

160 с. [Blyumenfeld L.A. *Solvable and unsolvable problems of biological physics*. Editorial URSS, 2002. (In Russ.)]

5. Чернавский Д.С. Проблема происхождения жизни и мышления с точки зрения современной физики. *Успехи физ. наук*, 2000, т. 170, № 2, с. 157. [Chernavskii D.S. The origin of life and thinking from the viewpoint of modern physics. *Phys. Usp.*, 2000, vol. 170, no. 2, p. 157 (In Russ.)]

6. Уэй Т. *Физические основы молекулярной биологии. Пер. с англ.* Долгопрудный: Издат. дом "Интеллект", 2010, 368 с. [Waigh T. *Physical foundations of molecular biology. Tr. from Eng. Dolgoprudnyj*, "Intellekt", 2010, 368 p. (In Russ.)]

7. Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. *Физика белка: Курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами. 3е изд., испр. и доп.* М.: КДУ, 2005, 456 с. [Finkelshtein A.V., Ptitsyn O. B. *Protein Physics: A Course of Lectures*. М.:KDU, 2005, 456 p. (In Russ.)]

8. Blumenfeld L.A. and Tikhonov A.N. Biophysical Thermodynamics of Intracellular Processes. Molecular Machines of the Living Cell. *Springer-Verlag*, New-York, 1994.

9. Батяновский А.В., Волотовский И.Д., Намиот В.А., Филатов И.В., Галкин И.А., Гнучев Н.В., Туманян В.Г., Есипова Н.Г. *Биофизика*. 2015, т. 60, № 3, 437 с. [9. Batyanovskii A.V., Volotovskii I.D., Namiot V.A., Filatov I.V., Galkin I.A., Gnuchev N.V., Tumanyan V.G., Esipova N.G. *Biofizika*. 2015, vol. 60, no. 3, 437 p. (In Russ.)]

10. Батяновский А.В., Намиот В.А., Филатов И.В., Молдавер М.В., Анашкина А.А., Туманян В.Г., Есипова Н.Г., Волотовский И.Д. *Биофизика*. 2013, т. 58, № 6, 1069 с. [Batyanovskii A.V., Namiot V.A., Filatov I.V., Moldaver M.V., Anashkina A.A., Tumanyan V.G., Esipova N.G., Volotovskii I.D. *Biofizika*. 2013, vol. 58, no. 6, 1069 p. (In Russ.)]

11. Намиот В.А., Батяновский А.В., Филатов И.В., Туманян В.Г., Есипова Н.Г. *Биофизика*. 2016, т. 61, № 1, 54 с. [Namiot V.A., Batyanovskii A.V., Filatov I.V., Tumanyan V.G., Esipova N.G. *Biofizika*. 2016, vol. 61, no. 1, 54 p. (In Russ.)]

12. Moutevelis E. and Woolfson D.A. Periodic Table of Coiled-Coil Protein Structures. *J. Mol. Biol.*, 2009, vol. 385, 726-732.

13. Testa O.D., Moutevelis E., and Woolfson D.N. CC+: a relational database of coiled-coil structures. *Nucleic Acids Res.* 2009, vol. 37, D315-D322.

14. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, vol. 28, pp. 235-242.

15. Levinthal C. *Proc. meeting held at Allerton House, Monticello, Illinois*. Eds DeBrunner J.T.P., Munck E., University of Illinois, 1969.

16. Финкельштейн А.В., Гарбузинский С.А. *Биофизика*. 2016, т. 61, № 1, 5 с. [Finkelstein A.V., Garbuzynsky S.O. *Biofizika*. 2016, vol. 61, no. 1, 5 p. (In Russ.)]

17. Шайтан К.В., Федик И.В. *Биофизика*. 2015, т. 60, № 3, 421 с. [Shaitan K.V., Fedik I.V. *Biofizika*. 2015, vol. 60, no. 3, 421 p. (In Russ.)]

18. Шайтан К.В., Ложников М.А., Кобельков Г.М. *Биофизика*. 2016, т. 61, № 4, 629 с. [Shaitan K.V., Lozhnikov M.A., Kobelkov G.M. *Biofizika*. 2016, vol. 61, no. 4, 629 p. (In Russ.)]

