

# ЛЮМІНЕСЦЕНЦІЯ ПРОТЕЇНІВ І ПОЛІРИБОНУКЛЕОТИДІВ. МОЖЛИВІСТЬ СПЕКТРАЛЬНОГО ТЕСТУВАННЯ ЇХ ВЗАЄМОДІЇ

*В. М. Ящук*<sup>1</sup>  
*З. Ю. Ткачук*<sup>2</sup>  
*С. М. Левченко*<sup>2</sup>  
*В. Ю. Кудря*<sup>1</sup>  
*В. І. Мельник*<sup>3</sup>  
*В. П. Воробйов*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка

<sup>2</sup>Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ

<sup>3</sup>Інститут фізики НАН України, Київ

*E-mail: vmyashchuk@univ.kiev.ua*

Отримано 14.03.2011

Розглянуто можливості застосування методу низькотемпературної люмінесценції для спектрального тестування зв'язування протеїнів з нуклеїновими кислотами, олігонуклеотидами та іншими сполуками. З використанням спектрів поглинання та люмінесценції уточнено положення перших збуджених синглетних і триплетних електронних рівнів  $\pi$ -електронвмісних рибонуклеотидів та амінокислот. Підтверджено, що фосфоресценція РНК визначається випромінюванням аденінової основи, що характеризується найнижчим триплетним рівнем. Показано, що саме низькотемпературна автофосфоресценція протеїнів та нуклеотидів завдяки структурованості спектрів дає змогу встановити наявність зв'язування компонентів у складних біологічних системах. Продемонстровано спектральні докази зв'язування сироваткового альбуміну людини з молекулами 2'-5'олігоаденілату.

**Ключові слова:** РНК, сироватковий альбумін людини, амінокислоти, нуклеотиди,  $\pi$ -електронвмісні системи, 2'-5'олігоаденілат, люмінесценція, поглинання, енергетичні рівні, спектральні прояви взаємодії.

Відомо, що нуклеїнові кислоти та деякі протеїни містять ароматичні складові, тобто такі компоненти, в яких наявні  $\pi$ -електронні системи. Саме ці системи є оптичними центрами і в широкому діапазоні визначають електронні спектри (поглинання та люмінесценцію) даних сполук, роблячи їх зручними об'єктами для дослідження спектральними методами.  $\pi$ -Електронні системи локалізовані в окремих хромофорних групах. У РНК та ДНК — це нуклеотиди, у протеїнах — ароматичні амінокислоти (триптофан, тирозин і фенілаланін).

Спектральні методи є дуже чутливими, експресними й інформативними. Вкрай важливо те, що вони досить дешеві та доступні для використання. Так, дослідження поглинання і випромінювання дають змогу оцінити положення перших збуджених електронних синглетних та триплетних рівнів, зробити висновки про можливі процеси передачі енергії електронного збудження в макромолекулах і між окремими парами молекул. З другого боку, спектральні

методи дозволяють встановлювати наявність зв'язування між компонентами біологічної системи та біологічних сполук із синтетичними молекулами. Для більшості протеїнів характерною є наявність власної люмінесценції, яка дуже чутлива до зміни навколишнього середовища. За змінами у спектрах люмінесценції можна отримати дані щодо зв'язування протеїнів з нуклеїновими кислотами (НК) та іншими молекулами. Причому, відносна безструктурність спектрів власної флюоресценції як протеїнів, так і НК, а також їх накладання в досліджуваному діапазоні значно ускладнює процес встановлення факту зв'язування НК з протеїнами. На противагу флюоресценції, спектри фосфоресцентного випромінювання РНК та протеїнів характеризуються наявністю більш чіткої структури та появою максимумів, характерних лише для НК. Так, наприклад, підтвердженням факту зв'язування полінуклеотидів із протеїнами є наявність у спектрах фосфоресценції системи полінуклеотид-протеїн максимумів,

що належать АМФ. Найбільш короткохвильовий із них зовсім не перекривається з максимумами  $\pi$ -електронвмісних складових протеїнів (тирозином, триптофаном та фенілаланіном), що робить його зручним для детектування взаємодії в біологічних системах. Вищенаведені факти свідчать про значні переваги використання саме спектрів фосфоресценції для детектування РНК у протеїновому оточенні.

Метою цієї роботи було продемонструвати можливості методу низькотемпературної автофлюоресценції та автофосфоресценції в дослідженні електронних властивостей біологічних об'єктів і вирішити деякі прикладні задачі взаємодії НК з протеїнами та молекулами, що входять до складу лікарських препаратів, спектроскопічними методами.

