

УДК 541.64:532.7

## ВЫЧИСЛЕНИЕ КОНСТАНТ АССОЦИАЦИИ С УЧАСТИЕМ ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ В РАСТВОРАХ<sup>1</sup>

© 2000 г. А. Г. Кудрев

Санкт-Петербургский государственный университет. Химический факультет  
198904 Санкт-Петербург, Университетский пр., 2 \*

Поступила в редакцию 29.04.99 г.  
Принята в печать 18.11.99 г.

Проведен математический анализ данных титрования идеального полимера, содержащего периодически повторяющуюся функциональную группу, способную к обратимому присоединению лиганда в растворе. Для описания кривых титрования использован матричный метод вычисления константы равновесия комплексообразования с полимером. На основе сопоставления данных математического моделирования с результатами эксперимента дана интерпретация зависимости константы равновесия от концентрации, наблюдаемой при депротонировании синтетической полирибоуридиловой кислоты в водном растворе.

Классические методы анализа химической модели равновесия, основанные на методе наименьших квадратов (МНК), практически не применяются для обработки экспериментальных кривых титрования растворов макромолекул [1]. Это связано с трудностями составления и преобразования системы уравнений материального баланса и закона действующих масс для большого числа химических форм, образуемых лигандом с макромолекулой. К системам, вызывающим подобные трудности математической обработки относятся, в частности, растворы регулярных (синтетических) и нерегулярных (природных) полинуклеотидов. Константы ассоциации с полинуклеотидами наиболее часто рассчитывают по методу Скатчерда [2], развитому для анализа данных о колигативных свойствах. Однако этот метод применим для анализа данных потенциометрии в случае, когда возможно точно измерить разность общей и равновесной концентрации протонов. Для люминесцирующих лигандов при расчете константы ассоциации непосредственно определяют количество связанного лиганда по измерению спектра люминесценции [3], что корректно, если спектр сильно изменяется. Это же можно сказать по пово-

ду применения метода ЯМР [4, 5]. Количество связанныго лиганда можно определить и с помощью биохимического титрования Quantitative Affinity Cleavage Titration [6]. Следует отметить, что данный метод надежен только если компоненты образуют устойчивый комплекс. При наличии в системе концентрационной или спектральной селективности функцию образования для полимера можно вычислить из мультипеременных спектральных данных с помощью факторного анализа [7–10].

В основе метода Скатчерда лежит допущение об идеальности полимерной молекулы. В случае полинуклеотидов обычно наблюдаются существенные различия экспериментальных зависимостей измеряемых физических свойств от ожидаемых на основе представлений об идеальном полимере. Для объяснения линейных отклонений используется теория полиэлектролитов [11], предсказывающая линейную зависимость  $pK_a$  от pH. Нелинейные отклонения позволяет объяснить теория Хилла [12] о кооперативности взаимодействий. Одним из возможных способов описания кооперативных взаимодействий является матричный метод [12].

Настоящая работа выполнена с целью выяснения возможности применения матричного метода для вычисления константы равновесия комплексообразования и параметров кооперативности взаимодействия с полинуклеотидами.

<sup>1</sup> Теоретическая часть работы выполнена при финансовой поддержке Конкурсного Центра фундаментального естествознания при Санкт-Петербургском государственном университете (грант 9-373, 1999 г.).

В качестве экспериментального примера проанализировано кислотно-основное поведение синтетической полиуридиевой кислоты Poly(U) в нейтральных и щелочных водных растворах в зависимости от pH. Данный объект выбран в связи с тем, что в ходе процесса протонирования Poly(U) наблюдается как кооперативная, так и антикооперативная функциональная зависимость эффективной константы равновесия от степени насыщения полимера лигандом. Наблюданная при протонировании Poly(U) выгнутая форма функции  $\lg \bar{K} = f(\bar{n})$  типична для равновесий полинуклеотидов с заряженными и с нейтральными лигандами.

Пirimидиновое основание – урацил, входящее в состав природных и синтетических рибонуклеиновых кислот, в водных растворах в зависимости от pH может быть в протонированной или депротонированной форме [13]. Кислотно-основным центром урацила является азот N<sub>3</sub>. Исследование этого центра, проявляющего свойства слабой кислоты, представляет особый интерес в связи с тем, что он участвует в образовании водородных связей, определяющих пространственное строение нуклеиновых кислот [14].

## ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### *Функция образования идеального полимера*

Рассмотрим полимер Poly, содержащий периодически повторяющуюся функциональную группу Mon, способную к обратимому присоединению лиганда X в растворе. Пусть полимер, присоединяя лиганд, образует ряд комплексов PolyX<sub>k</sub>, которые можно рассматривать как продукт равновесного взаимодействия X с Mon. Характеристикой способности полимера Poly присоединять лиганд X является внутренняя константа  $\bar{K}$ . Если в процессе ступенчатого комплексообразования сохраняется эквивалентность функциональных групп Mon, то сумма констант образования всех комплексов, образуемых полимером, является рядом Маклорена степенной функции внутренней константы [15]

$$1 + \sum_{k=1}^N B'_k = (1 + \bar{K})^N, \quad (1)$$

где  $B'_k$  – константа устойчивости PolyX<sub>k</sub>, N – число мономеров в цепи, k – число присоединенных лигандов. Исходя из уравнения (1) для идеального по-

лимера уравнения материального баланса можно записать в общем виде

$$c_{\text{Mon}} = [\text{Mon}] (1 + \bar{K}[X])^N \quad (2)$$

$$c_X = [X] + \frac{\bar{K}[X][\text{Mon}]}{N} (1 + \bar{K}[X])^{N-1} \quad (3)$$

Здесь  $c_{\text{Mon}}$  и  $c_X$  – общие концентрации мономера и лиганда, а  $[\text{Mon}]$  и  $[X]$  – их равновесные концентрации. Подставляя формулу (2) в соотношение (3), получаем уравнение для функции образования, связывающее аналитически определяемые концентрации с внутренней константой идеального полимера

$$\bar{n} = \frac{c_X - [X]}{c_{\text{Mon}}} = \frac{\bar{K}[X]}{1 + \bar{K}[X]} \quad (4)$$

Выражение (4) эквивалентно уравнению Скатчера для монодентатного лиганда. По отношению к полидентатному лиганду, в среднем занимающему  $m$  мономеров, уравнение Скатчера записывается в виде

$$\bar{n} = \bar{K}[X](m - \bar{n}) \quad (5)$$

Для идеального полимера  $\bar{K}$  является константой, не зависящей ни от числа мономеров в цепи, ни от степени насыщения полимера лигандом. На практике величина  $\bar{K}$ , рассчитываемая по уравнению (5), как правило, является функцией [X]. Модернизация уравнения (5) позволяет учесть функциональную связь  $\bar{K}$  с [X] путем введения фактора кооперативности взаимодействия. Вычисление параметра кооперативности  $\omega$  проводится по уравнению Мак Ги-фон Хиппела [16]

$$\bar{n} = \bar{K}_c[X](1 - m\bar{n}) \left( \frac{(2\omega - 1)u + \bar{n} - R}{2(\omega - 1)u} \right)^{m-1} \times \\ \times \left( \frac{1 - (m+1)\bar{n} + R}{2u} \right)^2, \quad (6)$$

где  $R = \sqrt{(1 - (m+1)\bar{n})^2 + 4\omega\bar{n}u}$ ;  $u = 1 - m\bar{n}$ .

Уравнение (6) описывает функцию образования, детерминированную одним типом кооперативности. Но, как отмечалось в работах [7–10], например, процесс протонирования полинуклеотидов сопровождается эффектом полиэлектролита, внутримолекулярными гидрофобными взаимодействиями и конформационными изменениями. Сочетание перечисленных факторов приводит к зависимости не только величины, но и знака кооперативности от  $\bar{n}$ . Изменение знака кооперативности наблюдается также при внедрении гетеро-

циклических оснований в двуспиральные и трехспиральные полинуклеотиды [17–19]. В уравнении (6) увеличение  $m$  формально соответствует усилению антикооперативности. При фиксированном  $m$  участок с отрицательной кооперативностью на основе теории полиэлектролита было предложено обрабатывать отдельно, введя множитель в уравнение (5) [17].

