

УДК 541(64+49+183):539.2

МЕХАНИЗМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДНК С КАТИОННЫМИ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ В ВОДНО-СПИРТОВОЙ СРЕДЕ И СТРУКТУРА ОБРАЗУЮЩИХСЯ КОМПЛЕКСОВ¹

© 2003 г. В. Г. Сергеев, О. А. Пышкина, А. А. Зинченко,
С. Б. Зезин, А. Б. Зезин, В. А. Кабанов

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. Химический факультет
119992 Москва, Ленинские горы

Поступила в редакцию 23.10.2002 г.

Принята в печать 27.11.2002 г.

Показано, что при взаимодействии ДНК с кationными ПАВ – цетилtrimетиламмоний бромидом и дистеарилдиметиламмоний хлоридом в водных растворах 2-пропанола в зависимости от мольного соотношения компонентов образуются комплексы переменного состава. При недостатке ПАВ эти комплексы растворимы вплоть до определенной критической концентрации ПАВ, зависящей от его природы. При комплексообразовании в водно-спиртовом растворе молекулы ДНК сохраняют конформацию *B*-формы двойной спирали, характерную для водных растворов ДНК. В конденсированной фазе комплексы ДНК с дистеарилдиметиламмоний хлоридом, полученные в воде или в водно-спиртовом растворе, имеют сходную ламеллярную структуру. Ламели образованы катионами ПАВ, нейтрализующими фосфатные группы ДНК. При этом полианионы ДНК, располагающиеся в слоях между ламелями, присутствуют в конформации двойной спирали.

ВВЕДЕНИЕ

Полимер-коллоидные комплексы (ПКК), образующиеся в результате взаимодействия ионных ПАВ с противоположно заряженными природными и синтетическими полиэлектролитами в водных растворах, представляют собой особые соединения с необычной полимер-мицеллярной морфологией [1–3]. Методы получения таких ПКК довольно просты и заключаются в смешении растворов полиэлектролитов с растворами ПАВ в определенных условиях (рН, ионная сила). В зависимости от соотношения компонентов получаются как нестехиометрические водорастворимые ПКК, так и стехиометрические ПКК, которые выпадают в осадок [4–6]. Поведение этого класса ПКК в водных растворах, их структура и состав в конденсированной фазе изучены наиболее подробно.

¹Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 01-03-32779а) и программы “Выдающиеся ученые, молодые доктора и кандидаты наук”.

E-mail: pyshkina@genebee.msu.su (Пышкина Ольга Александровна).

Не растворимые в воде стехиометрические ПКК способны растворяться в неполярных органических растворителях [7]. Свойства таких растворов изучены менее детально. Однако твердо установлено принципиальное различие между нестехиометрическими ПКК, растворенными в воде, и стехиометрическими ПКК, растворенными в неполярных органических жидкостях [8]. Первые включают домены мицеллярной фазы, которые состоят из ионов ПАВ, агрегированных благодаря гидрофобному взаимодействию алкильных радикалов. Звенья полиэлектролита адсорбированы на противоположно заряженной поверхности мицеллярных частиц идерживаются в составе комплекса благодаря кооперативному электростатическому притяжению. Они выполняют функцию нейтрализующих противоионов. Растворимость частиц комплекса как целого обусловлена гидрофильностью избыточных заряженных звеньев полиэлектролита, экспонированных в водную fazу [4–6]. В противоположность этому в стехиометрическом ПКК, растворенном в неполярном органическом растворителе, углеводородные радикалы ПАВ не агрегированы. Они экспонированы в окружающую неполярную среду и выполняют функцию

лиофилизирующих заместителей, удерживаясь в частице комплекса ионными связями между заряженными "головками" ПАВ и звеньями полиэлектролита. Эти связи представляют собой стабильные ионные пары, которые практически не диссоциируют в средах с низкой диэлектрической проницаемостью [9]. Сказанное выше справедливо, в частности, для ПКК, сформированных ДНК и катионными мицеллообразующими ПАВ [10–14]. До сих пор остается открытым вопрос о взаимоотношениях полиэлектролитов с противоположно заряженными ионами ПАВ в смешанных водно-органических средах. Эта новая область колloidной химии полимеров представляет существенный интерес. Она включает, в частности, важные практические аспекты применительно к созданию разнообразных медицинских, косметических, лако-красочных рецептур и т.п.

Настоящая работа посвящена изучению взаимодействия молекул ДНК с катионными ПАВ в бинарном растворителе вода–2-пропанол. Известно, что комплексы ДНК с различными катионными субстратами исследуются и уже используются в качестве агентов для доставки генетического материала в клетки [15]. При контакте с клеточной мембраной такой комплекс фактически попадает в водно-органический слой, характеризующийся определенным гидрофильно-гидрофобным балансом. Поэтому изучение поведения комплексов ДНК–катионный ПАВ в подобных средах может способствовать установлению пока еще далеко не ясного механизма трансформации молекул ДНК. Выбор 2-пропанола был обусловлен следующими соображениями. Полярность 2-пропанола существенно меньше, чем у воды. Вместе с тем он неограниченно смешивается с водой, образуя истинные растворы. Тогда, варьируя соотношение компонентов, легко изменять полярность смешанного растворителя и тем самым влиять на склонность ионов ПАВ к самоорганизации в растворе [16].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для спектральных, седиментационных, рентгенографических и калориметрических исследований в работе использовали ДНК из молок лосося (300–500 пар оснований, $M = 1.9\text{--}3.2 \times 10^5$) (Государственный научно-исследовательский институт общей химической технологии, Россия). Для исследований с помощью флуоресцентного микроскопа ис-

