

В. В. Ткачук, С. М. Левченко, А. В. Ребрів, Л. В. Ткачук,  
С. І. Черних, З. Ю. Ткачук

## Дослідження взаємодії “корових” 2',5'-олігоаденілатів із деякими протеїнами методом флуоресцентної спектроскопії

(Представлено членом-кореспондентом НАН України Д. М. Говоруном)

*Вивчали взаємодію “корового” олігоаденілату (2',5'-A<sub>3</sub>) та його аналогів із альбуміном, інтерфероном, інсуліном, імуноглобуліном та кальмодуліном методом флуоресцентної спектроскопії та мас-спектрометрії. Показано, що всі досліджувані олігоаденілати гасять власну флуоресценцію цих білків різною мірою і це гасіння має концентраційну залежність. 2',5'-A<sub>3</sub> та його аналоги 2',5'-A<sub>3</sub>-thio, 2',5'-A<sub>3</sub>-ino і 2',5'-A<sub>3</sub>-cord істотно гасять флуоресценцію протеїнів при збудженні молекул довжиною хвилі 280 нм і значно менше при збудженні 296 нм, що може свідчити про можливу роль тирозину в процесах зв'язування цих препаратів з білками. Разом з тим у випадку 2',5'-A<sub>3</sub>-ero і 2',5'-A<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub> їх взаємодія з білками може відбуватися за участю тирозину і триптофану, оскільки спостерігається значне збільшення гасіння флуоресценції білків при довжині хвилі збудження 296 нм, особливо для 2',5'-A<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>. Обговорюються можливі механізми взаємодії олігоаденілатів з досліджуваними білками.*

Відомо, що 2',5'-олігоаденілати відіграють ключову роль у механізмі противірусної дії інтерферону, беруть участь у процесах клітинного росту та диференціації, апоптозу і можуть бути перспективними препаратами в онкології [1]. Біологічна активність олігоаденілатів пов'язана з активуванням ферменту РНКазы L, яка специфічно розщеплює вірусні мРНК і, таким чином, забезпечує противірусну дію. Активація можлива тільки фосфорильованими 2',5'-А, фосфатні групи яких забезпечують зв'язування з ензимом. Дефосфорильовані (“корові”) 2',5'-А не зв'язуються з РНКазою L та не активують її [1, 2]. Проте “корові” олігоаденілати є інгібіторами відторгнення тканин після трансплантації, мають кардіопротекторну дію, стимулюють проліферацію стовбурових клітин кісткового мозку [3, 4]. Механізм дії “корових” 2',5'-А вивчено недостатньо. Невідомі всі протеїни-мішені даних сполук, тому пошук цих протеїнів та вивчення їх взаємодії з 2',5'-А обумовлені необхідністю зрозуміти дію цих речовин у клітині.

Одним із підходів до вивчення механізмів білково-нуклеїнових взаємодій є застосування методу флуоресцентної спектроскопії, який дав би можливість відібрати ефективні препарати для подальшого вивчення. В роботі досліджували вплив 2',5'-A<sub>3</sub> та його аналогів на власну флуоресценцію альбуміну, інтерферону, інсуліну, імуноглобуліну G та кальмодуліну. Ми припускаємо, що 2',5'-олігоА можуть діяти за принципом аптамерів, які здатні взаємодіяти з певними білками. Якщо аптамери пригнічують активність цих білків, то виступають як потужний специфічний агент. Такі аптамери одержані на ряд білків ВІЛ [5]. Ми вважали за доцільне перевірити досить широкий спектр білків.

Універсальність транспортної функції альбуміну забезпечується його унікальною здатністю зв'язувати ліганди різної хімічної природи. Крім низькомолекулярних лігандів, альбумін зв'язує також і біополімери, наприклад пептиди і нуклеїнові кислоти. Вивчення дії

---

© В. В. Ткачук, С. М. Левченко, А. В. Ребрів, Л. В. Ткачук, С. І. Черних, З. Ю. Ткачук, 2015

олігонуклеотидів на альбумін є перспективним в плані розширення знань про роль і функції альбумін-нуклеїнових комплексів у процесах життєдіяльності людини в нормі та при патології і також може сприяти розробці нових діагностичних методів та ліків. Альбумін взаємодіє з багатьма ендогенними і екзогенними сполуками, які зв'язуються з високоафінними сайтами з типовими константами зв'язування ( $K_{зв}$ )  $10^4$ – $10^6$   $M^{-1}$ . Показано, що водневі та гідрофобні зв'язки відіграють головну роль у даному процесі,  $K_{зв} = 10^4$   $M^{-1}$  [6].