19. Ellis RJ, van der Vies SM Molecular chaperones. *Annu. Rev. Biochem.*, 1991, vol. 60, pp. 321-47.

## ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСА РИБОСОМНОГО БЕЛКА L1 БАКТЕРИИ *THERMOTOGA MARITIMA* СО СПЕЦИФИЧЕСКИМ ФРАГМЕНТОМ МРНК

Михайлина А.О.<sup>1</sup>, Балобанов В.А.<sup>1</sup>, Костарева О.С.<sup>1</sup>, Виноградова Д.С.<sup>2,3</sup>, Максимова Е.М.<sup>2</sup>, Тищенко С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук ул. Институтская, 4, г. Пуццоно, 142290, РФ

<sup>2</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт"

г. Гатчина, РФ

<sup>3</sup>Nanotemper Technologies Rus

Санкт-Петербург, РФ

e-mail: alisamikhaylina15@gmail.com

**Аннотация.** Рибосомный белок L1 является регулятором L11 оперона *Escherichia coli*. При недостатке рибосомной 23S РНК белок L1 связывается со специфическим участком своей мРНК и мешает ее трансляции. Регуляторные свойства белка L1 в других бактериях изучены слабо. В данной работе рассматривается сродство рибосомного белка L1 *Thermatoga maritima* к специфическому фрагменту своей мРНК. Анализ геномной последовательности *T. maritima* в районе L11 оперона показал, что потенциальный участок связывания белка L1 расположен, также как в *E. coli*, в лидерной последовательности мРНК белка L11 *T. maritima*. Ранее мы показали, что регуляторными свойствами целого белка L1 может обладать его домен I. Методом микроскопического термофореза мы определили кинетические константы взаимодействия белка L1 *T. maritima* (TmaL1) и его домена I (TmaL1d) с фрагментом матричной РНК *T. maritima*, содержащим участок связывания белка L1. Показано, что TmaL1 и TmaL1d специфически взаимодействуют с фрагментом мРНК *T. maritima*, что может свидетельствовать о консервативности регуляторных свойств как целого белка L1 так и его домена I в бактериях.

**Ключевые слова:** рибосомный белок L1, *Thermatoga maritima*, регуляция трансляции, РНК-белковые взаимодействия, микроскопический термофорез, динамическое рассеяние света.

## INVESTIGATION OF THE COMPLEX OF BACTERIAL RIBOSOMAL PROTEIN L1 FROM THERMOTOGA MARITIMA WITH SPECIFIC FRAGMENT MRNA

Mikhaylina A.O.<sup>1</sup>, Balobanov V.A.<sup>1</sup>, Kostareva O.S.<sup>1</sup>, Vinogradova D.S.<sup>2,3</sup>, Maximova E.M.<sup>2</sup>, Tishchenko S.V.<sup>1</sup>

Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences

Institutskaya st., 4, Pushchino, 142290, Russia

<sup>2</sup>Petersburg Nuclear Physics Institute. of B.P. Konstantinov National Research Center "Kurchatov Institute"  
Gatchina, Russia<sup>3</sup>Nanotemper Technologies Rus

Saint-Petersburg, Russia

e-mail: alisamikhaylina15@gmail.com

**Abstract.** The ribosomal protein L1 of the *Escherichia coli* is the regulator of its own L11 operon. The L1 protein binds to the specific site of its own mRNA and repress the translation if there is a deficiency of ribosomal 23S RNA. Regulatory properties of the L1 protein in other bacteria have been poorly studied. This paper examines the affinity of the ribosomal protein L1 from *Thermotoga maritima* to the specific fragment of mRNA. Analysis of the L11 operon sequences of *T. maritima* showed that the potential L1 protein binding site is located in the leader sequence of the mRNA of the L11 protein, as in *E. coli*. Previously, we have shown that the regulatory properties of the whole L1 protein can have its domain I. By the method of microscale thermophoresis we determined the kinetic constants of the interaction of the protein L1 *T. maritima* (TmaL1) and its domain I (TmaL1Id) with the fragment of the *T. maritima* mRNA. It is shown that TmaL1 and TmaL1Id specifically interact with the fragment of mRNA, that may suggest the conservative regulatory properties of both the whole L1 protein and its domain I in bacteria.