пользовали сверхвысоко-молекулярную ДНК фага T4 (166000 пар оснований, $M = 1.1 \times 10^8$) ("Nippon Gene", Япония). В качестве катионных ПАВ применяли цетилtrimетиламмоний бромид (ЦТАБ), дистеарилдиметиламмоний хлорид (ДСДАХ) и дистеарилдиметиламмоний бромид (ДСДАБ) фирмы "Tokyo Kasei Kogyo Co.", Япония; последний – только для исследований с помощью флуоресцентной микроскопии. ПАВ дополнительно очищали перекристаллизацией из ацетона. Водно-органический растворитель готовили из 2-пропанола ("Компонент", Россия) и бидистиллированной воды. После смешения компонентов систему выдерживали в течение 3–4 ч для достижения равновесия, затем добавляли рассчитанное количество концентрированного водного раствора ДНК до требуемой концентрации в смешанном растворителе.

УФ-спектры растворов ДНК записывали на спектрофотометре "Specord M-40" (Германия), ИК-спектры образцов ДНК и комплекса ДНК–ДСДАХ – на спектрофотометре "Specord M-80" (Германия). Спектры кругового дихроизма получали на спектрополяризаторе "Jasco J-500 C" (Япония) в кюветах длиной 1 см при 20°C. Нерастворимые комплексы от супернатанта отделяли на preparative центрифуге "Micro 12-25" ("Hettich Zentrifugen", Германия) (скорость вращения ротора $\omega = 15000$ об/мин). Седиментационные исследования проводили на аналитической ультракентрифуге "Beckman-E" (США) при $\omega = 48000$ об/мин и температуре 20°C. Движение седиментационного фронта регистрировали с помощью УФ-детектора при $\lambda = 260$ нм.

Визуальное наблюдение за поведением отдельных молекул ДНК фага T4 проводили по методике, описанной в работах [17, 18], с помощью флуоресцентного микроскопа "Zeiss Axiovert 135 TV", снабженного 100-кратной линзой и записывали на высокочувствительную видеокамеру "Hamamatsu SIT TV". Образцы ДНК готовили следующим образом: в раствор ДНК (рН 8, 0,5 М ТВЕ-буфер) добавляли антиоксидант 2-меркаптоэтанол ("Wako Pure Chemicals Industries Ltd.", Япония) (4% по объему), флуоресцентную метку 4',6-диамино-2-фенилиндол (ДАФИ) и необходимое количество 2-пропанола ([ДНК] = 0,6, [ДАФИ] = 0,6 мкмоль/л). После достижения равновесия (около 2–3 ч) в раствор добавляли ДСДАБ до нужной концентрации. Наибольшее расстояние L_{max} между концами молекул фага ДНК

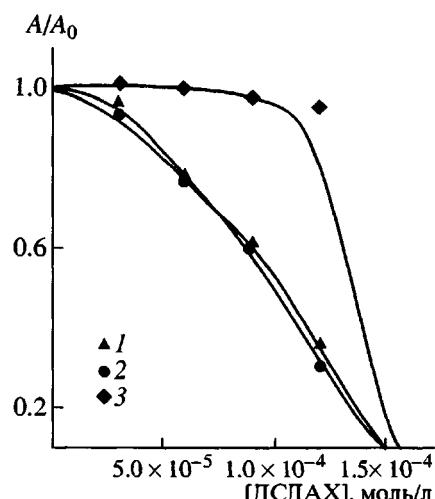


Рис. 1. Зависимости относительной оптической плотности супернатантов в области поглощения ДНК ($\lambda = 260$ нм) после отделения осадка, образующегося при взаимодействии ДНК с ДСДАХ: в воде (1), в 20% (2) и 40%-ном водном растворе 2-пропанола (3), от концентрации добавленного ДСДАХ. [ДНК] = 1.5×10^{-4} моль/л, $T = 20^\circ\text{C}$.

измеряли с помощью цифрового процессора "Argus 10" ("Hamamatsu Photonics"). Полученные значения L для единичных молекул ДНК были усреднены по 100 молекулам для каждой исследованной концентрации ПАВ.

Рентгенограммы нерастворимых комплексов ДНК-ПАВ в больших и малых углах получали на установках УРС-58 и УРС-60 (Россия). Для исследований образцов с помощью ДСК использовали прибор "Mettler TA-4000" (Швейцария). Состав комплексов рассчитывали по данным элементного анализа на углерод и фосфор.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При титровании водного или водно-спиртового растворов ДНК водным или водно-спиртовым раствором ПАВ при достаточных концентрациях ПАВ образуются нерастворимые комплексы ДНК-ПАВ. Зависимости относительной оптической плотности надосадочной жидкости, измеренной в области поглощения ДНК после отделения осадка, от концентрации ПАВ представлены на рис. 1. Как видно (кривая 1), нерастворимый комплекс ДНК-ДСДАХ в водном растворе начинает образовываться уже при очень низких концентрациях ДСДАХ (порядка 10^{-6} моль/л). В области достоверных измерений содержание ДНК в над-

осадочной жидкости уменьшается практически линейно с увеличением количества добавленного ДСДАХ. На рис. 1 приведена также аналогичная зависимость, полученная для той же смеси в 20%-ном водном растворе 2-пропанола (кривая 2). Видно, что обе кривые накладываются друг на друга. Следовательно, изменение состава растворителя в этих пределах, сопровождающееся изменением диэлектрической постоянной ϵ от 81 до 68, еще не влияет на характер взаимодействия ДСДАХ с ДНК. Иная картина наблюдается при дальнейшем увеличении содержания спирта в смешанном растворителе (кривая 3). Видно, что в 40%-ном водном растворе спирта ($\epsilon = 55$) связывание ДНК в нерастворимый ПКК начинается только после достижения некоторой критической концентрации ДСДАХ. При этом, как и в предыдущих случаях, практически полное осаждение ДНК из раствора достигается при концентрации ДСДАХ около 1.65×10^{-4} моль/л.