### Матеріали і методи

Альбумін людини,  $\pi$ -електронвмісні амінокислоти (тирозин, триптофан та фенілаланін), дріжджова РНК, 2'-5'олігоаденілат (2'-5'A<sub>3</sub>) та модельні сполуки, а саме: 5'-аденозинмонофосфат (АМФ), 5'-гуанозин монофосфат (ГМФ), 5'-уридин монофосфат (УМФ) та 5'-цитидин монофосфат (ЦМФ) було надано Інститутом молекулярної біології та генетики (ІМБГ) НАНУ. У досліджах використовували водні розчини препаратів. Інкубацію водних розчинів олігонуклеотидів, амінокислот, РНК та протеїнів проводили за кімнатної температури. Спектри люмінесценції вимірювали на спектрофлюориметрі Hitachi MPF-4, спектри поглинання — на спектрофотометрі Spexord UV-VIS. Спектральні вимірювання виконували при T = 4,2 К, 77 К та за кімнатної температури.

### Результати та обговорення

#### Спектральні властивості нуклеотидів і РНК

Центрами, відповідальними за оптичне поглинання, флюоресценцію та фосфоресценцію в біологічних молекулах, є групи атомів, що містять так звані  $\pi$ -електронвмісні системи. У протеїнах такі групи містяться в амінокислотах — фенілаланіні, тирозині та триптофані, у ДНК та РНК — в азотистих основах [1–3]. Тому спектральні властивості нуклеотидів та РНК варто розглянути детальніше.

Спектри поглинання і флюоресценції нуклеотидів (що моделюють елементарну ланку РНК) дають змогу визначити положення електронних рівнів основного та

збудженого станів. Положення перших збуджених синглетних електронних рівнів оцінюється за перетином довгохвильового краю кривої спектра поглинання та короткохвильового краю кривої внормованого спектра флюоресценції. Відповідні спектри АМФ наведено на рис. 1 [4]. Ілюстрацію системи енергетичних рівнів для органічної молекули подано на рис. 2.

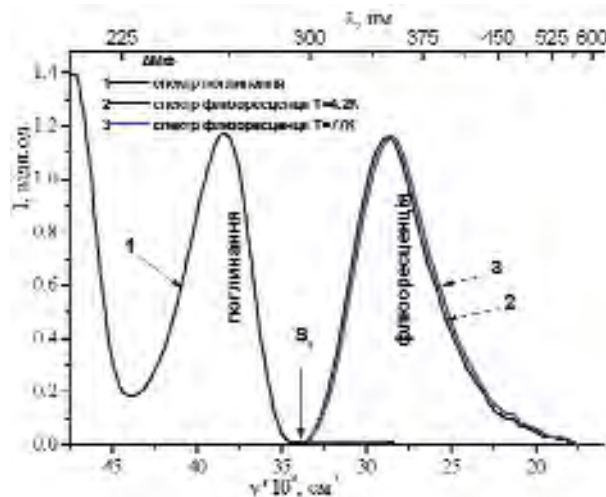


Рис. 1. Унормовані спектри поглинання та флюоресценції рибонуклеотиду АМФ: поглинання відповідає переходам  $S_{00} \rightarrow S_{1n}$ , флюоресценція —  $S_{10} \rightarrow S_{0n}$ .

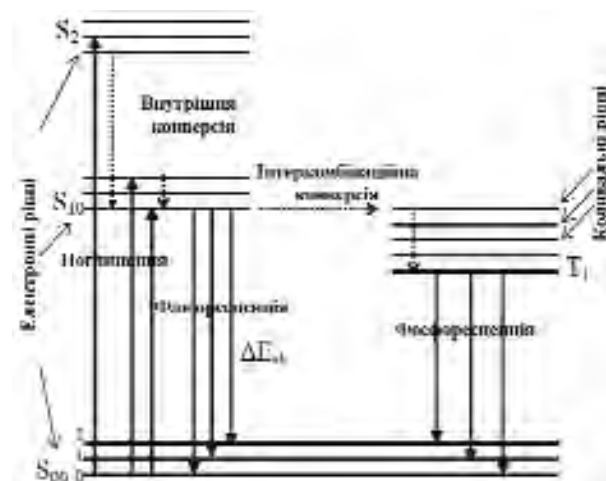


Рис. 2. Енергетична діаграма, що ілюструє основні процеси, які відбуваються у молекулі після поглинання світла

Положення «чисто» електронного рівня (оціненого вище для АМФ) відповідає на діаграмі  $\Delta E_{s1} = E_{s10} - E_{s00}$ .

Фосфоресценція зумовлена переходами  $T_{10}S_{0n}$  (рис. 2). Спектри фосфоресценції нуклеотидів (рис. 3) дають можливість оцінити

положення їхніх триплетних рівнів за краєм кривої спектра фосфоресценції. Особливо чітким край спектра фосфоресценції є за низьких температур (у даній роботі положення триплетних рівнів визначали при  $T = 4,2 \text{ K}$ ). Енергетичну діаграму триплетних рівнів модельних сполук (отримані за спектрами фосфоресценції) наведено на рис. 4. Видно, що найнижчий триплетний рівень, як і в разі ДНК [5, 6], належить аденіновій ланці. Однак, на відміну від спектрів фосфоресценції ДНК, що пов'язані з пасткою АТ [6], фосфоресценція РНК зумовлена випромінюванням аденінової ланки [7].