**Key words:** ribosomal protein L1, *Thermotoga maritima*, regulation of translation, RNA-protein interactions, micro scale thermophoresis, dynamical light scattering.

**Введение.** В бактериях гены рибосомных белков организованы в несколько транскрипционных единиц – оперонов, которые расположены в различных участках бактериальной хромосомы. Регуляция сбалансированного синтеза большинства рибосомных белков (р-белков) осуществляется по принципу обратной связи, когда один из белков, кодируемых данным опероном, является репрессором трансляции мРНК своего оперона, если синтезируется в избытке [1]. Открытая более 40 лет назад регуляция биосинтеза рибосомных белков по принципу обратной связи наиболее хорошо охарактеризована у *E. coli*. Так, детально изучена регуляция L11 оперона рибосомным белком L1 (включает гены рибосомных белков L11, L1, L10 и L12) [2-4].

L1 – консервативный двухдоменный рибосомный белок, являющийся составной частью L1-выступа большой рибосомной субчастицы. Он прочно и специфически связывается с 23S рРНК в районе спиралей 76, 77 и 78. Участки связывания белка L1 на мРНК и рРНК имеют общие детерминанты в первичной структуре и похожи по вторичной структуре, однако сродство белка к рРНК значительно выше, чем к мРНК [5], что обеспечивает ингибирование трансляции соответствующей мРНК при избыточной продукции белка L1. Участок связывания белка L1 на мРНК *E. coli* располагается в лидерной последовательности мРНК р-белка L11 (см. рис. 1).

К настоящему времени практически не исследованы регуляторные свойства р-белка L1 в других бактериях. Биоинформатический анализ показал, что положение участка, гомологичного месту связывания рибосомного белка L1 на регуляторной РНК, не строго консервативно. В некоторых группах бактерий (*Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Thermotoga* и *Tenericutes*) предполагаемый L1-связывающий участок располагается перед геном белка L11 (как в *E. coli*), а у других бактерий он расположен перед геном белка L1 (*Cyanobacteria*, *Actinobacteria* и *Chloroflexi*). Ранее было охарактеризовано лишь взаимодействие р-белка L1 из бактерии *Geobacillus kaustophilus* со специфическими фрагментами своей мРНК [2].

В *T. maritima* мы также определили два потенциальных участка связывания р-белка L1. В данной работе методом микроскопического термофореза исследовано сродство TmaL1 и его домена I к одному из участков, который, как в *E. coli*, включает лидерный участок мРНК белка L11. Ранее в наших работах [6, 7] было показано, что изолированный домен I белка L1 *Thermus thermophilus* может выполнять регуляторную функцию целого белка. Наши исследования показали, что TmaL1Id, также как и целый белок, способен связываться со специфическим участком мРНК *T. maritima*.

**Методы исследования.** Получение фрагмента мРНК *T. maritima*. Нуклеотидная последовательность мРНК L11 оперона *T. maritima*, содержащая потенциальный регуляторный участок была клонирована в вектор pUC18. Для ПЦР мы использовали перекрывающиеся олигонуклеотиды-праймеры (Евроген, Россия), один из которых содержал сайт для эндонуклеазы рестрикции HindIII и последовательность T7-промотора, а второй – сайт для эндонуклеазы рестрикции SmaI. Нуклеотидные последовательности полученных конструкций были проверены секвенированием.

Фрагмент мРНК был получен с лиnearизованной плазмиды транскрипцией *in vitro* с помощью T7 РНК полимеразы. Анализ и очистку РНК транскрипта проводили с помощью электрофореза в 10 % ПААГ в присутствии 8 М мочевины. Дальнейшую очистку РНК проводили с помощью элюции из геля и анионообменной хроматографии на смоле DEAE-Sephrose.