Известно, что при концентрациях 2-пропанола выше 60% ДНК претерпевает конформационный переход клубок-глобула [19] и образует нерастворимую фазу. Вместе с тем из приведенных выше данных следует, что присутствие 20% 2-пропанола еще не оказывает заметного влияния на связывание ДСДАХ с ДНК. Поэтому для систематического исследования влияния 2-пропанола на комплексообразование ДНК с ДСДАХ в качестве растворителя мы выбрали 40%-ный раствор 2-пропанола в воде, надеясь попасть в интервал, где влияние спирта в основном сводится к нарушению гидрофобного взаимодействия между алкильными радикалами ПАВ.

На рис. 2 сопоставлены зависимости относительной оптической плотности в надосадочной жидкости, измеренные в области поглощения ДНК после отделения комплексов на центрифуге, от отношения мольных концентраций ДСДАХ и ЦТАБ к концентрации фосфатных групп ДНК в 40%-ном водном растворе 2-пропанола (кривые 1 и 2 соответственно). Видно, что увеличение отношения [ДСДАХ] : [ДНК] до 0.8–0.9 еще не приводит к изменению содержания ДНК в растворе. Однако при соотношениях [ДСДАХ] : [ДНК], близких к эквимольному, практически вся ДНК переходит в нерастворимый комплекс. В случае ЦТАБ практически вся ДНК остается в растворе вплоть до соотношения [ЦТАБ] : [ДНК] = 6. При дальнейшем увеличении концентрации ЦТАБ наблюдается примерно линейное уменьшение со-

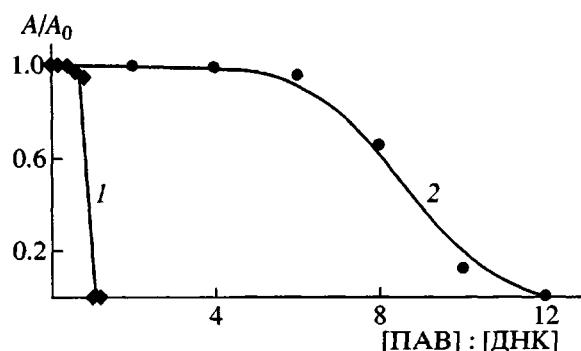


Рис. 2. Зависимости оптической плотности ДНК в надосадочной жидкости в области поглощения ДНК ($\lambda = 260$ нм) после отделения нерастворимых комплексов от отношения [ДСДАХ] : [ДНК] (1) и [ЦТАБ] : [ДНК] (2) в 40%-ном водном растворе 2-пропанола. [ДНК] = 1.5×10^{-4} моль/л.

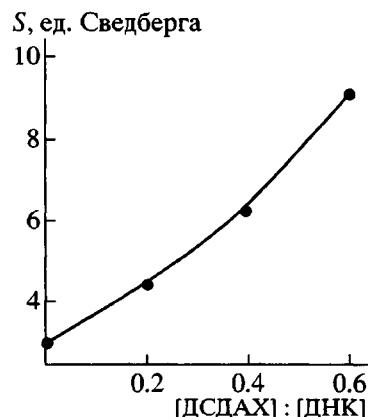


Рис. 3. Зависимость коэффициента седиментации продукта взаимодействия ДСДАХ с ДНК от количества добавленного ДСДАХ в 40%-ном водном растворе 2-пропанола. [ДНК] = 9×10^{-5} моль/л.

держания ДНК в надосадочной жидкости. Полное осаждение ДНК достигается лишь при соотношении [ЦТАБ] : [ДНК], близком к 10. Таким образом, несмотря на то, что в 40%-ном водном растворе 2-пропанола гидрофобное взаимодействие углеводородных радикалов ПАВ заметно ослаблено, различие кривых осаждения ДНК растворами ЦТАБ и ДСДАХ, полученных в водно-спиртовой среде, указывает на то, что лиофобно-лиофильный баланс углеводородных радикалов все же оказывает существенное влияние на связывание катионов ПАВ с полианионами ДНК.