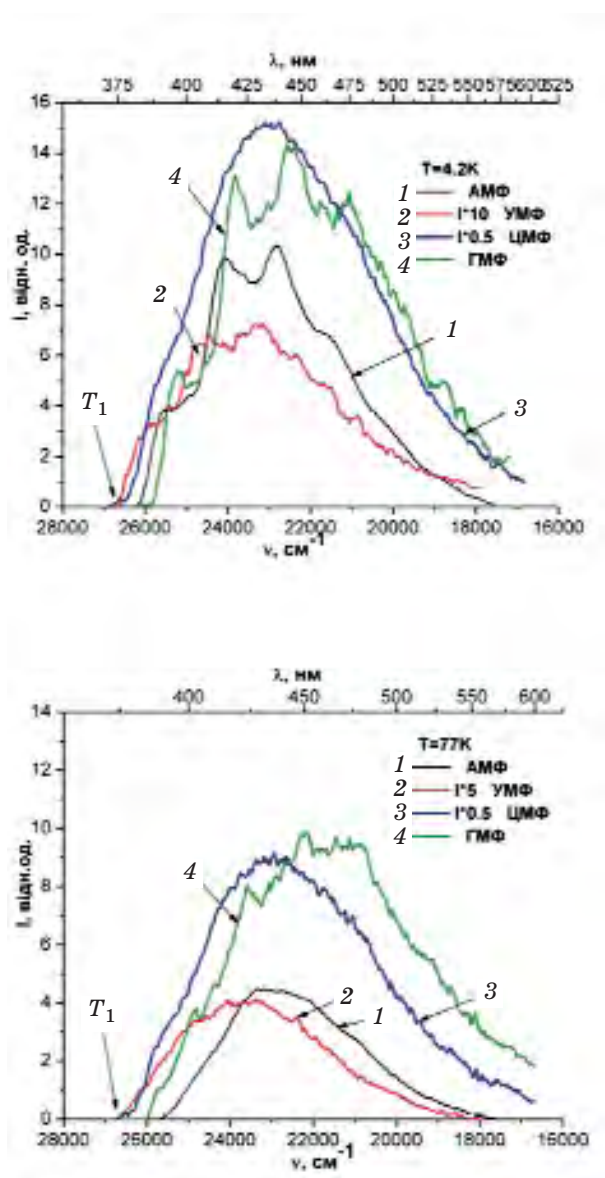


Рис. 3. Спектри фосфоресценції рибонуклеотидів за  $T=4,2 \text{ K}$  та  $77 \text{ K}$ : водний розчин, довжина хвилі збудження фосфоресценції  $\lambda_{36} = 260 \text{ nm}$ ,  $\rho_{\text{AMF}}, \rho_{\text{ЦМФ}}, \rho_{\text{ГМФ}}, \rho_{\text{УМФ}} = 0.34 \text{ mM}$

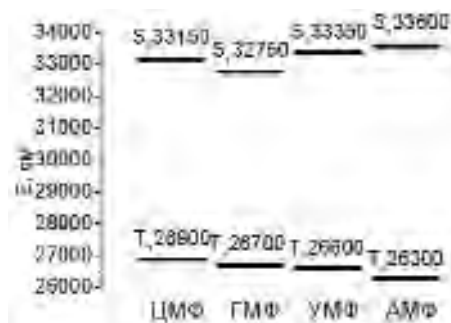


Рис. 4. Система електронних енергетичних рівнів  $\pi$ -електронвісних нуклеотидів у РНК

### Спектральні властивості ароматичних амінокислот та альбуміну людини

Використовуючи методику, описану вище за спектрами флюоресценції та поглинання ароматичних амінокислот (рис. 5) було оцінено положення перших збуджених синглетних рівнів. Вони подані на рис. 6 і близькі до виміряних в [6].

За допомогою спектрів фосфоресценції амінокислот можна оцінити положення їхніх триплетних рівнів  $T_1$  (рис. 6).

### Спектральні прояви взаємодії між компонентами нуклеотид-протеїнових систем

Отримані спектральні дані дають змогу побудувати діаграму енергетичних рівнів  $\pi$ -електронвісних амінокислот альбуміну та сполук (АМФ, ГМФ, ЦМФ, УМФ), що моделюють елементарні фрагменти РНК (рис. 7).

З енергетичної діаграми випливає, що зв'язування оліго- та полінуклеотидів з альбуміном може виявитися у перенесенні енергії електронного збудження на триптофан. Оскільки триптофан має найнижчий триплетний рівень (рис. 7), то енергію триплетного збудження може захоплювати саме триптофан. Як результат має спостерігатися домінування флюоресценції та фосфоресценції триптофану в розчинах альбумін-РНК/олігоаденілат. Однак у спектрах флюоресценції та фосфоресценції у разі низьких температур ( $77-4,2 \text{ K}$ ) при збудженні за довжини хвилі  $260 \text{ nm}$  виявляються обидва компоненти розчинів. Лише за кімнатної температури дійсно має вияв в основному флюоресценція тирозину та триптофану. Однак це пов'язано з тим, що нуклеотиди за кімнатної температури мають дуже низький ( $10^{-5}$ ) квантовий вихід флюоресценції [3].