Для описания всей кривой титрования одной регрессией в настоящей работе применен матричный метод [20, 21]. В основу физической модели положен учет взаимовлияния ближайших соседей в полимере, содержащем периодически повторяющуюся функциональную группу, способную к обратимому связыванию лиганда. В комплексе PolyX<sub>k</sub> лиганды могут связываться с различными мономерами, причем число возможных комбинаций равно числу сочетаний из  $k$  по  $N$  ( $S_k^N$ ). Константа  $B_k$  устойчивости комплекса PolyX<sub>k</sub> является суммой констант устойчивости отдельных конфигураций (состояний цепи)  $\beta_i$

$$B_k = \sum_{i=1}^{S_k^N} \beta_i \quad (7)$$

Для вычисления  $\beta_i$  введем матрицу конфигураций  $M(N, 2^N)$ . Матрица конфигураций  $M$  по сути является набором из  $2^N$  двоичных чисел. Стока матрицы  $M_i$  отображает возможную конфигурацию полимера с последовательностью нулей в положениях, где мономеры свободны, и с последовательностью единиц в положениях, где мономер связан с лигандом. Константу устойчивости конфигурации, образуемой комплексом PolyX<sub>k</sub>, можно представить в виде произведения констант устойчивости комплексов, образованных занятymi мономерами

$$\beta_i = \prod_{j=1}^N (\bar{K}_m \omega_j)_{M_{ij} \neq 0} \quad (8)$$

Здесь  $\omega_j$  – поправка на взаимовлияние между соседями. Из уравнения (8) видно, что устойчивость конфигурации обусловлена как внутренней константой, так и взаимовлиянием соседей. Для моделирования линейного изменения кажущейся константы равновесия введем линейную поправку на взаимовлияние между ближайшими соседями  $\omega_p$ :  $\omega_j = 1 - \omega_p$  и  $\omega_{j+1} = 1 - \omega_p$ , если  $M_{ij} \equiv 1$  и  $M_{ij+1} \equiv 1$ . Для учета нелинейного кооперативного изменения кажущейся константы равновесия введем поправку на взаимовлияние  $\omega_H$ :  $\omega_j = \omega_j \omega_H$  и  $\omega_{j+1} = \omega_{j+1} \omega_H$ , если  $M_{ij} \equiv 1$  и  $M_{ij+1} \equiv 1$ . С помощью ма-

тричного метода в общем случае возможно учесть взаимовлияние соседей, включающих любое число звеньев цепи. В рассмотренном ниже экспериментальном примере учитывалось взаимовлияние в цепочке, состоящей из трех мономеров. Для этого введена поправка на взаимовлияние  $\omega_{l=2}$ :  $\omega_j = \omega_j \omega_{l=2}$  и  $\omega_{j+2} = \omega_{j+2} \omega_{l=2}$ , если  $M_{ij} \equiv 1$  и  $M_{ij+2} \equiv 1$ . Если в идеальном полимере  $\omega_p = 0$  и  $\omega_{l=2} = 1$ , то  $\omega_H$  становится эквивалентом параметра кооперативности  $\omega$  в уравнении (6). Функция образования с учетом определения константы устойчивости конфигурации (уравнения (7) и (8)) может быть преобразована к матричной форме

$$\bar{n} = \frac{[X]^S \times \mathbf{S}\mathbf{B}}{N(1 + [X]^S \mathbf{B})}, \quad (9)$$

где  $\mathbf{S} = \sum M_i$  – вектор сумм строк матрицы конфигураций;  $\times$  – знак поэлементного умножения,  $\mathbf{B}$  – вектор констант устойчивости с элементами  $\beta_i$ . Из допущений, принятых при выводе уравнения (9), видно, что функция образования определена длиной полимера  $N$  и независимыми переменными  $\bar{K}_m$ ,  $\omega_p$ ,  $\omega_H$  и  $\omega_{l=2}$ . Уравнение (9) позволяет теоретически рассчитать функцию  $\bar{n} = f([X])$ , детерминированную вектором  $\mathbf{B}$  при заданной длине полимера и известной равновесной концентрации лиганда. Для вычисления вектора  $\mathbf{B}$  в свою очередь необходимо определить параметры  $\bar{K}_m$ ,  $\omega_p$ ,  $\omega_H$  и  $\omega_{l=2}$ . Эти параметры не скоррелированы и корректно вычисляются с помощью МНК [22]. В тестах правильная сходимость наблюдалась в широком диапазоне начальных приближений исключимых параметров.