Ключевое значение имеет вопрос о взаимодействии между ДНК и ПАВ в области мольных соотношений, при которых вся ДНК еще остается в растворе. В самом деле, ДНК может находиться в растворе либо в составе растворимого комплекса с ПАВ, либо в свободном состоянии, если ее связывание с амфильтальными катионами происходит лишь в области осаждения после достижения определенной пороговой концентрации ПАВ (по типу противоионной конденсации). Для ответа на этот вопрос мы использовали метод скоростной седиментации. На седиментограммах комплексов ДНК-ДСДАХ при всех соотношениях ДСДАХ : ДНК в интервале 0.2–0.8 наблюдалась только одна ступенька, соответствующая единственному типу частиц. Этим наблюдаемая картина резко отличается от комплексообразования между полизелектролитами и ПАВ в воде, где при заселении полиионов ионами ПАВ происходит диспропорционирование, т.е. частицы ПКК постоянного состава, включающие мицеллярную

фазу, сосуществуют с еще не заселенными полиионами. Соответственно на седиментограммах проявляются две фазы [5, 6]. На рис. 3 представлена зависимость коэффициентов седиментации S смесей ДНК-ДСДАХ в 40%-ном водном растворе 2-пропанола от соотношения ДСДАХ : ДНК ([ДНК] = 9×10^{-5} моль/л). Видно, что с увеличением концентрации ДСДАХ происходит линейное возрастание S . Полученные значения заметно превышают величину S для исходной ДНК в том же растворителе. Таким образом, данные скоростной седиментации показывают, что в исследованном интервале соотношений ДСДАХ и ДНК образуются растворимые комплексы переменного состава.

Вторичную структуру ДНК в растворимых комплексах изучали методом спектроскопии кругового дихроизма. На рис. 4 приведены спектры кругового дихроизма комплексов ДНК-ДСДАХ, полученных при соотношениях ДСДАХ : ДНК = 0.2 (кривая 1) и 0.4 (кривая 2) в 40%-ном водном растворе 2-пропанола, в сравнении со спектром кругового дихроизма свободной ДНК в воде (штриховая линия). Спектр исходной ДНК характерен для *B*-формы двойной спирали. В нем проявляются интенсивная длинноволновая полоса с максимумом около 270 нм и интенсивная коротковолновая полоса с минимумом при 245 нм. Точка инверсии ($\Delta\epsilon = 0$) лежит в области 250 нм. Спектры растворимых комплексов ДНК-ДСДАХ различного состава очень близки к спектру исходной ДНК: отношение интенсивностей отрицательной и положительной полос поглощения остается практически неизмен-

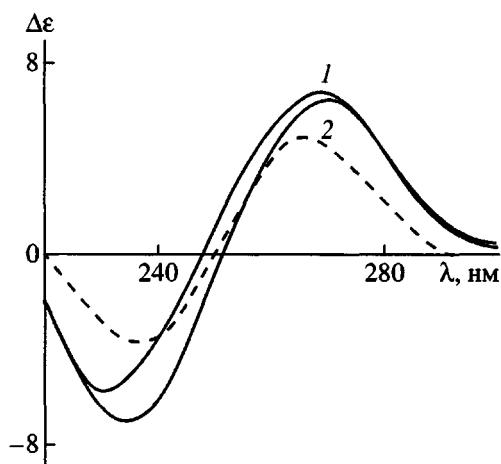


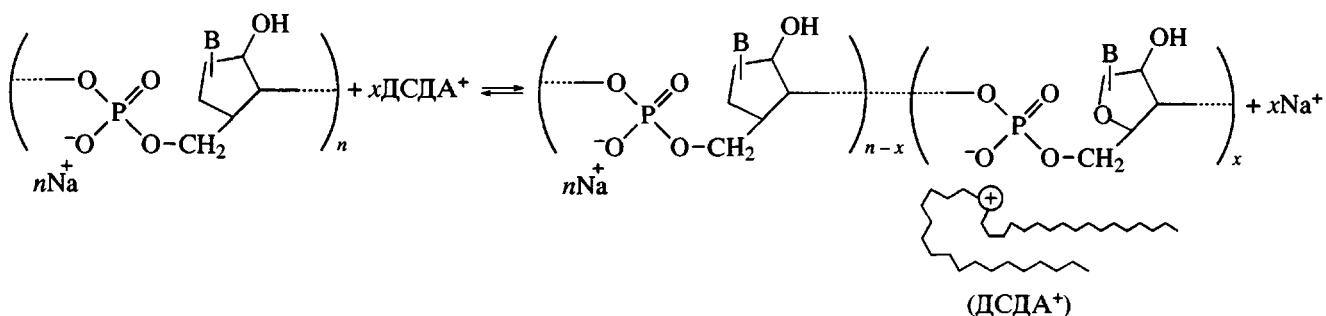
Рис. 4. Спектры кругового дихроизма комплексов ДНК–ДСДАХ в 40%-ном водном растворе 2-пропанола при соотношениях [ДСДАХ] : [ДНК] = 0.2 (1) и 0.4 (2) в сравнении со спектром нативной ДНК в водном растворе при pH 8 (штриховая линия). [ДНК] = 6×10^{-5} моль/л, $T = 20^\circ\text{C}$.

ным. Незначительные отличия в абсолютной интенсивности полос можно объяснить изменением диэлектрической проницаемости растворителя [20]. Таким образом, молекулы ДНК в комплексе ДНК–ПАВ в водно-спиртовой среде сохраняют *B*-форму двойной спирали, характерную для водных растворов ДНК, в отличие от комплексов ДНК–ПАВ, растворенных в малополярном органическом растворителе (хлороформе), в котором

двойная спираль, по всей видимости, переходит в сверхскрученную *C*- (или *A*-) форму.