Наступним досліджуваним білком був інтерферон людини, вивчення якого могло б вказати на новий механізм противірусної дії “корових” олігоаденілатів. Відомо, що 26-членний олігонуклеотидний аптамер специфічно зв'язується з інтерфероном і змінює його вторинну і третинну структуру [7]. Серед літературних джерел ми не знайшли даних щодо зв'язування інсуліну з олігонуклеотидами, але збільшується число доказів, що рецептори інсуліну і інсуліноподібного фактору росту являють собою важливі мішені для розвитку нових способів лікування діабету і раку. Характеристики зв'язування інсуліну з його рецепторами вивчались методом флуоресцентної спектроскопії [8]. У випадку імуноглобулінів досліджувалися конформаційні зміни протеїнів, що відбуваються при взаємодії антиген–антитіло [9]. Кальмодулін є одним із найбільш детально вивчених Са-зв'язуючих білків, які здатні регулювати активність аденілатациклази, NO-синтетази, фосфодіестерази, тобто брати участь в метаболізмі циклічних АМФ і ГМФ [10]. На нашу думку, доцільним є дослідити взаємодію олігоаденілатів з кальмодуліном.

**Матеріали і методи.** У дослідженні використовували інтерферон людини (“Інтерфармбіотек”, Україна) імуноглобулін G людини (“Octapharma”, Швейцарія), альбумін сироватки людини “Біофарм”, Україна), рекомбінантний людський інсулін (завод “Індар”, Україна) та кальмодулін. Досліджували взаємодію цих протеїнів з природним тримером 2',5'-А та його аналогами, що містять в 3' положенні залишки 8-аміноаденозину (2',5'-А-NH<sub>2</sub>), інозину (2',5'-А-іно), кордицепіну (2',5'-А-cord), епоксиаденозину (2',5'-А-еро), тіофосфатний аналог тримера (2',5'-А-thio). Препарати 2',5'-А одержані методами, описаними в [11].

**Флуоресцентні дослідження.** Реакцію зв'язування 2',5'-А з відповідними протеїнами проводили в буфері *трис*-HCl (20 мМ, рН 7,6), який містив 100 мМ NaCl та 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, інкубуючи 10 хв при 37 °С. Спектри флуоресценції записували на спектрофлуориметрі Saqu Eclipse (Австралія) при довжині хвилі збудження 280 та 296 нм у кварцовій кюветі 10 мм. Концентрація білків у всіх випадках становила 3,5 мкМ, крім інсуліну (35 мкМ), а 2',5'-олігоА — 0,5 мкМ. Величину гасіння флуоресценції  $Q$  визначали, як відносне зниження інтенсивності емісії протеїну за наявності оліго-А<sub>3</sub> порівняно з контролем — інтенсивністю емісії самого протеїну:

$$Q = \frac{F_0 - F}{F_0} \cdot 100\%,$$

де  $F$  — інтенсивність флуоресценції протеїну за наявності 2',5'-олігоА,  $F_0$  — інтенсивність флуоресценції самого протеїну в тих самих умовах.

