

МЕТОД СЕЛЕКТИВНОЙ ФРАГМЕНТАЦИИ НАИБОЛЕЕ ДЛИННЫХ МОЛЕКУЛ В ОБРАЗЦЕ ДНК

Егорова В. П., Ландо Д. Ю.

Институт биоорганической химии НАНБ, Минск, Беларусь

Концентрированные растворы высокополимерной ДНК из органов млекопитающих ($C \sim 1 \text{ mg/ml}$, мол. вес $> 30 \text{ МДа}$) обладают очень высокой вязкостью. Это препятствует получению высококачественных пленок ДНК для проведения реологических, рентгеноструктурных, ЯМР и других исследований. Высокая вязкость также вызывает ухудшение разрешения на дифференциальной кривой плавления ДНК, когда для регистрации используется метод дифференциальной сканирующей микрокалориметрии.

Для количественного определения вязкости концентрированных растворов ДНК использовался вискозиметр Оствальда с достаточно широким капилляром ($\sim 1 \text{ mm}$ в диаметре). Каждый образец ДНК характеризовался зависимостью приведенной вязкости (η_{adj}) от концентрации ДНК (C , mg/ml) в интервале $0.2\text{-}1.0 \text{ mg/ml}$:

$$\eta_{adj}(C) = [t(C) - t_0]/(t_0 \cdot C)$$

где t , t_0 - время истечения из вискозиметра раствора ДНК и буфера соответственно.

Зависимости $\eta_{adj}(C)$ для всех исследованных образцов ДНК почти линейны. Их наклон растет с увеличением общей вязкости образца. Они не пересекают друг друга в интервале $0 < C < 1 \text{ mg/ml}$, если только не расположены очень близко друг от друга. Показано, что вязкость раствора определяется не только размерами молекул ДНК, но и содержанием белковых примесей.

Разработан метод мягкой фрагментации и определено минимальное время, необходимое для исчезновения в агарозных гелях небольшой фракции молекул ДНК с очень высоким молекулярным весом. После такой фрагментации резко падает вязкость раствора, улучшается качество пленок ДНК и разрешение на дифференциальной кривой плавления. Вместе с тем изменение среднего молекулярного веса невелико, т.е. повреждение ДНК минимально.

Работа поддерживалась БРФФИ (Х99Р-099) и МНТЦ (А-301).