Метод флуоресцентной микроскопии позволил в режиме реального времени визуально наблюдать влияние ПАВ на конформацию отдельных гигантских молекул ДНК. На рис. 5 представлены флуоресцентные изображения молекул T4 ДНК в 40%-ном водном растворе 2-пропанола при различном содержании ДСДАБ. Видно, что увеличение концентрации ДСДАБ приводит к постепенному уменьшению линейного размера молекулярных клубков. Зависимость усредненного максимального размера ($\langle L_{\max} \rangle$) молекул ДНК в 40%-ном водном растворе 2-пропанола от концентрации ДСДАБ представлена на рис. 6. В указанном интервале концентраций ПАВ клубки, уменьшаясь в размерах, продолжают участвовать в тепловом движении, и, следовательно, сохраняют растворимость. Однако в конечном счете, когда концентрация ПАВ становится достаточно высокой (10^{-4} моль/л), ДНК переходит из конформации клубка в компактную конформацию и тогда утрачивает растворимость: компактная частица ПКК прилипает к поверхности предметного или покровного стекла измерительной ячейки и становится неподвижной в поле флуоресцентного микроскопа.

Из совокупности приведенных данных следует, что состояние комплекса ДНК–ПАВ определяется равновесием



(DSDA^+ – катион ДСДАХ, простые анионы не показаны). Увеличение концентрации ПАВ приводит к смещению равновесия вправо и уменьшению эффективного заряда ДНК. Осаждение ПКК при высоких концентрациях ПАВ свидетельствует о том, что лиофильность частиц ПКК в водно-спиртовом растворе, т.е. их растворимость, обусловлена присутствием свободных заряженных звеньев ДНК подобно тому, как это имеет место в случае нестехиометрических водорастворимых ПКК и в отличие от

стехиометрических ПКК в неполярном органическом растворителе. Вместе с тем из данных седиментационного анализа следует, что в отличие от водных растворов ПКК в водно-спиртовом растворе связанные ионы ПАВ не образуют внутрикомплексных доменов коллоидной фазы. В водно-спиртовой среде, где отсутствует достаточно сильное гидрофобное взаимодействие, они равномерно заполняют молекулы ДНК, приводя к постепенному снижению линейной плотности отрицательных

зарядов и соответственно к уменьшению размера макромолекулярных клубков (рис. 6). Из самого факта растворимости натриевой соли ДНК и нерастворимости ее ЦГА- и ДСДА-солей следует, что последние значительно менее диссоциированы в водно-спиртовой среде, чем натриевая соль ДНК. Повышенная стабильность ионных пар, образуемых ДНК и катионами ПАВ, вероятно, обусловлена локальным понижением диэлектрической проницаемости среды в зоне расположения алкильных радикалов ПАВ. С этим предположением согласуется тот факт, что осаждение ДНК при добавлении ДСДАХ происходит при существенно меньшем соотношении ПАВ : ДНК, чем при добавлении ЦГАБ (рис. 2).

Состав нерастворимых комплексов ДНК-ПАВ, полученных смешением компонентов в воде и водно-спиртовом растворе, был определен методом элементного анализа. Для комплекса, осажденного из воды, получено N 6.42; C 63.37; H 11.03; P 3.03 %. Из отношения Р к С вычислено $[ДСДА^+] : [ДНК] = 1.15$, что близко к стехиометрическому составу и хорошо согласуется с литературными данными [4, 10–14]. Для комплекса, осажденного из водно-спиртового раствора, получено N 6.46; C 63.89; H 10.90; P 5.20 %. Из отношения Р к С вычислено $[ДСДА^+] : [ДНК] = 0.6$. Это означает, что в отличие от комплекса, осажденного из воды, здесь около 40% фосфатных групп ДНК нейтрализовано противоионами натрия.

В водном растворе взаимодействие ДНК с противоположно заряженными ПАВ носит кооперативный характер, так что полионы ДНК неравномерно заселяются противоионами ПАВ по принципу “все или ничего”. В результате диспропорционирования сразу образуется мицеллярная фаза стехиометрического ПКК, которая, переходя в осадок, сосуществует с оставшейся в растворе свободной ДНК. При достижении стехиометрического отношения ПАВ : ДНК вся ДНК переходит в состав нерастворимого ПКК. Осаждение комплексов ДНК-ПАВ в водно-спиртовой среде происходит по иному механизму. В этом случае полионы ДНК равномерно заселяются противоионами ПАВ и по мере добавления ПАВ постепенно замещают противоионы натрия, уменьшая тем самым локальную диэлектрическую постоянную среды вблизи полианионов. Последнее, как известно, способствует конденсации противоионов, в том числе Na^+ , на полионах ДНК и сниже-

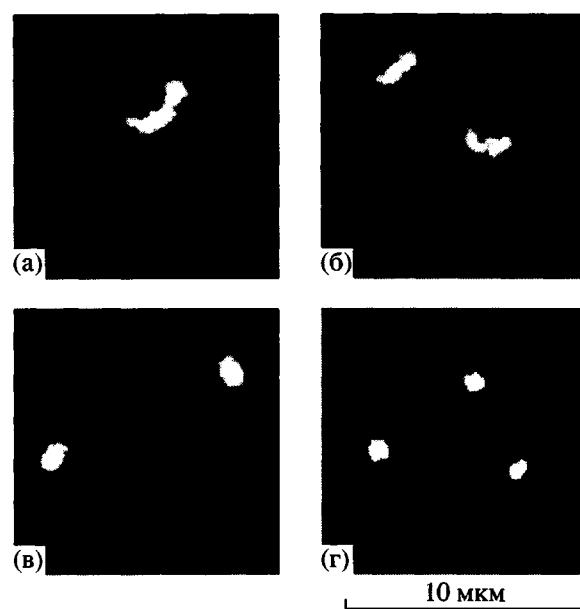


Рис. 5. Изображения ДНК (а), и комплексов ДНК-ДСДАБ при различных концентрациях ПАВ в 40%-ном водном растворе 2-пропанола. $[ДСДАБ] \times 10^5 = 0.5$ (б), 2.0 (в) и 5.0 моль/л (г).