**Подготовка флуоресцентно меченого фрагмента мРНК *T. maritima*.** Фрагмент мРНК окисляли KIO<sub>4</sub>, после чего смешивали с флуоресцентным красителем Fluorescein-5-Thiosemicarbazide (FTSC) (Sigma-Aldrich) в соотношении 1:200 и инкубировали 12 часов при температуре 4°C. Для очистки препаратов от немеченых фрагментов мРНК

использовали анионообменную хроматографию на MonoQ GL. Флуоресцентный краситель располагается на 3'-конце мРНК.

*Определение  $K_d$  комплексов рибосомного белка L1 и его домена I со специфическим фрагментом мРНК методом микроскопического термофореза.* Метод микроскопического термофореза (англ. microscale thermophoresis, MST) основан на фиксации изменения флуоресценции молекул в микроскопических температурных градиентах, для создания которых используется лазер инфракрасного диапазона длины волны (ИК-лазер). Любое изменение термофоретических свойств, при добавлении молекулы-партнера, проявляется как изменение интенсивности флуоресценции (F). Результаты обрабатываются автоматически. Определяется нормированная флуоресценция ( $F_{\text{norm}}$ ), которая отражает изменение концентрации молекул:  $F_{\text{norm}} = F_{\text{hot}}/F_{\text{cold}}$ . Количественные параметры связывания молекул-партнеров получают путем серий разведений одной из молекул, строится график зависимости  $F_{\text{norm}}$  от логарифма концентраций. Константа диссоциации рассчитывается программным обеспечением (NT Analysis Software) согласно закону действующих масс [8].

Эксперименты проводились на приборе Monolith NT.115, NanoTemper. В качестве флуоресцирующей молекулы использовался фрагмент мРНК меченый флуоресцентным красителем FTSC (Sigma-Aldrich).

Для определения константы диссоциации методом микроскопического термофореза делали серию разведений, где концентрация меченой РНК была постоянной (50 нМ), а количество добавляемого белка варьировало от 6 нМ до 200 мкМ (соотношение с добавляемым белком варьировало от 1:8 до 4000:1). Комплексы инкубировались при температуре 25 °С, в буфере содержащем 50 мМ Трис-НСl, рН 7.5, 150 мМ NaCl, 1 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0.05 % Tween-20. Образец помещали в капилляры MST Premium Coated Capillary и проводили измерения, используя зеленый фильтр, мощность ИК-лазера (MST power) составляла 40 %, и интенсивность светоизлучающего диода (LED power) – 70%.

Белки TmaL1 и TmaL1dI были получены как описано в статье [9].

*Анализ размеров и массы частиц полноразмерного белка L1 T. maritima и его домена I методом динамического рассеяния света.* Для исследования белковых частиц была использована система для характеристики нано-частиц Malvern Zetasizer Nano ZSP. Измерения проводились в кварцевой кювете с размером ячейки 3x3 мм. Измерялось рассеяние света под углом 173°. Программным обеспечением автоматически вычислялось распределение частиц по размерам и определялся гидродинамический радиус.

Измерения гидродинамического радиуса белков TmaL1 и TmaL1dI проводили в буфере содержащем Tris-НСl рН 7.5 50 мМ, MgCl<sub>2</sub> 0.5 мМ, NaCl 150 мМ. Концентрация белка в анализируемых образцах составляла 1 мг/мл.

**Результаты и их обсуждение.** Один из предполагаемых участков связывания р-белка L1 с мРНК L11 оперона бактерии *T. maritima* расположен в лидерной последовательности мРНК белка L11 (см. рис. 1).