**Мас-спектрометричний аналіз** проводили на MALDI-TOF-спектрометрі Voyager DE PRO (“Applied Biosystems”, США). Паспортна точність вимірювання мас становить 0,05%, вимірювання проводили в діапазоні 700–50 000  $m/z$ . Застосовували H<sup>+</sup>-матричну іонізацію білків і олігонуклеотидів за допомогою синапінової кислоти (“Sigma-Aldrich”, США). Молекулярну масу визначали, віднімаючи від значення  $m/z$  однозарядженого іона одиницю (молекулярна маса H<sup>+</sup> становить 1,007 Да). Проводили калібрування приладу з викорис-

танням калібрувальної суміші calmix3 від виробника мас-спектрометра. Матричний реагент готували, розчиняючи синапінову кислоту (10 мг/мл) в суміші рівних об'ємів ацетонітрилу та 0,1%-го водного розчину трифтороцтової кислоти ("Sigma-Aldrich"). Для нанесення брали 1,5–2 мкл суміші розчинів досліджуваного зразка й реагенту (1 : 1). Використовували лінійний режим роботи часоперельотного детектора, прикладена напруга становила 25 кВ, час затримки екстракції іонів 500 нс. Коливання значення молекулярної маси для однієї речовини в різних спектрах пояснюється зміною роздільної здатності приладу залежно від параметрів аналізу й неповною відтворюваністю геометрії піків. Зменшення роздільної здатності призводить до уширення піків і, як наслідок, до збільшення різниці між експериментально отриманою та розрахованою масою.

**Результати та їх обговорення.** З наведених у табл. 1 результатів простежується загальна тенденція, а саме гасіння флуоресценції досліджуваних протеїнів олігоА<sub>3</sub> та його похідними. Гасіння флуоресценції широко використовують для вивчення конформаційної динаміки біополімерів [12]. На фоні загальних тенденцій виявлені певні відмінності у дії олігоаденілатів на різні білки. Так, 2',5'-олігоА<sub>3</sub> майже однаково гасить флуоресценцію всіх досліджуваних білків при  $\lambda_{36} = 280$  нм (41–47%), а кальмодуліну — на 69% і практично не гасить її при  $\lambda_{36} = 296$  нм, крім кальмодуліну (12,7%), що може свідчити про ключову роль тирозину у взаємодії 2',5'-А<sub>3</sub> із досліджуваними протеїнами. Це пов'язано з тим, що збудження молекул на довжині хвилі 280 нм зумовлює флуоресценцію і тирозину і триптофану, тоді як при збудженні на довжині хвилі 296 нм спостерігається триптофанова флуоресценція [13].

Аналог 2',5'-А<sub>3</sub>-еро також при  $\lambda_{36} = 280$  нм гасить флуоресценцію всіх білків (63–72%), в той же час гасіння флуоресценції спостерігається і при  $\lambda_{36} = 296$  нм (31–35%), крім інсуліну, що свідчить про роль триптофану у взаємодії 2',5'-А<sub>3</sub>-еро з досліджуваними білками.

2',5'-А<sub>3</sub>-thio гасить флуоресценцію альбуміну та імуноглобуліну на 33 і 27% відповідно, а інтерферону та інсуліну — на 50 і 59% відповідно при  $\lambda_{36} = 280$  нм. При  $\lambda_{36} = 296$  нм гасіння флуоресценції становить 5–14%, у випадку інсуліну флуоресценція відсутня. Таким чином, ми спостерігаємо певні відмінності у дії 2',5'-А<sub>3</sub>-thio на флуоресценцію білків, що також свідчить про роль тирозину у зв'язуванні білків з олігоаденілатами.

Найбільш сильним гасником флуоресценції білків виявився 2',5'-А<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>, який однаково гасив флуоресценцію всіх досліджуваних білків при довжині хвилі збудження 280 нм (54–68%) і 296 нм (46–57%), що свідчить про роль і тирозину і триптофану у зв'язуванні цього похідного олігоаденілату з альбуміном, інтерфероном і імуноглобуліном. Інсулін не має триптофанових залишків у своїй молекулі, а має по чотири тирозинових залишки в А і В ланцюгах.