За умови, коли  $\pi$ -електронвісні системи досліджуваного протеїну та РНК перебувають на відстанях більших, ніж можлива передача збудження, механізм перехоплення

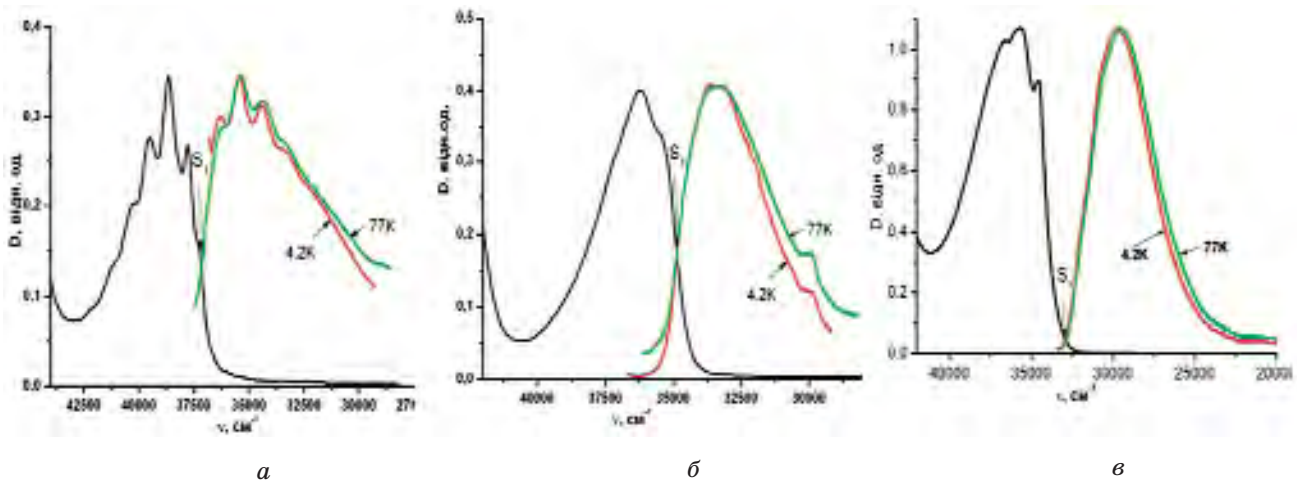


Рис. 5. Унормовані спектри поглинання та флюоресценції амінокислот: а — фенілаланін; б — тирозин; в — триптофан

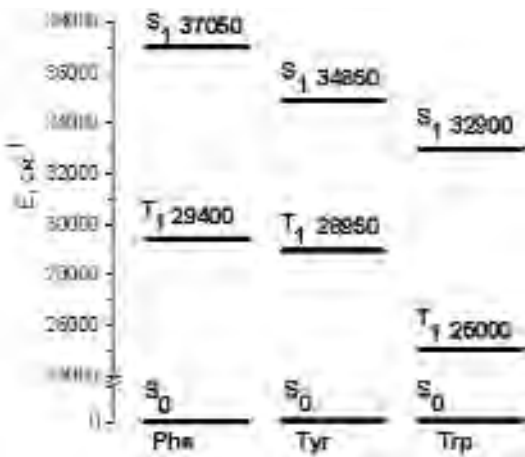


Рис. 6. Система енергетичних рівнів π-електронвісних амінокислот в альбуміні

енергії не «спрацьовує». Відсутність переходження триплетних збуджень, що виникають у нуклеотидах, триптофаном альбуміну свідчить про те, що якщо й існує зв'язування досліджуваних систем або їх взаємне проникнення, то нуклеотиди розташовані на відстанях  $R_{A-Trp} > 20\text{Å}$  від триптофанових груп альбуміну [8]. За таких умов можливі й інші варіанти. Наприклад, якщо РНК проникає в протеїн — це аналог зміни навколишнього середовища і, як результат, можливі характерні зміни в спектрах флюоресценції та фосфоресценції, зокрема зміни в інтенсивностях випромінювання, зсуви в спектрах чи їх структуризація.

**Деякі приклади практичного застосування методу в експериментальній фармакології та клініці**

Препарати нуклеїнових кислот та олігонуклеотидів набувають останнім часом дедалі більшого використання в медичній практиці. На основі природного 25-членного олігонуклеотиду дріжджової РНК компанія Biocell laboratories запатентувала в провідних країнах світу нову субстанцію, яка дала початок створенню низки лікарських препаратів [9]. В Україні на основі цієї субстанції було створено імуномодулятор та протизапальний препарат Нуклеїнат®, який з 2004 р. дозволений МОЗ України для використання і успішно впроваджений у лікарську практику [10]. Модифікація цього олігонуклеотиду дріжджової РНК уможливила створення препарату Нуклекс® із широким спектром протівірусної дії, яка охоплює протигрипозний,