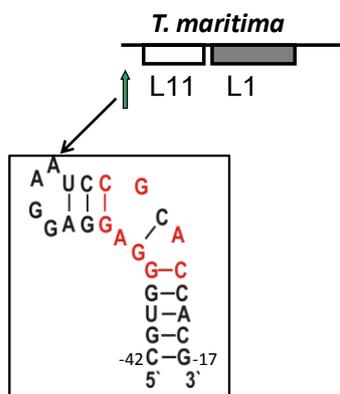


Рисунок 1 – Организация генов в L11 опероне *T. maritima* и предположительная вторичная структура фрагмента мРНК, с которым может взаимодействовать р-белок L1. Стрелкой показано положение участка на полицистронной мРНК, с которым, взаимодействует белок L1. Красным цветом выделены нуклеотиды, образующие консервативные контакты с белком L1 [10]. Нуклеотиды 5'-НТО соответствующего гена обозначены знаком (-)

Взаимодействие TmaL1 и TmaL1dI с данным фрагментом мРНК *T. maritima* было исследовано методом микроскопического термофореза. Фрагмент мРНК получен методом транскрипции *in vitro* с использованием T7 РНК-полимеразы, далее было проведено мечение транскрипта флуоресцентным красителем по 3'-концу. Для анализа РНК-белкового взаимодействия с меченым фрагментом мРНК использовались различные концентрации TmaL1 и TmaL1dI (см. рис. 2). Были определены значения  $F_{\text{norm}}$  для каждой временной кривой, построены графики зависимости  $F_{\text{norm}}$  от концентраций белка и определены равновесные константы диссоциации комплексов меченого фрагмента мРНК с белками L1 (см. табл. 1). Оказалось, что сродство TmaL1 к специфическому фрагменту мРНК в 4 раза меньше, чем у его домена I. Ранее мы исследовали методом поверхностного резонанса плазмонов взаимодействие доменов I р-белка L1 из *T. thermophilus* [11] и *Methanococcus jannaschii* [7] со специфическими фрагментами мРНК и показали, что сродство целого белка в несколько раз больше, чем сродство домена I. Анализ соответствующих структур РНК-белковых комплексов показал, что целый белок L1 *T. thermophilus* образует несколько дополнительных контактов с мРНК по сравнению с доменом I белка L1 [11, 12].

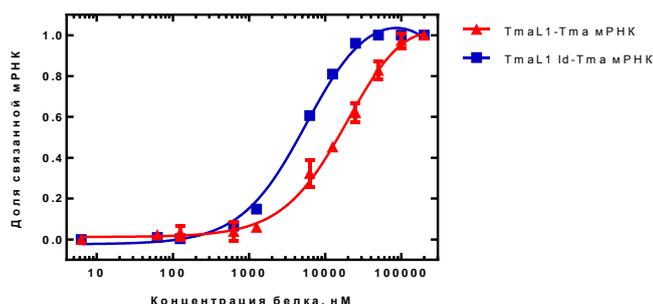


Рисунок 2 – Термофлуориметрические кривые взаимодействия белков TmaL1 и TmaL1dI со специфическим фрагментом мРНК *T. maritima*

Таблица 1. Константы диссоциации комплексов белков TmaL1 и TmaL1dI с фрагментом мРНК

K <sub>D</sub> (мкМ)	
TmaL1/мРНК <sub>Tma</sub>	TmaL1dI/мРНК <sub>Tma</sub>
15.8 ± 1.5	3.7 ± 1.2

Для того чтобы убедиться в достоверности наших данных, мы исследовали состояние TmaL1 и TmaL1dI в растворе, поскольку образование олигомеров TmaL1 способствовало бы уменьшению реальной концентрации белка. Измерение гидродинамических радиусов белков TmaL1 и TmaL1dI в растворе методом динамического рассеяния света показало, что оба они имеют размер, характерный для мономерной формы белков (см. табл. 2). Было также показано отсутствие агрегированных форм белков.

Таблица 2. Определение массы белков методом динамического рассеяния света

	TmaL1	TmaL1dI
Размер, нм	5.3 ± 1.2	4.6 ± 0.7

Поскольку на сегодняшний день мы не обладаем структурными данными о взаимодействии TmaL1 и TmaL1dI со специфическим фрагментом мРНК, мы не можем объяснить большее родство домена I TmaL1 к мРНК. Тем не менее, полученные нами данные о РНК-связывающих свойствах TmaL1 и TmaL1dI позволяют предположить консервативность регуляторных свойств целого рибосомного белка L1 и его домена I в бактериях.