Таблиця 1. Вплив 2',5'-олігоаденілатів на флуоресценцію протеїнів при  $\lambda_{36}$  280 та 296 нм

Олігоаденілат, 5 · 10 <sup>-5</sup> М	Гасіння флуоресценції Q, %									
	Альбумін		Інтерферон		Інсулін		Імуноглобулін G		Кальмодулін	
	280 нм	296 нм	280 нм	296 нм	280 нм	296 нм	280 нм	296 нм	280 нм	296 нм
2',5'-А <sub>3</sub>	47	4	41	0	47	0	42	0,6	69,0	12,7
2',5'-А <sub>3</sub> -еро	69	33	63	31	72	0	67	35	54,5	16,5
2',5'-А <sub>3</sub> -thio	33	9	50	14,3	59,3	0	27	4,8	—	—
2',5'-А <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	60	46	67	57	68	0	54	53	—	—
2',5'-А <sub>3</sub> -ino	28	0	40	11	55	0	37,5	5	—	—
2,5-А <sub>3</sub> -cord	31	0	58	15,4	61	0	60	16	—	—

Дослідження впливу 2',5'-A<sub>3</sub>-ino і 2',5'-A<sub>3</sub>-cord на емісію тирозину і триптофану досліджуваних білків показало, що ці препарати сильніше гасять тирозинову флуоресценцію інтерферону (40 та 58% відповідно), інсуліну (55 та 61%), імуноглобуліну (40 та 60%) і меншою мірою альбуміну (28 та 31%). Незначне гасіння триптофанової емісії спостерігалось для інтерферону (11 та 15%) та імуноглобуліну (5 та 16%). 2',5'-A<sub>3</sub>-ino істотно гасив тирозинову флуоресценцію інсуліну (55%), інтерферону (40%), імуноглобуліну (37,5%), альбуміну (28%) і практично не гасив триптофанову флуоресценцію (інтерферону на 11%, імуноглобуліну на 5%).

Підсумовуючи отримані результати, можна припустити, що взаємодія триолігоаденілатів з досліджуваними білками в основному відбувається за участю залишків тирозину або в безпосередній близькості до них, а роль триптофану, як правило, менша, але у випадку використання як ліганду 2',5'-A<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub> і деякою мірою 2',5'-A<sub>3</sub>-еро ключову роль у взаємодії протеїнів з ними може відігравати триптофан. Згідно з отриманими результатами, також можна припустити імовірність гасіння власної флуоресценції білків за рахунок перепоглинання молекулами аденілатів фотонів збудження флуоресценції протеїну. Можливе, також, перехоплення енергії електронного збудження тирозинових груп молекулами олігоаденілатів, відомо, що в молекулі альбуміну знаходиться 1 триптофанова група і 18 тирозинових груп. Крім того, можливе утворення комплексів між похідними 2',5'-A<sub>3</sub> та оптичними центрами протеїну. І, нарешті, можливий варіант, коли відбувається зміна конформації макромолекул протеїну під час контакту з 2',5'-A. Для більш глибокого розуміння взаємодії протеїнів з молекулами олігоаденілатів були проведені додаткові дослідження з використанням мас-спектрометрії. Адже саме мас-спектрометрія MALDI-TOF (matrix assisted laser desorbption and ionisation time-of-flight mass spectrometry, часоперельотна мас-спектрометрія з матрично-активованою лазерною десорбцією/іонізацією) є одним із сучасних методів, за допомогою якого можна дослідити цю проблему. Метод успішно застосовується для дослідження біомолекул: амінокислот, пептидів і білків, олігонуклеотидів і нуклеїнових кислот [14, 15].

В роботі методом мас-спектрометрії MALDI-TOF досліджували серію коротких 2',5'-A та їх комплекси з білком —  $\alpha$ -інтерфероном. Перш за все з високою точністю (<1%) було визначено молекулярну масу досліджуваних речовин (табл. 2) та підтверджено їх чистоту.

Додавання до інтерферону 2',5'-A<sub>3</sub> та його модифікованих аналогів призвело до значних змін у їх мас-спектрах. Зокрема, в спектрі системи інтерферон-2',5'-A<sub>3</sub> з'являються піки зі значеннями  $m/z$  20179, 21112, 22044, 22998 та 23899 (рис. 1, а). Вони відповідають комплексам, що складаються з одної молекули  $\alpha$ -інтерферону та одної-п'яти молекул 2',5'-A<sub>3</sub>. Відхилення експериментального значення  $m/z$  від розрахованого теоретично для комплексів білка з одною та двома молекулами 2',5'-A<sub>3</sub> становить відповідно 0,09 та 0,06%.