Моделирование поведения бесконечного полимера с использованием уравнения (9) осуществляется на основе приближения циклического олигомера, т.е. олигомера, у которого мономеры замкнуты в круг. При  $N > 7$  для циклического олигомера зависимостью функции образования от числа звеньев в цепи практически можно пренебречь, по сравнению с экспериментальной ошибкой ее определения. Сходство циклического олигомера с бесконечным достигается в результате того, что Mon<sup>1</sup> соединен с Mon<sup>N</sup>, в результате взаимовлияния по всей длине цепи становится однородным. Например, для конфигурации олигомера ( $M_i = [1, 1, 1, 0, 0, 1]$ ) Mon<sup>1</sup>(X)–Mon<sup>2</sup>(X)–Mon<sup>3</sup>(X)–Mon<sup>4</sup>–Mon<sup>5</sup>–Mon<sup>6</sup>(X) взаимовлияние между ассоциатами с номерами 1, 2 и 3 такое же, как между ассоциатами с номерами 6, 1 и 2.

В качестве критерия соответствия матриц в настоящей работе использован фактор Гамильтона [23]. Учитывая однородность дисперсий измерений, весовыми коэффициентами в уравнении Гамильтона можно пренебречь. Выражая фактор Гамильтона в процентах, получим критерий соответствия

$$\text{PE}(Z, Z^*) = \left[ \frac{\text{Tr}\{(Z^* - Z)(Z^* - Z)^T\}}{\text{Tr}\{ZZ^T\}} \right]^{1/2} \times 100\%, \quad (10)$$

где  $Z$  – матрица, с которой проводится сравнение,  $Z^*$  – рассчитанная матрица,  $\text{Tr}$  – след матрицы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### *Пример вычислений для гипотетического бесконечного полимера*

В качестве примера было проведено моделирование поведения функции  $\bar{n}/[X] = f(\bar{n})$ , имитирующее взаимодействие бесконечного полимера с лигандом, которое сопровождается различными кооперативными эффектами. Исходя из разных значений  $\bar{n}$  и  $[X]$ , были построены графики функции  $\lg \bar{K} = f(\bar{n})$ , показанные на рис. 1. Видно, как две различные модели отражают изменение величины антикооперативности на фоне разной положительной кооперативности. Следует отметить, что отображение поведения объектов подобного типа в виде графика Скатчера (т.е. зависимости  $\bar{n}/[X]$  от  $\bar{n}$ ) значительно менее наглядно, поскольку при небольшом изменении  $m$  функция  $\bar{n}/[X] = f(\bar{n})$  не проявляет особых изменений. При вычислениях по уравнению (6) увеличение  $m$  формально имитирует усиление антикооперативности (эффекта полиэлектролита). Как видно из рис. 1а и 1б, у функции  $\lg \bar{K} = f(\bar{n})$ , даже при незначительном отклонении  $m$  от единицы, появляется максимум в результате очень резкого убывания функции при приближении аргумента к предельному значению  $\bar{n} = 1/m$ . При вычислениях по уравнению (9) за усиление антикооперативности отвечает коэффициент  $\omega_p$ . Как видно из рис. 1в и 1г, возрастание  $\omega_p$  приводит к относительному уменьшению функции  $\lg \bar{K} = f(\bar{n})$  при увеличении аргумента. При наличии положительной кооперативности, повышение  $\omega_p$  вызывает изменение вида функции  $\lg \bar{K} = f(\bar{n})$  от возрастающей на убывающую. Следует отметить, что в отсутствие антикооперативности сравниваемые уравнения (6) и (9) дают одинаковый вид функции образования.