Выражаем благодарность Nanotemper Technologies Rus за предоставление возможности проведения микроскопического термофореза на приборе Monolith NT.115, NanoTemper, а также Андрею Коневеге (Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", г. Гатчина, Россия) за ценные советы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-34-01056 мол\_а) и Программы МКБ РАН.

#### Список литературы / References:

1. Nomura M., Yates J.L., Dean D. and Post L.E. Feedback regulation of ribosomal protein gene expression in *Escherichia coli*: structural homology of ribosomal RNA and ribosomal protein mRNA. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1980, vol. 77, pp. 7084-7088.
2. Fu Y., Deiorio-Haggard K., Anthony J., Meyer M.M. Most RNAs regulating ribosomal protein biosynthesis in *Escherichia coli* are narrowly distributed to Gamma proteobacteria. *Nucleic Acids Res.*, 2013, vol. 41, iss. 6, pp. 3491-3503.
3. Köhrer C, Mayer C, Neumair O, Gröbner P, Piendl W. Interaction of ribosomal L1 proteins from mesophilic and thermophilic Archaea and Bacteria with specific L1-binding sites on 23S rRNA and mRNA. *Eur. J. Biochem.*, 1998, vol. 256, pp. 97-105.
4. Hanner M., Mayer C., Köhrer C., Golderer G., Gröbner P., Piendl W. Autogenous translational regulation of the ribosomal MvaL1 operon in the archaeobacterium *Methanococcus vannielii*. *J. Bacteriol.* 1994, vol. 176, pp. 409-418.
5. Kraft A., Lutz C., Lingenhel A., Gröbner P., Piendl W. Control of ribosomal protein L1 synthesis in mesophilic and thermophilic archaea. *Genetics.*, 1999, 152, pp. 1363-1372
6. Korepanov A.P., Kostareva O.S., Bazhenova M. V., Bubunenko M.G., Garber M.B., Tishchenko S. V. Studying the properties of domain I of the ribosomal protein L1: incorporation into ribosome and regulation of the L1 operon expression. *Protein J.*, 2015, vol. 34, iss. 2, pp. 103-110.
7. Михайлина А.О., Костарева О.С., Никонова Е.Ю., Тищенко С.В. Анализ взаимодействия домена I архейного рибосомного белка L1 со специфическими фрагментами РНК. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2016, т. 1, вып. 1, с. 239-243. [Mikhaylina A.O., Kostareva O.S., Nikonova E.Y., Tishchenko S.V. Analysis of the domain I

of Archaeal ribosomal protein L1 interaction with specific RNA fragments. *Topical issues of biological physics and chemistry*, 2016, vol. 1, iss. 1, pp. 239-243 (In Russ.)]

8. Wienken, C.J., Baaske, P., Rothbauer, U., Braun, D., Duhr, S. Protein-binding assays in biological liquids using microscale thermophoresis. *Nat Commun.*, 2010, vol. 1, p. 100.

9. Михайлина А.О., Костарева О.С., Никонова Е.Ю., Гарбер М.Б., Тищенко С.В. Идентификация участков на мРНК *Thermus thermophilus* и *Thermatoga maritima*, с которыми взаимодействует рибосомный белок L1. *Молекулярная биология*, 2018, т. 52, с. 1. [Mikhaylina A.O., Kostareva O.S., Nikonova E.Y., Garber M.B., Tishchenko S.V. Identification of the sites on mRNA of *Thermus thermophilus* and *Thermatoga maritima*, which bind ribosomal protein L1. *Molecular Biology*, 2018, vol. 52, p. 1. (In Russ.)]

10. Nevskaya N., Tishchenko S., Gabdoulkhakov A., Nikonova E., Nikonov O., Nikulin A., Platonova O., Garber M., Nikonov S. and Piendl W. Ribosomal protein L1 recognizes the same specific structural motif in its target sites on the autoregulatory mRNA and 23S rRNA. *Nucleic Acid Res.* 2005, vol. 33, iss. 2, pp. 478-85.

11. Tishchenko S., Kljashorny V., Kostareva O., Nevskaya N., Nikulin A., Gulak P., Piendl W., Garber M., Nikonov S. Domain II of *Thermus thermophilus* ribosomal protein L1 hinders recognition of its mRNA. *J Mol Biol.* 2008, vol. 383, pp. 301-305.