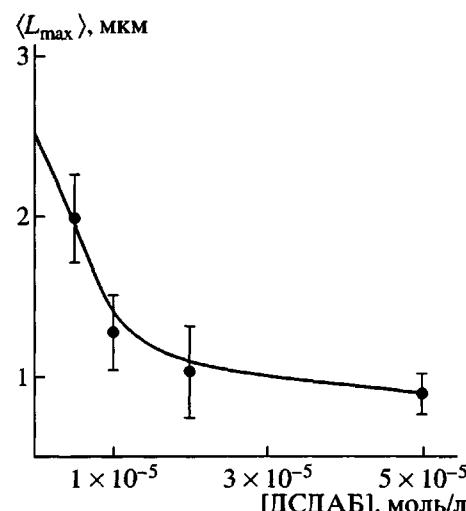


Рис. 6. Зависимость усредненного размера молекул ДНК от концентрации ДСДАБ в 40%-ном водном растворе 2-пропанола.

нию их лиофильности [19, 21]. В результате при достижении некоторого критического отношения ДНК : ПАВ образуется нерастворимый ПКК, в состав которого наряду с амфи菲尔ными катионами вовлекаются и противоионы Na^+ , нейтрализующие фосфатные группы ДНК, еще не заселенные катионами ПАВ.

Нерастворимые комплексы ДНК-ДСДАХ были исследованы методом ДСК. Термограммы ком-

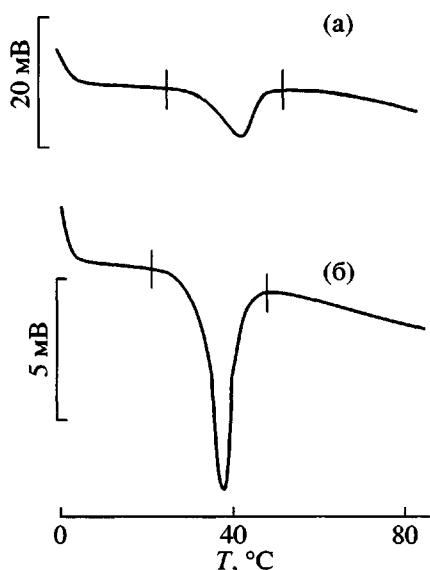


Рис. 7. Термограммы комплексов ДНК-ДСДАХ, полученных в 40%-ном водном растворе 2-пропанола (а) и в воде (б). Скорость сканирования 10 град/мин.

плексов ДНК-ДСДАХ, осажденных из воды и 40%-ного водного раствора 2-пропанола, представлены на рис. 7. На обеих термограммах присутствует эндотермический пик вблизи 40°C, который наблюдается также на термограммах везикул ДСДАХ в водной среде [22]. Следовательно, можно предположить, что молекулы ДСДАХ в комплексах образуют ламели, структура которых сходна со структурой везикулярного бислоя ДСДАХ.

Более детальное представление о структуре нерастворимых комплексов было получено методом рентгеновского анализа в больших и малых углах. Результаты представлены в таблице. Видно, что рефлексы комплексов ДНК-ДСДАХ, полученных в воде и в 40%-ном водном растворе 2-пропанола, практически неразличимы и соответствуют одинаковым межплоскостным расстояниям d . Рентгенограммы комплексов ДНК-ДСДАХ в больших углах характеризуются очень интенсивным ре-

флексом, отвечающим межплоскостному расстоянию 4.15 Å, что указывает на гексагональную упаковку алифатических радикалов ПАВ. В малых углах для комплексов ДНК-ДСДАХ наблюдается два значительно отличающихся по интенсивностям рефлексы. Основной интенсивный рефлекс соответствует межплоскостному расстоянию 38 Å. Менее интенсивный рефлекс соответствует примерно половине основного межплоскостного расстояния. Последнее позволяет отнести этот рефлекс к дифракции второго порядка на тех же плоскостях. Такая картина действительно характерна для ламеллярной структуры, в которой молекулы ДНК располагаются между плоскостями ламелей, образованных катионами ПАВ [23–26]. На рентгенограмме одноосно ориентированной пленки комплекса наблюдается текстура с двумя экваториальными рефлексами большой и малой интенсивности с $d = 38$ и 19 Å соответственно. Наряду с экваториальными наблюдается также меридиональный рефлекс с $d = 4.15$ Å. Последнее указывает на то, что алкильные радикалы ПАВ в ламелях ориентированы перпендикулярно оси ориентации молекул ДНК.