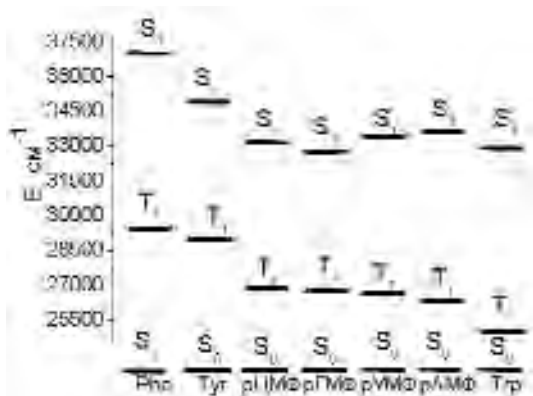


Рис. 7. Діаграма енергетичних рівнів π-електронвісних амінокислот альбуміну та сполук (АМФ, ГМФ, ЦМФ, УМФ), що моделюють елементарні фрагменти РНК

протигерпетичний та протигепатитний ефект [11–13]. Нуклекс® пройшов клінічні випробування і зараз його призначають для лікування вірусних захворювань.

Хімічно синтезовані олігонуклеотиди, так звані «аптамери», на цей час проходять доклінічні та клінічні випробування для лікування захворювань крові, очей, як імуномодулятори, противірусні та протиракові препарати [14].

Однак, незважаючи на велику увагу до препаратів нуклеїнових кислот та олігонуклеотидів як перспективних лікувальних засобів, питання детекції їх в органах та тканинах організму досить складне й досі остаточно не з'ясоване, що не дає змоги достатньою мірою розкрити їх потенціал, вивчати фармакокінетику та розробити ефективні протоколи лікування різних захворювань. Тому застосування фізичних, особливо спектральних, методів дослідження для визначення таких препаратів є актуальним і перспективним.

Нижче подано приклади застосування методу низькотемпературної автофлуоресценції та автофлуоресценції для встановлення наявності взаємодії в системах альбумін-РНК та альбумін-олігонуклеотид 2'-5' A<sub>3</sub>.

Як випливає з рис. 8, у спектрах флуоресценції та фосфоресценції розчинів альбумін-РНК не фіксуються вияви взаємодії цих біомолекул, оскільки не спостерігаються додаткові смуги або ж зсуви власних смуг. Останні досить наглядно демонструють структурні й чіткі спектри фосфоресценції, де характеристичною є смуга 387 нм, що притаманна аденіновій групі, яка міститься в РНК і не змінює свого розташування з додаванням до РНК альбуміну (рис. 9).

Отже, спектральні ознаки зв'язування в системі альбумін-дріжджова РНК відсутні. Зовсім інша картина спостерігається під час дослідження спектральних виявів зв'язування в системі 2'-5'олігоаденілат-альбумін.

Розглянемо детальніше особливості будови та функції олігоаденілатів. Аденін та аденинвімісні молекули беруть участь у всіх основних процесах обміну енергією в організмі. Саме вони слугують основним енергетичним джерелом для біохімічних процесів. Олігоаденілат 2'-5' A<sub>3</sub> складається з трьох ланок АМФ (рис. 10) і належить до олігонуклеотидів, які активують рибонуклеазу L, яка, у свою чергу, спричиняє руйнування вірусних РНК [15].

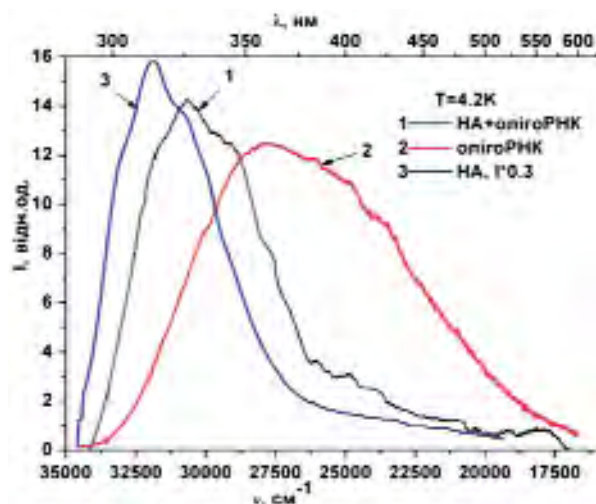


Рис. 8. Спектри флуоресценції дріжджової РНК, альбуміну та розчину олігоРНК-НА за  $T = 4,2$  і  $77$  К: водний розчин,  $\lambda_{36} = 260$  нм,  $C_{\text{РНК}} = 10$  мМ,  $C_{\text{НА}} = 0,6$  мМ

