

Математическое моделирование дифференциальных кривых плавления ДНК, модифицированных противоопухолевым препаратом цисплатин и его неактивным аналогом трансплатином
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Противоопухолевый препарат цисплатин и его неактивный аналог трансплатин образуют ковалентные связи с ДНК, что изменяет стабильность ее двойной спирали. Нами было найдено, что и промежуточные и конечные продукты, образуемые цисплатином, дестабилизируют двойную спираль. В то же время, промежуточные монофункциональные продукты трансплатина дестабилизируют двойную спираль, тогда как конечные бифункциональные продукты ее стабилизируют. Это особенно четко проявлялось при проведении экспериментов по плавлению в щелочной среде. Однако в нейтральной среде дестабилизация, вызванная цисплатином, не превышала ($-4,3^{\circ}\text{C}$). Для трансплатина наблюдалось воспроизводимое значение дестабилизации в ($-0.7 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$) и примерно такая же стабилизация в ($+0.6 \pm 0.25^{\circ}\text{C}$). Такое смещение температуры незначительно и близко к погрешности в калориметрических экспериментах. Поэтому можно не зафиксировать особенностей в воздействии соединений платины на стабильность ДНК, что затрудняет понимание механизма противоопухолевого действия.

Цель – точное измерение воздействия на стабильность ДНК промежуточных и конечных продуктов химической модификации противоопухолевым препаратом цисплатин и его неактивным аналогом трансплатином при помощи техники отрицательных вторых производных, применяемой к кривым плавления, полученных методом дифференциальной сканирующей калориметрии.

Материалы и методы. Инкубацию ДНК с цисплатином и трансплатином проводили в темноте в течение 0 (контроль), 0,5, 3 и 48 часов при 37°C , молярном отношении Pt/нуклеотид $r_b=0.05$, $[\text{Na}^+]=110$ мМ, рН 7. Дифференциальные кривые плавления записывали с помощью дифференциального сканирующего микрокалориметра ДАСМ 4 (Био-прибор, Россия) с объёмом ячейки 0,5 мл. Дифференциальные кривые плавления моделировали методом отрицательных вторых производных.

Результаты. На дифференциальной кривой плавления ДНК тимуса телят хорошо заметны четыре узких пика, расположенных на фоне основного широкого пика. Узкие пики соответствуют плавлению сателлитных участков ДНК, имеющих квазипериодическую структуру и

составляющих до 20% генома. Применение метода отрицательных вторых производных позволило нам значительно улучшить разрешение сателлитных пиков и использовать их для оценки изменения стабильности ДНК. Однако в ходе платинирования узкие пики сателлитной ДНК постепенно исчезают. Но первый минимум на кривой вторых отрицательных производных, остается хорошо выраженным не только для исходной ДНК, но и сохраняется для цисплатина, а также для трансплатина после 0.5 и 3 часовой инкубации с ДНК. Величина смещения этого минимума в целом совпадает с изменением температуры плавления и измеряется с высокой точностью ($\sim 0.1^\circ\text{C}$). Однако после 48 часов инкубации с трансплатином и данный пик сильно искажается. Поэтому мы использовали другую характерную точку - первое пересечение кривых с нулевой осью. Это позволило четко зафиксировать стабилизацию, вызванную трансплатином.

Выводы. 1. Математическое моделирование методом отрицательных вторых производных дифференциальных кривых плавления ДНК, модифицированных соединениями платины, позволяет фиксировать изменения стабильности двойной спирали с высокой точностью. 2. Увеличение стабильности двойной спирали при связывании трансплатина связано не столько с увеличением количества межцепочечных сшивок, необходимо учитывать структурные изменения как спиральной, так и расплавленной форм ДНК. Внутрицепочечная сшивка трансплатина охватывает более длинный участок цепи ДНК по сравнению с цисплатином, и поэтому может вызвать более сильные ограничения в подвижности участка расплавленной ДНК. Это дополнительно уменьшает энтропию расплавленного состояния и энтальпию перехода спираль-клубок. Поскольку температура плавления равна отношению энтальпии и энтропии перехода спираль-клубок, дополнительное уменьшение энтропии увеличивает температуру плавления.