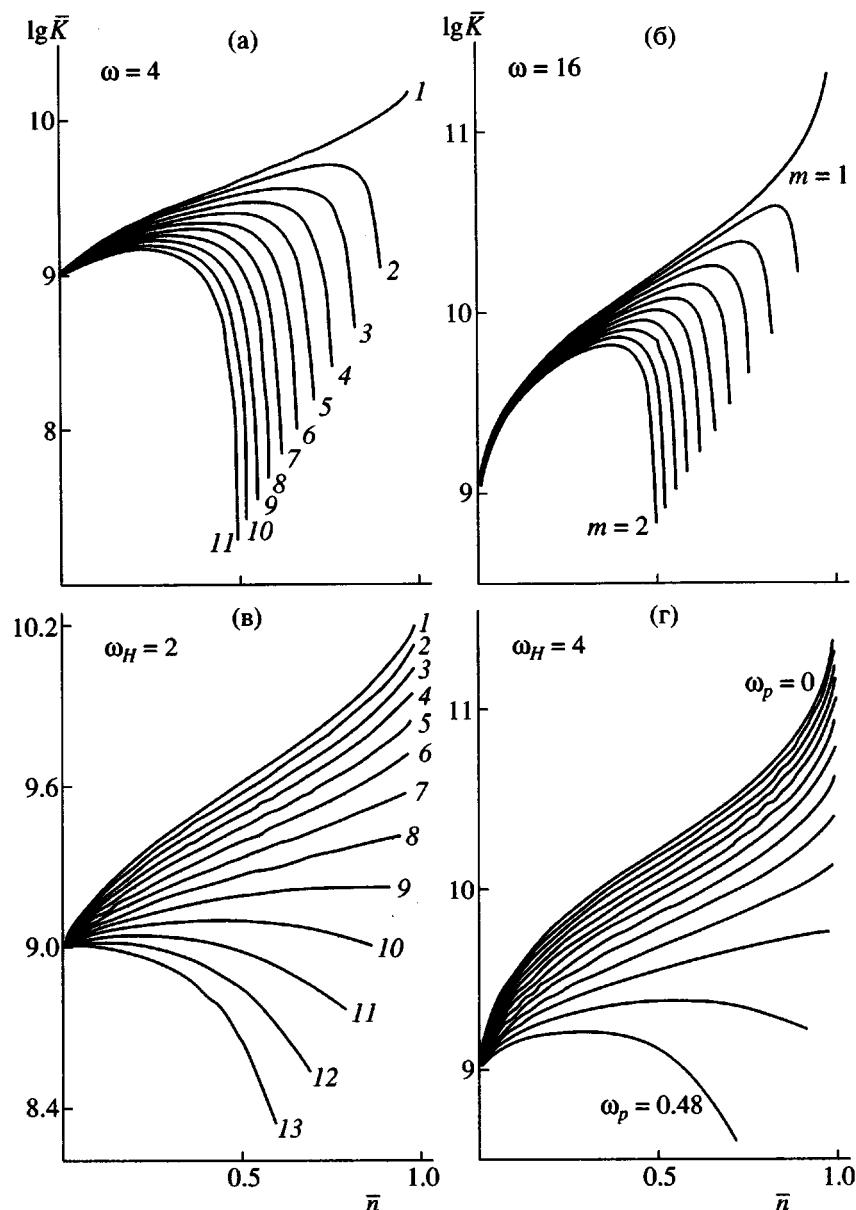
Расхождение (РЕ) модельных функций образования, рассчитанных по уравнению (6) ( $\lg \bar{K}_c = 0$ ;  $\omega = 4$ ;  $m = 1$ ;  $N_p = 100$ ) для бесконечного полимера и по уравнению (9) ( $\lg \bar{K}_m = 0$ ;  $\omega_H = 2$ ,  $\omega_p = 0$  и  $\omega_{l=2} = 1$ ;  $N_p = 100$ ) для циклического олигомера, при  $N = 8$  составило  $\text{PE}(\bar{n}_{\text{уп(6)}}, \bar{n}_{\text{уп(9) } N=8}) = 3 \times 10^{-3}\%$ , при  $N = 10$   $\text{PE}(\bar{n}_{\text{уп(6)}}, \bar{n}_{\text{уп(9) } N=10}) = 3 \times 10^{-4}\%$ . Дальнейшее увеличение  $N$  приводит к уменьшению РЕ матриц, рассчитанных по уравнениям (6) и (9), но наблюдаемое улучшение пренебрежимо мало (например, расхождение векторов функций образования при  $N = 10$  и 12 меньше 0.0003%:  $\text{PE}(\bar{n}_{N=12}, \bar{n}_{N=10}) = 2.8 \times 10^{-4}\%$ ). Таким образом, для системы с одним типом кооперативности обе модели имеют по сути одинаковое решение. При наличии в системе разных типов кооперативности модели дают разные решения, и форма одной регрессии не может быть приведена к другой путем варьирования параметров. Поэтому при обработке экспериментальных данных две рассмотренные модели можно дискриминировать в соответствии с методом максимального правдоподобия [24].