Таким образом, из совокупности приведенных данных следует, что различные по составу комплексы ДНК-ДСДАХ, полученные в воде и водно-спиртовой среде, в конденсированной фазе имеют сходную ламеллярную структуру, которая определяется упаковкой молекул ПАВ. Интересно, что температура плавления ПКК, содержащего наряду с ламель-образующим катионным ПАВ около 40 мол.% противоионов Na^+ , оказывается не ниже, а даже несколько выше, чем температура плавления стехиометричного ПКК, содержащего только катионы ПАВ. Это означает, что фосфатные группы ДНК, нейтрализованные Na^+ , не нарушают упаковку алкильных радикалов в ламелях, а сегрегируются в собственные домены. Вероятно, такие домены, подобно активному наполнителю, только усиливают структуру ПКК, как это имеет место в хорошо известных синтетических ио-

Характеристики нерастворимых комплексов ДНК-ДСДА, полученных в 40%-ном водном растворе 2-пропанола и воде

ПКК	[ДСДА] : [ДНК]	$T_{\text{пл}}, ^\circ\text{C}$	$\Delta H_{\text{пл}}, \text{Дж/г}$	$d, \text{\AA}$		
Из 40%-ного раствора 2-пропанола	0.6	38.3	27.6	4.15 (о.с)	19 (сл)	38 (с)
Из воды	1.15	36.8	35.9	4.15 (о.с)	19 (сл)	38 (с)

Примечание. Интенсивность рентгеновских рефлексов: о.с – очень сильный, с – сильный, сл – слабый.

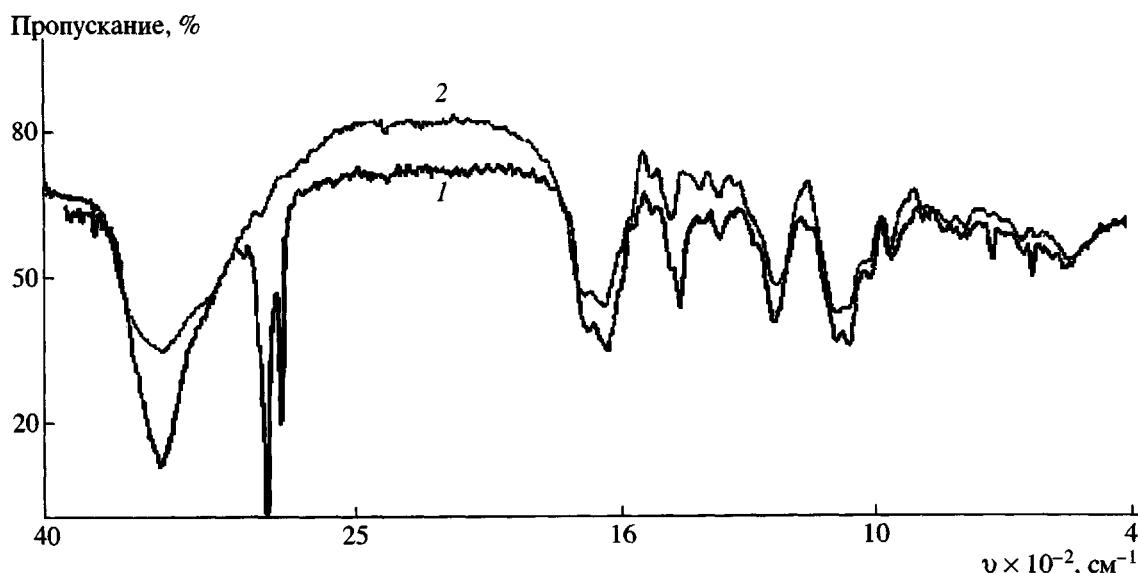


Рис. 8. ИК-спектры комплекса ДНК-ДСДАХ (1), полученного в 40%-ном водном растворе 2-пропанола, и исходной ДНК (2).

номерах. Что касается заметного различия в удельных энталпиях плавления $\Delta H_{\text{пл}}$ изученных комплексов (таблица), то оно естественным образом объясняется меньшей объемной долей противоионов ПАВ в ПКК, осажденном из водно-спиртового раствора.

Как уже было отмечено, молекулы ДНК в частицах ее комплекса с ПАВ, растворенных в водно-спиртовой среде, сохраняют конформацию двойной спирали. Существенно установить, сохраняется ли двойная спираль ДНК в нерастворимом ПКК, осаждающимся из этого раствора при увеличении содержания ПАВ. На рис. 8 представлены ИК-спектры комплекса ДНК-ДСДАХ (кривая 1), полученного в 40%-ном водном растворе 2-пропанола, и исходной ДНК (кривая 2). Видно, что в обоих спектрах присутствуют характеристические полосы ДНК: в том числе при 1250 и 1100 cm^{-1} , соответствующие валентным колебаниям фосфатной группы, и при 1650 и 1700 cm^{-1} – валентным колебаниям азотистых оснований. Кроме того, в ИК-спектре комплекса, синтезированного в водно-спиртовом растворе, присутствуют полосы поглощения в области 2830 и 2910 cm^{-1} , характерные для валентных колебаний СН углеводородных радикалов ДСДАХ. О вторичной структуре ДНК можно судить по характеристическим полосам в области 1700 – 1720 cm^{-1} , относящихся к колебаниям водородных связей между азотистыми основаниями. Известно, что при разрушении двойной спирали

эти полосы сдвигаются в коротковолновую область на 20 – 30 cm^{-1} [27]. Отсутствие таких изменений в нашем случае (ср. кривые 1 и 2) свидетельствует о сохранении двухспиральной структуры ДНК также и в нерастворимом комплексе, который образуется при ее взаимодействии с ДСДАХ в водно-спиртовом растворе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Goddard E.D. // Colloids Surf. 1986. V. 19. № 3. P. 301.
2. Kasaikin V.A., Wasserman A.M., Zakharova J.A., Motyakin M.V., Kolbanovsky A.D. // Colloids and Surfaces. A. 1999. V. 147. P. 169.
3. Dubin P.L., Stephens S.T., Leong M.G., Chew C.H. // Macromolecules. 1990. V. 23. № 9. P. 2500.
4. Ибрагимова З.Х., Касаикин В.А., Зезин А.Б., Кабанов В.А. // Высокомолек. соед. А. 1986. Т. 28. № 8. С. 1640.
5. Касаикин В.А., Ефремов В.А., Захарова Ю.А., Зезин А.Б., Кабанов В.А. // Докл. РАН. 1997. Т. 354. № 4. С. 498.
6. Касаикин В.А., Литманович Е.А., Зезин А.Б., Кабанов В.А. // Докл. РАН. 1999. Т. 367. № 3. С. 359.
7. Бакеев К.Н., Чугунов С.А., Ларина Т.А., Макнайт В.Дж., Зезин А.Б., Кабанов В.А. // Докл. РАН. 1994. Т. 334. № 3. С. 323.