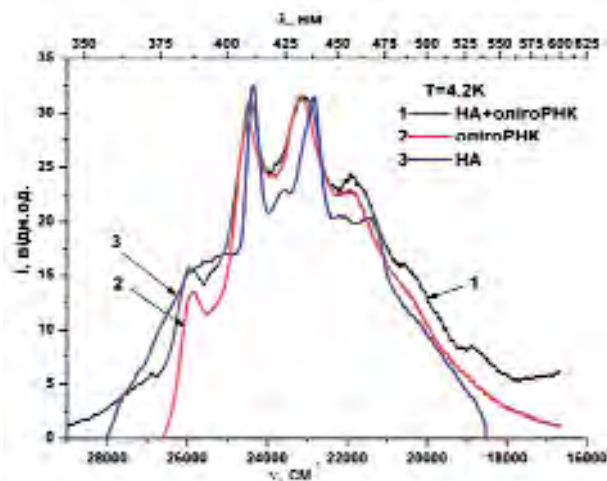


Рис. 9. Спектри фосфоресценції дріжджової РНК, альбуміну та розчину олігоРНК-НА за  $T = 4,2$  і  $77$  К: водний розчин,  $\lambda_{36} = 260$  нм,  $C_{\text{РНК}} = 10$  мМ,  $C_{\text{НА}} = 0,6$  мМ. Спектральні ознаки зв'язування альбуміну з РНК не спостерігаються

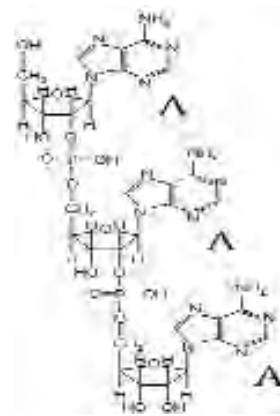


Рис. 10. 2'-5'олігоаденілат

Дослідження люмінесценції системи 2'-5'A<sub>3</sub>HA дало змогу отримати низку цікавих результатів. Зокрема, у спектрах флюоресценції за низьких температур відбуваються зсуви максимуму в разі переходу від розчинів молекул 2'-5'A<sub>3</sub> до розчинів 2'-5'A<sub>3</sub>HA (рис. 11). Особливо чіткі зсуви (5 нм) спостерігаються при 4,2 К у спектрі фосфоресценції бінарного розчину 2'-5'A<sub>3</sub>HA для аденінового максимуму 387 нм, що не перекривається зі смугами фосфоресценції триптофану. Виявляється, що зсув 5 нм є типовим. Дійсно, згідно з нашими даними, максимум фосфоресценції триптофану при 4,2 К теж зсувається саме на 5 нм при «зануренні» триптофанових груп у протеїнове середовище альбуміну (перехід від водних розчинів 2'-5'A<sub>3</sub> до розчину 2'-5'A<sub>3</sub>HA).

Однак найвагомішим доказом зв'язування молекул 2'-5'A<sub>3</sub> з альбуміном є поява чіткої структури аденінової фосфоресценції молекул 2'-5'A<sub>3</sub> вже при 77 К (за умов, у яких

спектр фосфоресценції 2'-5'A<sub>3</sub> є малоструктурним) з додаванням у розчин альбуміну (рис. 13). Тобто, додавання альбуміну до розчину 2'-5'A<sub>3</sub> призводить до появи ефекту, аналогічного до збільшення «жорсткості» навколишнього середовища. Прикладом зміни «жорсткості» середовища, що спричиняє структурування спектрів фосфоресценції, може слугувати перехід від вищої температури (T = 77 К) до нижчої (T = 4,2 К) (рис. 14). У нашому ж випадку порівняння спектрів фосфоресценції розчину 2'-5'A<sub>3</sub> та системи 2'-5'A<sub>3</sub>HA за температури 77 К (рис. 13) показує, що спектр суміші характеризується наявністю структури з чіткими максимумами, характерними для 2'-5'A<sub>3</sub>, які не виявляються при T = 77 К. Цей факт свідчить, що 2'-5'A<sub>3</sub> зв'язується з альбуміном, унаслідок чого й відбувається зменшення ступенів свободи молекули 2'-5'A<sub>3</sub> та з'являється чітка структура у спектрі фосфоресценції.

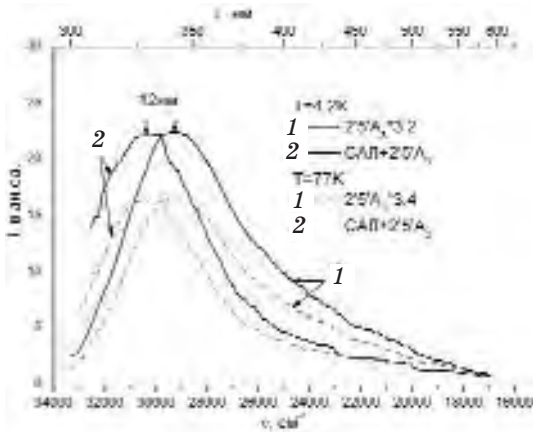


Рис. 11. Спектри флюоресценції розчину 2'-5'A<sub>3</sub> та розчину 2'-5'A<sub>3</sub>HA: водний розчин, λ<sub>36</sub> = 260 нм, С2'5'A<sub>3</sub> = 1 мМ