### *Пример вычислений по экспериментальным данным. Кислотно-основное поведение Poly(U)*

Для проведения анализа использованы данные потенциометрического исследования процесса протонирования Poly(U), опубликованные в работе [13]. Зная общие концентрации титранта и титруемого вещества, по данным потенциометрии можно формально рассчитать константу протонирования мономера в каждой точке кривой титрования. Рассчитанные по данным работы [13] зависимости  $\bar{n}/[X] = f(\bar{n})$  (график Скатчера) и  $\lg \bar{K} = f(\bar{n})$  показаны на рис. 2. Максимальный разброс значений  $\lg \bar{K}$  составляет ~5%. Исходя из опубликованных данных, критический уровень погрешности определения  $\lg \bar{K}$  можно оценить в 0.3%.

Из рис. 2б видно, что увеличение  $\bar{n}$  от 0.1 до ~0.55 вызывает эффект увеличения  $\lg \bar{K}$ . Такое поведение объясняется образованием дополнительных водородных связей при протонировании [14]. Дальнейшее увеличение  $\bar{n}$  от 0.55 до 0.9 приводит к уменьшению  $\lg \bar{K}$ , что, вероятно, вызвано эффектом полиэлектролита.

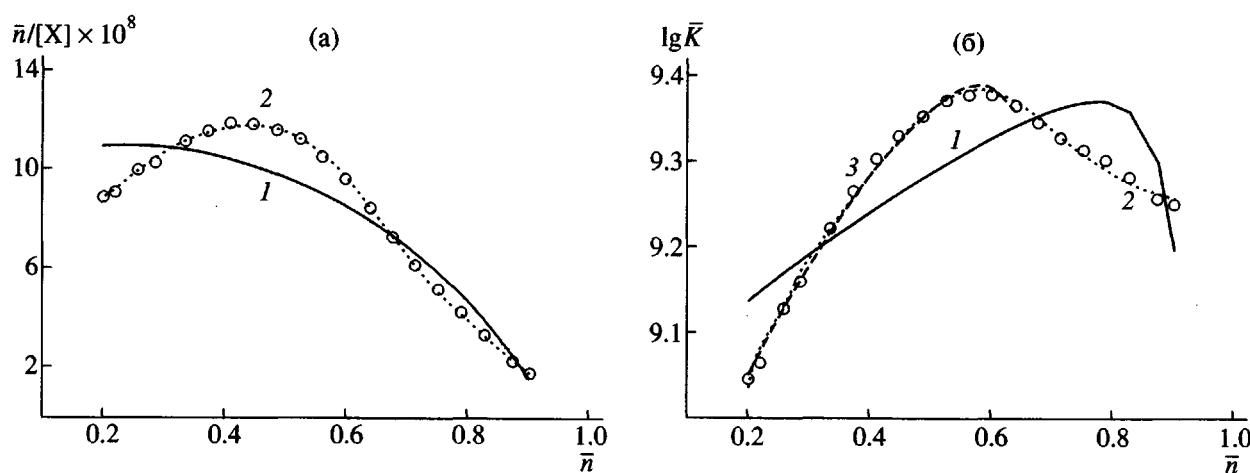
Для всего набора экспериментальных данных были вычислены оптимальные значения параметров протонирования по уравнению (6) (таблица).



**Рис. 1.** Зависимость вида функции  $\lg \bar{K} = f(\bar{n})$  от величины антикооперативности, моделирующей эффект полиэлектролита при различной положительной кооперативности  $\omega$ . а, б – бесконечный полимер; зависимости рассчитаны по уравнению (6) ( $\lg \bar{K}_c = 9$ ,  $\omega = 4$  (а) и  $16$  (б)) для различных средних чисел мономеров  $m$ , занимаемых лигандом ( $1-11$ ):  $m = 1, 1.1, 1.2, \dots, 2$ ; в, г – зависимости, рассчитанные для циклического олигомера ( $N = 8$ ) по уравнению (9) ( $\lg \bar{K}_m = 9$ ,  $\omega_H = 2$  (в) и  $4$  (г),  $\omega_{l=2} = 1$ ) для различных  $\omega_p$  ( $1-13$ ):  $\omega_p = 0, 0.04, 0.08, \dots, 0.48$ .