У мас-спектрі суміші  $\alpha$ -інтерферону й 2',5'-A<sub>3</sub>-еро (див. рис. 1, б) з'являється новий пік з  $m/z = 20177$ , що свідчить про зв'язування  $\alpha$ -інтерферону з молекулою 2',5'-A<sub>3</sub>-еро

Таблиця 2. Розраховані значення молекулярної маси олігорибонуклеотидів та значення  $m/z$ , отримані безпосередньо зі спектрів

Олігоаденілат	Хімічна формула	Молекулярна маса, М	$m/z$
2',5'-A <sub>3</sub>	C <sub>30</sub> H <sub>37</sub> N <sub>15</sub> O <sub>16</sub> P <sub>2</sub>	925,65	928,12
2',5'-A <sub>3</sub> -еро	C <sub>30</sub> H <sub>35</sub> N <sub>15</sub> O <sub>15</sub> P <sub>2</sub>	907,65	913,27
2',5'-A <sub>3</sub> -ino	C <sub>30</sub> H <sub>36</sub> N <sub>14</sub> O <sub>17</sub> P <sub>2</sub>	926,63	927,66
2',5'-A <sub>3</sub> -cord	C <sub>30</sub> H <sub>36</sub> N <sub>15</sub> O <sub>15</sub> P <sub>2</sub>	908,64	910,78