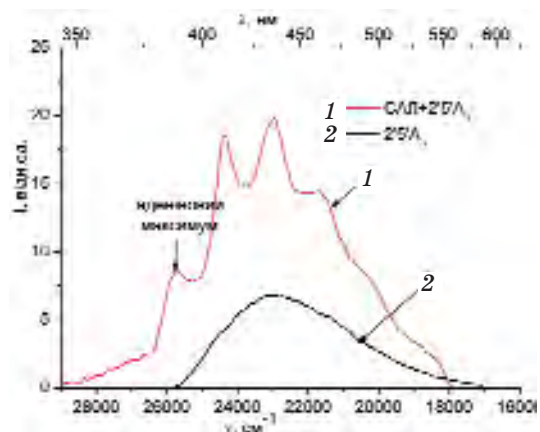


Рис. 13. Спектри фосфоресценції системи 2'-5'A<sub>3</sub>HA (1) та 2'-5'A<sub>3</sub> (2) за T = 77 К: λ<sub>36</sub> = 260 нм, С2'5'A<sub>3</sub> = 1 мМ

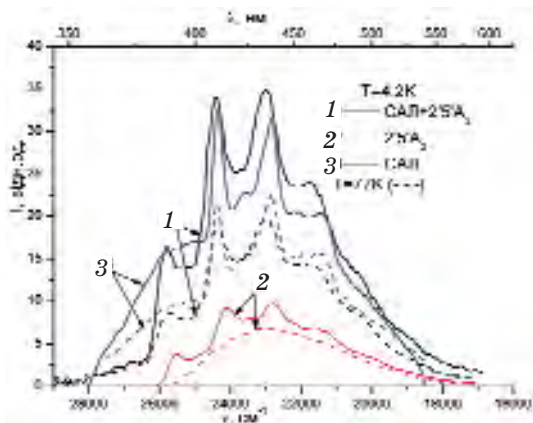


Рис. 12. Спектри фосфоресценції розчину 2'-5'A<sub>3</sub>, альбуміну та розчину 2'-5'A<sub>3</sub>HA: водний розчин, λ<sub>36</sub> = 260 нм, С2'5'A<sub>3</sub> = 1 мМ

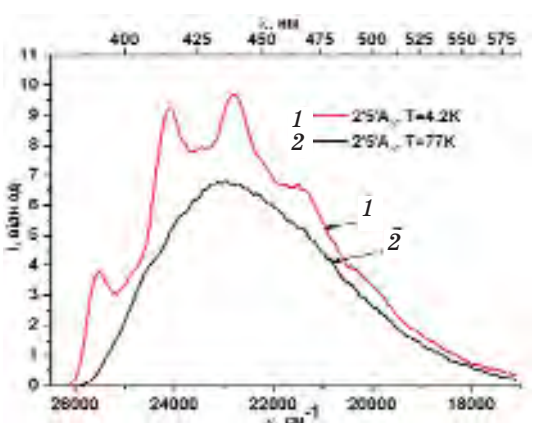


Рис. 14. Спектри фосфоресценції 2'-5'A<sub>3</sub> за T = 4,2 К (1) та T = 77 К (2): λ<sub>36</sub> = 260 нм, С2'5'A<sub>3</sub> = 1 мМ

Спектр суміші характеризується наявністю структури з чіткими максимумами, характерними для 2'-5'A<sub>3</sub>, які не виявляються при T = 77 К, коли альбумін відсутній (рис. 13). У спектрах фосфоресценції 2'-5'A<sub>3</sub> спостерігається поява чіткої структури з переходом від 77 К до 4,2 К. У даному разі перехід від 77 К до 4,2 К зумовлює посилення «жорсткості середовища» (рис. 14).

Таким чином, методи люмінесценції (власної флюоресценції та фосфоресценції)

є досить чутливими щодо реєстрації взаємодії між біологічними об'єктами. Прикладом цього можуть слугувати виявлені нами спектральні прояви взаємодії між 2'-5'олігоаденілатом та альбуміном.