Однако, как видно из рис. 2а, теоретическая функция  $\bar{n}/[X] = f(\bar{n})$ , рассчитанная по этому уравнению, плохо описывает данные эксперимента. Еще более наглядно это видно из рис. 2б. Расхождение экспериментальных и рассчитанных величин значительно превышает погрешность измерения (таблица). Допустимое расхож-

дение достигается в том случае, если описывать часть кривой при значениях аргумента  $\bar{n}$  от 0.1 до 0.65 (рис. 2а). При  $\bar{n} > 0.6$ , как видно из рис. 2а, функция  $\bar{n}/[X] = f(\bar{n})$  имеет вид, близкий к линейному. Наблюдаемая зависимость совпадает с ожидаемой на основе теории полиэлектролита.



**Рис. 2.** График Скатчера для системы Poly(U) + H (а) и зависимость кажущейся константы от функции образования (б). Точки – экспериментальные данные [13]. Кривые 1 – зависимости, рассчитанные по уравнению (6) для всего набора экспериментальных данных (таблица); кривые 2 – зависимости, рассчитанные по уравнению (9) для всего набора экспериментальных данных; кривая 3 (штриховая линия) – зависимость, рассчитанная по уравнению (6) для части экспериментальных данных, включающих участок кооперативности и начальный участок антикооперативности.

В соответствии с этой теорией, как было показано [17], при фиксированном  $m$  участок с отрицательной кооперативностью можно описать отдельно, введя линейный множитель в уравнение (6). Однако возникает неопределенность в выборе линейного участка, характеризующего антикооперативность, и участка с положительной кооперативностью. Это весьма существенно, так как от такого выбора зависят рассчитываемые параметры.

Были вычислены оптимальные значения параметров протонирования по уравнению (9) для всего набора экспериментальных данных. Для расчетов по уравнению (9) в качестве модельного соединения, моделирующего поведение реального объекта, был взят циклический олигомер  $N = 11$ . При таком числе звеньев в цепи циклический олигомер практически можно считать аналогом бесконечного полимера. Как видно из рис. 2, теоретическая зависимость, построенная с помощью

#### Параметры протонирования Poly(U)

Модель	$\lg \bar{K}^*$	$\sqrt{\omega} = \omega_H$	$\omega_p$	$\omega_{l=2}$	$m$	$PE(\lg \bar{K}_{\text{эксп}}, \lg \bar{K}_{\text{расчет}})$
1	8.97	2.1	–	–	1.006	0.62
2	8.44	10.9	–	–	1.4	0.08
3	8.29	3.73	0.48	3.67	–	0.09

Примечание. Модель 1 – бесконечный полимер (уравнение (6)), вся совокупность экспериментальных данных; модель 2 – бесконечный полимер (уравнение (6)), часть экспериментальных данных, соответствующих значениям функции образования в интервале от 0.1 до 0.65; модель 3 – циклический олигомер  $N = 11$  (уравнение (9)), вся совокупность экспериментальных данных.  $\omega$  – для моделей 1 и 2 и  $\omega_H$  – для модели 3 – параметр положительной кооперативности (коэффициент взаимовлияния между ближайшими соседями);  $\omega_p$  – параметр отрицательной кооперативности (коэффициент антикооперативности для ближайших соседей);  $\omega_{l=2}$  – коэффициент взаимовлияния для соседей, разделенных одним основанием;  $m$  – среднее число оснований занимаемых лигандом; РЕ – расхождение (см. уравнение (10)) экспериментальных ( $\lg \bar{K}_{\text{эксп}}$ ) и оптимизированных с помощью МНК значений ( $\lg \bar{K}_{\text{расчет}}$ ), рассчитанных согласно уравнениям (6) и (9).

\*  $\lg \bar{K}_c$  – для моделей 1 и 2 и  $\lg \bar{K}_m$  – для модели 3.

этой модели, совпадает с экспериментальной. Расхождение рассчитанной и экспериментальной функции лежит в пределах ошибки определения  $\lg \bar{K}$  (таблица).

