, а межпочечные сшивки не дают достаточной стабилизации. При этом возникает вопрос о механизме увеличения стабильности ДНК внутрипочечными сшивками, поскольку последние сильно деформируют двойную спираль ДНК. Это проявляется в нарушении тонкой структуры кривой плавления, и в более сильном уменьшении энтальпии перехода спираль-клубок по сравнению с цисплатином [2].

Однако необходимо учитывать, что изменение температуры плавления при платинировании зависит от структурных изменений как спиральной, так и расплавленной форм ДНК. Внутрипочечная сшивка трансплатина охватывает более длинный участок цепи ДНК по сравнению с цисплатином и поэтому может вызвать более сильные ограничения в подвижности участка расплавленной ДНК, модифицированной трансплатином. Более сильное ограничение вызывает дополнительное уменьшение энтропии расплавленного состояния и энтропию перехода спираль-клубок ДНК [2]. Поскольку температура плавления равна отношению энтальпии и энтропии перехода спираль-клубок ($\Delta H/\Delta S$), дополнительное уменьшение энтропии увеличивает температуру плавления [2].

Литература

1. Lando, D.Y., et al. Temporal behavior of DNA thermal stability in the presence of platinum compounds. Role of monofunctional and bifunctional adducts // J. Inorg. Biochem. – 2012. – V. 117, N 1. – P. 164–170.
2. Lando, D.Y., et al. Comparative thermal and thermodynamic study of DNA chemically modified with antitumor drug cisplatin and its inactive analog transplatin // J. Inorg. Biochem. – 2014. – V. 137, N1. – P. 85–93.