12. Nevskaya N., Tishchenko S., Volchkov S., Kljashorny V., Nikonova E., Nikonov O., Nikulin A., Kohrer C., Piendl W., Zimmermann R., Stockley P., Garber M. and Nikonov S. New insights into the interaction of ribosomal protein L1 with RNA. *J. Mol. Biol.*, 2006, vol. 355, iss. 4, pp. 747-759.

### ФОРМИРОВАНИЕ АГРЕГАТОВ КРАУНСДЕРЖАЩЕГО ПРОИЗВОДНОГО ФЕНОКСАЗОНА И ИХ КОМПЛЕКСОВ С МОЛЕКУЛОЙ ДНК

Морошкина Е.Б.<sup>1</sup>, Седова О.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет  
Университетская наб., 7/9, г. С-Петербург, 199034, РФ  
e-mail: evmorosh@mail.ru

<sup>2</sup>Костромской государственный университет им. Н.А. Некрасова  
ул. 1 Мая, 14, г. Кострома, 156961, РФ

**Аннотация.** Кинетика образования в водно-солевых растворах упорядоченных агрегационных структур краунсодержащим производным феноксазона (КФ), обладающим противоопухолевой активностью, и его взаимодействие с молекулой ДНК исследованы методами спектрофотометрии и спектрополяриметрии. Показано, что в зависимости от природы противоиона и ионной силы среды КФ образует агрегационные структуры H- и J-типа в результате межмолекулярного взаимодействия радикалов -бензо-(15-краун-5), ассоциирующих катионы K<sup>+</sup> или Na<sup>+</sup>. Высокое сродство КФ к ДНК в присутствии ионов K<sup>+</sup> препятствует образованию агрегатов. В присутствии ионов Na<sup>+</sup> процессы образования агрегатов КФ и его комплексов с ДНК идут параллельно. Наличие краунгруппировок в структуре КФ влияет на его способ связывания с ДНК в зависимости от природы противоиона в растворе.

**Ключевые слова.** ДНК, краунсодержащие производные феноксазона, спектрофотометрия, круговой дихроизм, взаимодействие, ионная сила среды.

### FORMATION OF AGGREGATES OF CROWN-CONTAINING DERIVATIVE PHENOXASONE AND THEIR COMPLEXES WITH DNA MOLECULE

Moroshkina E.B.<sup>1</sup>, Sedova O.B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Saint Petersburg State University  
Universitetskaya emb., 7/9, St. Petersburg, 199034, Russia  
e-mail: evmorosh@mail.ru

<sup>2</sup>N.A. Nekrasov Kostroma State University  
1May str., 14, Kostroma, 156961, Russia

**Annotation.** Kinetics of the formation of ordered aggregation structures in aqueous-salt solutions of the crown-containing phenoxazone derivative (CPh), which has antitumor activity, and the interaction of the latter with the DNA molecule were studied by spectrophotometry and spectropolarimetry. It is shown that, depending on the nature of the counterion and the ionic strength of the medium, CPh forms H- and J-type aggregation structures as a result of the intermolecular interaction of -benzo-(15-crown-5) radicals associating K<sup>+</sup> or Na<sup>+</sup> cations. The high affinity of CPh to DNA in the presence of K<sup>+</sup> ions prevents the formation of aggregates. In the presence of Na<sup>+</sup> ions, the formation of complexes with DNA and CPh aggregates proceeds in parallel. The presence of crown-radicals in the CPh structure affects the way of its binding with DNA depending on the nature of the counterion in the solution.

**Key words:** DNA, crown-containing derivatives of phenoxasone, spectrophotometry, spectropolarimetry, interaction, ionic strength of the medium.

Исследуемое соединение (см. рис. 1а) было синтезировано в Санкт-Петербургском Технологическом институте наряду с другими краун-содержащими производными феноксазона в качестве аналога противоопухолевого антибиотика актиномицина D (см. рис. 1б) [1]. Краун-группировки этих соединений моделируют способность