Анализируя найденные параметры, можно отметить, что внутренняя константа, рассчитанная согласно матричной модели, несколько ниже чем та, которая получается при применении уравнения (6) или которую обычно используют в качестве оценки в рамках предположения об идеальности полимера ( $\lg \bar{K} = 9.363$  при  $\bar{n} = 1/2$  [13]). Отклонение от идеальности обусловлено высокой положительной кооперативностью при значениях  $\bar{n}$ , близких к нулю. При увеличении  $\bar{n}$  начинает доминировать отрицательная антикооперативность, что приводит к убыванию функции  $\lg \bar{K} = f(\bar{n})$ . Любопытным фактом является близость значений коэффициентов кооперативного взаимовлияния между соседними функциональными группами (мономерами) и мономерами, отделенными друг от друга промежуточным мономером. Можно предположить, что это связано с влиянием протонирования на изменение конформации молекулы полимера.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бек М., Надьпал И. Исследование комплексообразования новейшими методами. М.: Мир, 1989.
2. Scatchard G. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1949. V. 51. P. 660.
3. Haq I., Lincoln P., Suh D., Norden D., Chowdhry B.Z., Chaires J.B. // J. Am. Chem. Soc. 1995. V. 117. № 17. P. 4788.
4. Patel D.J. // Biopolymers. 1977. V. 16. № 12. P. 2739.
5. Patel D.J., Canuel L.L. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1976. V. 73. P. 3343.
6. Colocci N., Dervan P.B. // J. Am. Chem. Soc. 1995. V. 117. № 17. P. 4781.
7. Izquierdo-Ridorsa A., Casassas E., Gargallo R., Marques I., Tauler R. // Reactive Funct. Polymers. 1996. V. 28. № 2. P. 127.
8. Casassas E., Tauler R., Marques I. // Macromolecules. 1994. V. 27. № 7. P. 1729.
9. Tauler R., Izquierdo-Ridorsa A., Gargallo R., Casassas E. // Chemom. and Intel. Lab. Systems. 1995. V. 27. P. 163.
10. Casassas E., Gargallo R., Izquierdo-Ridorsa A., Tauler R. // Reactive Funct. Polymers. 1995. V. 27. № 1. P. 1.
11. Friedman R.A.G., Manning G.S. // Biopolymers. 1984. V. 23. № 7. P. 2671.
12. Hill T.L. Cooperativity Theory in Biochemistry. Steady State and Equilibrium Systems. New York : Springer-Verlag, 1985.
13. Casassas E., Gargallo R., Gimenez I., Izquierdo-Ridorsa A., Tauler R. // Anal. Chim. Acta. 1993. V. 283. № 2. P. 538.
14. Jeffery G.A., Saenger W. Hydrogen Bonding in Biological Structures. Berlin: Springer-Verlag, 1994.
15. Gill S.J. // Biochemical Thermodynamics / Ed. by Jones M.N. Amsterdam: Elsevier, 1979. P. 224.
16. McGhee J.D., von Hippel P.H. // J. Mol. Biol. 1974. V. 86. № 2. P. 469.
17. Friedman R.A.G., Manning G.S. // Biopolymers. 1984. V. 23. № 12. P. 2671.
18. Pohl F.M., Jovin T.M., Baehr W., Holbrook J.J. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1972. V. 72. P. 245.
19. Winkle S.A., Krugh T.R. // Nucleic Acids Res. 1981. V. 9. P. 3175.
20. Crothers D.M. // Biopolymers. 1968. V. 6. № 2. P. 575.
21. Zimm B.H., Bragg J.K. // J. Chem. Phys. 1959. V. 31. № 2. P. 526.
22. More J.J. // The Levenberg-Marquardt Algorithm: Implementation and Theory. Numerical Analysis / Ed. by Watson G.A. Lecture Notes in Mathematics 630. New York: Springer-Verlag, 1977. P. 105.
23. Hamilton W.C. Statistics in Physical Science. New York: Roland Press, 1964.
24. Крамер Х. Математические методы статистики / Пер. с англ. под ред. Колмогорова А.Н. М.: Мир, 1975.

**Calculation of the Association Constants of Polynucleotides in Solutions****A. G. Kudrev***Department of Chemistry, St. Petersburg State University,  
Universitetskii pr. 2, Petrodvorets, 198904 Russia*

**Abstract**—A mathematical analysis of data on the titration of the ideal polymer containing a periodically repeating functional group capable of reversibly attaching ligands in solution was performed. The titration curves were described by applying a matrix method to calculation of the equilibrium constant of polymer complex formation. The results of mathematical modeling were compared with experimental data. On this basis, the concentration dependence of the equilibrium constant for deprotonation of a synthetic poly(ribouridylic acid) in aqueous solution was proposed.