8. *Bakev K.N., Yang Ming Shu, Macnight W.J., Zezin A.B., Kabanov V.A. // Macromolecules.* 1994. V. 27. № 14. P. 300.
9. *Бакеев К.Н., Ян Мин Шу, Зезин А.Б., Кабанов В.А. // Докл. РАН.* 1993. Т. 332. № 4. С. 450.
10. *Пышкина О.А., Сергеев В.Г., Зезин А.Б., Кабанов В.А. // Докл. РАН.* 1996. Т. 348. № 4. С. 496.
11. *Пышкина О.А., Сергеев В.Г., Лезов А.В., Мельников А.Б., Рюмцев Е.И., Зезин А.Б., Кабанов В.А. // Докл. РАН.* 1996. Т. 349. № 6. С. 772.
12. *Сергеев В.Г., Пышкина О.А., Зезин А.Б., Кабанов В.А. // Высокомолек. соед. А.* 1997. Т. 39. № 1. С. 17.
13. *Sergeev V.G., Pyshkina O.A., Gallyamov M.O., Yaminsky I.V., Zezin A.B., Kabanov V.A. // Progr. Colloid Polym. Sci.* 1997. V. 106. P. 198.
14. *Sergeev V.G., Pyshkina O.A., Lezov A.V., Mel'nikov A.B., Ryumtsev E.I., Zezin A.B., Kabanov V.A. // Langmuir.* 1999. V. 15. № 13. P. 4434.
15. *Tang M.X., Szoka F.C. // Self-Assembling Complexes for Gene Delivery. From Laboratory to Clinical Trial / Ed. by Kabanov A.V., Felgner P., Seymour L.W. Chichester: Wiley, 1988.* P. 169.
16. *Zana R. // Advances in Colloid and Interface Sci.* 1995. V. 57. P. 1.
17. *Mel'nikov S.M., Sergeyev V.G., Yoshikawa K. // J. Am. Chem. Soc.* 1995. V. 117. № 9. P. 2401.
18. *Mel'nikov S.M., Sergeyev V.G., Yoshikawa K. // J. Am. Chem. Soc.* 1995. V. 117. № 40. P. 9951.
19. *Ueda M., Yoshikawa K. // Phys. Rev. Lett.* 1996. V. 77. P. 2133.
20. *Ivanov V.I., Minchenkova L.E., Schyolkina A.K., Poteataev A.I. // Biopolymers.* 1973. V. 12. P. 89.
21. *Sergeev V.G., Mikhailenko S.V., Pyshkina O.A., Yaminsky I.V., Yoshikawa K. // J. Am. Chem. Soc.* 1999. V. 121. № 9. P. 1780.
22. *Nascimento D.B., Rapuano R., Lessa M.M., Carmona-Ribeiro A.M. // Langmuir.* 1998. V. 14. № 26. P. 7387.
23. *Radler J.O., Koltover I., Saldutt T., Safinya C.R. // Science.* 1997. V. 275. P. 810.
24. *Mel'nikov S.M., Sergeyev V.G., Yoshikawa K., Takahashi H., Hatta I. // J. Chem. Phys.* 1997. V. 107. № 17. P. 6917.
25. *Spector M.S., Schnur J.M. // Science.* 1997. V. 275. P. 791.
26. *Lasic D.D., Strey H., Stuart M.C.A., Podgornik R., Frederik P.M. // J. Am. Chem. Soc.* 1997. V. 119. № 4. P. 832.
27. *Физические методы изучения белков и нуклеиновых кислот / Под ред. Лазуркина Ю.С. М.: Наука, 1967.*

Mechanism of Interaction of DNA with Surfactants in Water-Alcohol Media and Structure of Related Complexes

**V. G. Sergeev, O. A. Pyshkina, A. A. Zinchenko, S. B. Zezin,
A. B. Zezin, and V. A. Kabanov**

*Faculty of Chemistry, Moscow State University,
Leninskie gory, Moscow, 119992 Russia*

Abstract—It was shown that the interaction of DNA with cationic surfactants, cetyltrimethylammonium bromide and distearyldimethylammonium chloride in water–2-propanol solutions yields complexes of variable composition depending on the molar ratio of components. When a surfactant is in deficiency, these complexes remain soluble in water up to a certain critical concentration of the surfactant specified by its nature. Upon complexation in water–alcohol solutions, DNA molecules preserve the *B*-form of double helical conformation, which is characteristic of the aqueous solutions of DNA. In the condensed phase, DNA complexes with distearyldimethylammonium chloride prepared in water or water–alcohol solutions exhibit a similar lamellar structure. Lamellas are formed by surfactant cations neutralizing the phosphate groups of DNA. Given this, DNA polyanions that are located in layers between lamellas retain the double helical conformation.