

И. Б. ЗБАРСКИЙ, И. Е. ЭЛЬПИНЕР и В. Н. ХАРЛАМОВА

## ДЕПОЛИМЕРИЗАЦИЯ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНАТА НАТРИЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН

*(Представлено академиком А. И. Опариным 21 I 1951)*

Вопрос о возможности распада высокополимерных частиц под влиянием ультразвуковых волн широко обсуждается в литературе (1, 2). О деполимеризации обычно судят на основании уменьшения вязкости озвучиваемых растворов. Уменьшение вязкости было установлено при озвучивании растворов желатины, гумми-арабика, стеарата натрия, метилцеллюлозы и некоторых других веществ. Однако в ряде случаев оно носило временный и обратимый характер (3).

Более стойкое снижение вязкости наблюдалось при воздействии ультразвуковых волн на растворы полистирола, полиакриловой кислоты и других подобных полимеров (4). В указанных случаях необратимое снижение вязкости обнаруживалось при озвучивании соответствующих растворов в течение нескольких часов. Разрыв белковых мицелл также наступает лишь при весьма продолжительном озвучивании. Только при длительном воздействии ультразвуковых волн выявляется и расщепление низкомолекулярных структур (циклические аминокислоты), описанное в предыдущей нашей работе (5).

В настоящей работе показано, что снижение вязкости растворов дезоксирибонуклеината натрия под действием ультразвуковых волн наступает значительно быстрее. Так как нуклеиновые кислоты играют огромную роль в жизнедеятельности клеток и тканей, то их высокая чувствительность к ультразвуковым колебаниям может служить одной из причин того факта, что гибель живых клеток под действием ультразвука наблюдается значительно раньше, чем обнаруживаются химические изменения в белках.

Высокополимерную дезоксирибонуклеиновую кислоту мы получали в виде натриевой соли из вилочковой железы телят (6). Реакции на белок (биуретовая, миллонова и нингидриновая) были отрицательны.

Озвучиванию подвергали 0,20% растворы дезоксирибонуклеината (ДНК) в воде и в 0,05 M растворе NaCl, меняя интенсивность ультразвука и продолжительность воздействия. Температура трансформаторного масла, в которое погружалась колба с раствором ДНК, поддерживалась непрерывным охлаждением в течение опыта на уровне 24—25°. Частота колебаний ультразвука составляла 600 000 гц. Уже во время озвучивания раствора наблюдалось довольно резкое снижение вязкости, о котором можно было судить по постепенному увеличению «ультразвукового» фонтана и появлению при определенной экспозиции густого белого тумана над поверхностью раствора.

Измерение вязкости озвученных растворов ДНК выявило ряд закономерностей. На рис. 1 графически представлены результаты определе-

ний относительной вязкости растворов ДНК в вискозиметре Оствальда при атмосферном давлении и температуре тающего льда. Как видно из кривых, снижение относительной вязкости обнаруживается уже при озвучивании раствора в течение 1 мин. При дальнейшем воздействии ультразвуковых волн относительная вязкость раствора ДНК продолжает непрерывно снижаться. После 25—30 мин. озвучивания вязкость уменьшается до 2—3 единиц и ниже (начальная относительная вязкость — около 55). При более длительном озвучивании относительная вязкость почти не меняется и остается в тех же пределах.

Быстрое и резкое снижение вязкости растворов ДНК мы наблюдали не только при больших мощностях ультразвуковых волн (7 Вт/см<sup>2</sup>), но и при значительно меньших интенсивностях (около 2 Вт/см<sup>2</sup>).

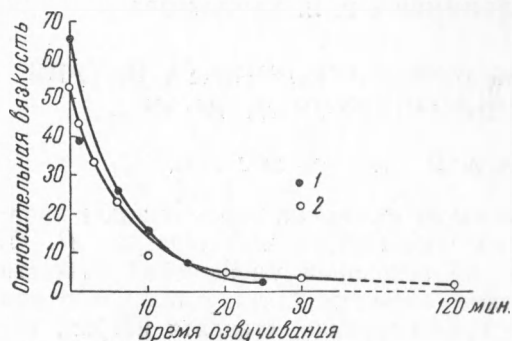


Рис. 1. Снижение относительной вязкости 0,2% раствора дезоксирибонуклеината натрия в зависимости от продолжительности озвучивания. Мощность ультразвука: 1 — 7 Вт/см<sup>2</sup>, 2 — 2 Вт/см<sup>2</sup>

Снижение относительной вязкости растворов ДНК как в воде, так и в 0,05 М хлористом натрии, наступающее под влиянием ультразвуковых волн, носит стойкий характер. Вязкость не повышается и не возвращается к прежним значениям даже после длительного стояния озвученного раствора (24—48 час.). Иными словами, снижение относительной вязкости озвученных растворов ДНК не вызвано явлением тиксотропии. Следует считать, что оно обусловлено процессом деполимеризации высокополимерного полинуклеотида.