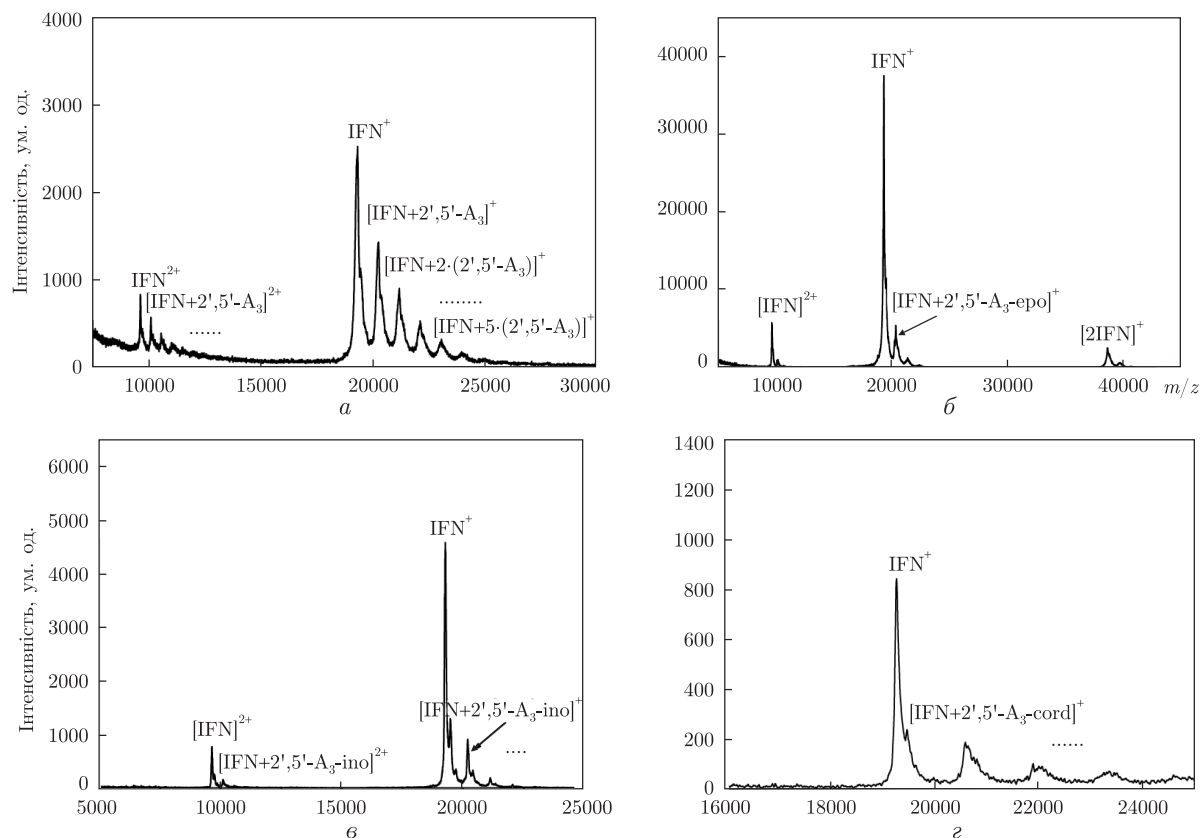


Рис. 1. MALDI-мас-спектр суміші  $\alpha$ -інтерферону з 2',5'-А<sub>3</sub> (а), 2',5'-А<sub>3</sub>-еро (б), 2',5'-А<sub>3</sub>-іно (в), 2',5'-А<sub>3</sub>-сорд (г)

(відхилення від теоретичного значення молекулярної маси комплексу 0,06%). У спектрі присутні також два менш інтенсивних піки, що відповідають комплексам молекули інтерферону і двох та трьох молекул олігонуклеотиду. Отже, епоксисаналог 2',5'-А<sub>3</sub> також зв'язується з інтерфероном.

Аналогічна ситуація спостерігалася і для інозинвмісного олігомеру — 2',5'-А<sub>3</sub>-іно (див. рис. 1, в). Згідно з отриманими даними, молекула інтерферону може приєднувати тільки дві молекули 2',5'-А<sub>3</sub>-іно.

Експериментальні результати дещо відрізняються у випадку суміші інтерферону-2',5'-А<sub>3</sub>-сорд (див. рис. 1, г). Крім піків, які належать білку, його мас-спектр містить три додаткові піки, які належать комплексам між молекулою інтерферону з одною, двома і трьома молекулами 2',5'-А<sub>3</sub>-іно.

Таким чином, згідно з даними, отриманими з мас-спектрів, усі досліджені 2',5'-олігоаденілати характеризуються здатністю зв'язуватися з інтерфероном. Варто зазначити, що ці дані узгоджуються з результатами, отриманими методом флуоресцентної спектроскопії.

Отже, за допомогою методів флуоресцентної спектроскопії та методу MALDI-TOF мас-спектрометрії досліджено здатність 2',5'-олігоаденілатів зв'язуватися з різними білками, зокрема з  $\alpha$ -інтерфероном, що входить до системи 2',5'ОАС/РНКаз L, у кількості від одної до п'яти молекул ліганду на молекулу білка, і утворювати стійкі комплекси.