Спектральних ознак зв'язування сироваткового альбуміну людини з РНК в умовах нашого дослідження не виявлено. Якщо слабе зв'язування й відбувається, то воно має периферійний характер.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Garrett R. H., Grisham C. M. Biochemistry. — AIP, 1999. — 851 p.
2. Theodore Peters. All about Albumin; Biochemistry, genetics, and medical application. — NY: Academic Press, 1996. — 432 p.
3. Lacowicz R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. — NY: Springer Science, 2006.
4. Паркер С. Фотолюмінесценция растворов. — М.: Мир, 1972. — 510 с.
5. Yashchuk V., Kudrya V., Losytsky M. et al. The nature of the electronic excitation capturing centers in the DNA // J. Mol. Liq. — 2006. — V. 127, Iss. 1-3. — P. 79-83.
6. Yashchuk V. M., Kudrya V. Yu., Losytsky M. Yu. et al. Energy transfer in DNA. Nature of triplet excitations capturing centers // Mol. Cryst. Liq. Cryst. — 2007. — V. 467. — P. 311-323.
7. Yashchuk V. M., Kudrya V. Yu., Levchenko S. M. et al. Optical Response of the Polynucleotides-Protein Interaction // Ibid. — 2011. — V. 535. — P. 93-110.
8. Горбань И. С., Яцук В. Н., Кальницкий А. Я., Найденов В. П. Особенности элементарного акта переноса энергии электронного возбуждения в макромолекулах // Журн. прикл. спектроскоп. — 1987. — Т. 47, № 1. — С. 96-101.
9. Tkachuk Z. Compound, composition and method for the treatment of inflammatory and inflammatory-related disorders // United States Patent № 6,737,271 May 18, 2004.
10. Ткачук З. Ю. Вплив препаратів нуклеїнових кислот на агрегацію тромбоцитів людини *in vitro* // Доп. НАНУ. — 2008. — № 8. — С. 164-168.
11. Ткачук З. Ю., Рибалко С. Л., Жаркова Л. Д. та ін. Антигрипозна активність препарату Нуклекс® // Там само. — 2010. — № 9. — С. 192-196.
12. Порва Ю. І., Ткачук З. Ю., Рибалко С. Л. Антивірусна активність препарату Нуклекс® на клітинній моделі вірусу гепатиту С // Вісн. фармакол. фармац. — 2010. — № 7-8. — С. 6-12.
13. Ткачук З. Ю., Рибалко С. Л., Дядюн С. Т., Старосила Д. Б. Антигерпетична активність препарату Нуклекс® // Доп. НАНУ. — 2011. — № 4. — С. 162-168.
14. Sullenger B. A., Gilboa E. Emerging clinical applications of RNA // Nature. — 2002. — V. 418, 11 July. — P. 252-258.
15. Tsai C. S. Biomacromolecules. Introduction to Structure, Function and Informatics. — Canada: Willey-Liss, 2007. — 740 p.

**ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ПРОТЕИНОВ  
И ПОЛИРИБОНУКЛЕОТИДОВ.  
ВОЗМОЖНОСТЬ СПЕКТРАЛЬНОГО  
ТЕСТИРОВАНИЯ ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ**

*В. М. Ящук<sup>1</sup>  
З. Ю. Ткачук<sup>2</sup>  
С. М. Левченко<sup>2</sup>  
В. Ю. Кудря<sup>1</sup>  
В. И. Мельник<sup>3</sup>  
В. П. Воробьев<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Киевский национальный университет  
имени Тараса Шевченко

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии и генетики  
НАН Украины, Киев

<sup>3</sup>Институт физики НАН Украины, Киев

*E-mail: vmyashchuk@univ.kiev.ua*

Рассмотрены возможности применения метода низкотемпературной люминесценции для спектрального тестирования связывания протеинов с нуклеиновыми кислотами, олигонуклеотидами и другими соединениями. С использованием спектров поглощения и люминесценции было уточнено положение первых возбужденных синглетных и триплетных электронных уровней  $\pi$ -электронсодержащих рибонуклеотидов и аминокислот. Подтверждено, что фосфоресценция РНК определяется излучением аденинового звена, которое характеризуется самым низким триплетным уровнем. Показано, что именно низкотемпературная аутофосфоресценция протеинов и нуклеотидов благодаря структурированности спектров дает возможность определить наличие связывания компонентов в сложных биологических системах. Продемонстрированы спектральные доказательства связывания сывороточного альбумина человека с молекулами 2'-5' олигоаденилата.

**Ключевые слова:** РНК, сывороточный альбумин человека, аминокислоты, нуклеотиды,  $\pi$ -электронсодержащие системы, 2'-5' олигоаденилат, люминесценция, поглощение, энергетические уровни, спектральные проявления взаимодействия.

**PROTEINS AND POLYRIBONUCLEOTIDES  
LUMINESCENCE.  
THE POSSIBILITY OF SPECTRAL  
TESTING OF THEIR INTERACTION**

*V. M. Yashchuk<sup>1</sup>  
Z. Yu. Tkachuk<sup>2</sup>  
S. M. Levchenko<sup>2</sup>  
V. Yu. Kudrya<sup>1</sup>  
V. I. Mel'nik<sup>3</sup>  
V. P. Vorob'yov<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv

<sup>2</sup>Institute of Molecular Biology and Genetics  
of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

<sup>3</sup>Institute of Physics of National Academy  
of Sciences of Ukraine, Kyiv

*E-mail: vmyashchuk@univ.kiev.ua*

Possibilities of application of a low-temperature luminescence method for the detection of binding between proteins and nucleic acids, oligonucleotides and other compounds were studied. The position of the first excited singlet and triplet electronic energy levels of the ribonucleotides and  $\pi$ -electron containing amino acids were evaluated using absorption and luminescence spectra. It was confirmed that the phosphorescence spectra of RNA were connected with the adenine base emission that possessed the lowest triplet level in the RNA bases triplet levels systems. It was shown that the low-temperature autophosphorescence of proteins and nucleotides (due to the sharp spectra's structure) gave the possibility to determine presence of binding between components in complex biological system. The spectral evidences of the binding between human albumin molecules and 2'-5' oligoadenilate molecules were given.

**Key words:** RNA, human albumin, amino acids, nucleotides,  $\pi$ -electron contained systems, 2'-5' oligoadenilate, luminescence, absorption, energy levels, spectral displays of interaction.