Растворы ДНК, подвергнутые кратковременному озвучиванию, обнаруживали явное отклонение от закона Пуазейля, т. е. наличие структурной вязкости. Снижение относительной вязкости при увеличении давления выражено, однако, меньше в озвученных, чем в неозвученных растворах, а по мере увеличения продолжительности озвучивания оно становится еще менее резким, доходя до весьма незначительных размеров при больших экспозициях ультразвука (см. табл. 1).

Это означает, что процесс деполимеризации полинуклеотида при длительном озвучивании (60 мин.) доходит до распада на такие молекулы, которые почти не способны к образованию так называемой струк-

Таблица 1

Структурная вязкость 0,2% раствора ДНК натрия в зависимости от экспозиции ультразвуковых волн

Продолжит. озвучивания, в мин.	Относит. вязкость при давлении вод. столба				$\eta_0/\eta_1$	$\eta_1/\eta_2$	$\eta_2/\eta_3$
	$(\eta_0)$	100 мм ( $\eta_1$ )	200 мм ( $\eta_2$ )	300 мм ( $\eta_3$ )			
6	26,05	10,83	6,33	4,44	2,40	1,71	1,43
15	7,09	5,29	4,33	3,22	1,34	1,22	1,34
25	2,86	2,58	2,50	2,22	1,11	1,03	1,12
60	—	1,51	1,33	1,33	—	1,13	1,00

турной сетки. Структурообразование в этих случаях отсутствует и изучаемая система обладает нормальной вязкостью, почти не отличимой от вязкости воды.

Из табл. 2 видно, что ультразвукаческие колебания вызывают одновременно деполимеризацию ДНК и окисление ионов иода, находящихся в озвучиваемом растворе. Иными словами, ДНК настолько чувствителен к ультразвуку, что его деполимеризация происходит и при наличии в растворе другого «потребителя» ультразвуковой энергии. Более того,

Таблица 2

Одновременное снижение относительной вязкости ДНК и окисление ионов иода в одном растворе под действием ультразвуковых волн (0,2% ДНК натрия в 1 М растворе КJ)

Продолжит. озвучивания в мин.	Относит. вязкость раствора $\eta$	Выделилось свободного иода в % от общего колич. иода	Выделилось свободного иода в % от общ. колич. иода в контрольном 1 М растворе КJ, не содержащем ДНК
2	17,5	Следы	0,061
4	4,77	0,12	0,12
8	2,21	0,24	0,18
15	1,94	0,24	0,24
25	1,31	0,36	0,30

есть основание предполагать, что деполимеризация, как и явление окисления (7), обусловлена появлением в озвучиваемом растворе свободных гидроксильных радикалов. Кстати укажем, что деполимеризация полинуклеотидов имеет место и при освобождении гидроксильных радикалов химическим путем (8).

Естественно возникает вопрос, не происходит ли под влиянием ультразвуковых волн более глубокий распад ДНК.

После продолжительного озвучивания растворов ДНК не отмечалось сдвига кенцентрации водородных ионов; рН как до, так и после озвучивания был равен 6,4—6,6. Качественные пробы на присутствие свободных моносахаридов, фосфорной кислоты и пуриновых или пиримидиновых оснований (последнее методом распределительной хроматографии на бумаге) в 0,2% растворах ДНК, озвученных в течение 4 и 8 час. при большой мощности (7 вт/см<sup>2</sup>), дали отрицательные результаты. Обнаруживалась лишь очень слабая реакция на аммиак при озвучивании в течение 8 час. Таким образом, вопрос о том, на какие продукты распадается высокополимерный дезоксирибонуклеотид под действием ультразвука, остается неясным и явится предметом наших дальнейших исследований.

Лаборатория биохимии рака  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
20 I 1951

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> И. Е. Эльпинер, Усп. совр. биол., 25, 161 (1948). <sup>2</sup> И. Е. Эльпинер, там же, 30, 113 (1950). <sup>3</sup> H. Freundlich and D. Gillings, Trans. Farad. Soc., 205, 649 (1938). <sup>4</sup> G. Schmid u. O. Rommel, Zs. f. phys. Chem., 185, 97 (1939). <sup>5</sup> И. Е. Эльпинер, И. Б. Збарский и В. Н. Харламова, ДАН, 73, 1255 (1950). <sup>6</sup> J. M. Gulland, D. O. Jordan and C. J. Threlfall, Journ. Chem. Soc., 1129 (1947). <sup>7</sup> И. Е. Эльпинер и М. Ф. Колесникова, ДАН, 75, № 6 (1950). <sup>8</sup> J. Butler and K. Smith, Nature, 165, 847 (1950).