1. *Player M. R., Torrence P. F.* The 2–5A system: modulation of viral and cellular processes through acceleration of RNA degradation // *Pharmacol. Ther.* – 1998. – **78**, No 2. – P. 55–113.
2. *Malmgaard L.* Induction and regulation of IFNs during viral infections // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2004. – **24**, No 8. – P. 439–454.
3. *Tkachuk Z., Kvasnyuk E., Matsuka G., Mikhailopulo I.* (2'-5') Oligoadenylate analogues useful as inhibitors of host-vs.-graft response // *Pat. US 5571799.* – Publ. 05.11.96.
4. *Ткачук З. Ю., Дубей І. Я., Яковенко Т. Г. та ін.* Синтез 2'-5'-олігоаденілатів та їхній вплив на проліферацію і міграцію стовбурових клітин кісткового мозку мишей *in vitro* та *in vivo* // *Biopolymers and Cell.* – 2007. – **23**, № 1. – P. 14–20.
5. *Sullenger B. A., Gilboa E.* Emerging clinical applications of RNA // *Nature.* – 2002. – **418**, Iss. 6894. – P. 252–258.
6. *Kandagal P. B., Shaikh S. M. T., Manjunatha D. H. et al.* Spectroscopic studies on the binding of bioactive phenothiazine compounds to human serum albumin // *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* – 2007. – **189**. – P. 121–127.
7. *Balasubramanian V., Nguen L. T., Balasubramanian S. V., Ramanathan M.* Interferon-gamma-inhibitory oligodeoxynucleotides alter the conformation of interferon-gamma // *Mol. Pharmacol.* – 1998. – **53**, No 5. – P. 926–932.
8. *Zhong Z.-H., Pramanik A., Ekberg K. et al.* Insulin binding monitored by fluorescence correlation spectroscopy // *Diabetologia.* – 2001. – **44**, Iss. 9. – P. 1184–1188.
9. *Hill R. J.* Quenching of tryptophan fluorescence in rabbit and bovine IgG // *Eur. J. Immunol.* – 1973. – **3**, No 6. – P. 330–334.
10. *Гусев Н. Б.* Внутриклеточные Са-связывающие белки. Ч. 2. Структура и механизм функционирования // *Сорос. образоват. журн.* – 1998. – № 5. – С. 11–16.
11. *Дубей І. Я., Дубей Л. В.* Синтез (2'-5')-триаденілатів та їхніх аналогів з використанням О-нуклеофільного каталізу реакції міжнуклеотидної конденсації // *Biopolymers and Cell.* – 2007. – **23**, № 6. – P. 538–544.
12. *Lakowicz J. R.* Principles of fluorescence spectroscopy. – 3rd ed. – New York: Springer, 2006. – 954 p.
13. *Seedher N., Kanojia M.* Mechanism of interaction of hypoglycemic agents glimepiride and glipizide with human serum albumin // *Centr. Eur. J. Chem.* – 2009. – **7**, No 1. – P. 96–104.
14. *Gogichaeva N. V., Williams T., Alterman M. A.* MALDI-TOF tandem mass spectrometry as a new tool for amino acid analysis // *J. Amer. Soc. Mass Spectrom.* – 2007. – **18**, No 2. – P. 279–284.
15. *McIver R. T. Jr., Li Y., Hunter R. L.* High-resolution laser desorption mass spectrometry of peptides and small proteins // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1994. – **91**, No 11. – P. 4801–4805.

*Інститут молекулярної біології і генетики*

*НАН України, Київ*

*Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна*

*НАН України, Київ*

*Надійшло до редакції 29.10.2014*

**В. В. Ткачук, С. Н. Левченко, А. В. Ребриев, Л. В. Ткачук, С. И. Черных,  
З. Ю. Ткачук**

### **Исследование взаимодействия “коровых” 2',5'-олигоаденилатов с некоторыми протеинами методом флуоресцентной спектроскопии**

*Изучали взаимодействие “корового” олигоаденилата (2',5'-A<sub>3</sub>) и его аналогов с альбумином, интерфероном, инсулином, иммуноглобулином и кальмодулином методом флуоресцентной спектроскопии и масс-спектрометрии. Показано, что все исследуемые олигоаденилаты тушат собственную флуоресценцию этих белков в разной степени и это тушение имеет концентрационную зависимость. 2',5'-A<sub>3</sub> и его аналоги 2',5'-A<sub>3</sub>-thio, 2',5'-A<sub>3</sub>-ipo и 2',5'-A<sub>3</sub>-cord существенно тушат флуоресценцию протеинов при возбуждении молекул длиной волны 280 нм и значительно меньше при возбуждении 296 нм, что может свидетельствовать о возможной роли тирозина в процессах связывания этих препаратов с белками. В то же время в случае 2',5'-A<sub>3</sub>-ero и 2',5'-A<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub> их взаимодействие с белками может происхо-*

доть с участием тирозина и триптофана, поскольку наблюдается значительное увеличение тушения флуоресценции белков при длине волны возбуждения 296 нм, особенно для 2',5'-A<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>. Обсуждаются возможные механизмы взаимодействия олигоаденилатов с исследуемыми белками.

**V. V. Tkachuk, S. M. Levchenko, A. V. Rebriev, L. V. Tkachuk,  
S. I. Chernykh, Z. Yu. Tkachuk**

### **Investigation of the interaction of “core” 2',5'-oligoadenylates with some proteins by fluorescence spectroscopy**

*The interactions between “core” oligoadenylates (2',5'-A<sub>3</sub>) and its analogs with albumin, interferon, insulin, immunoglobulin, and calmodulin are studied, by using fluorescence spectroscopy and mass spectrometry. It is shown that all oligoadenylates quench the intrinsic fluorescence of these proteins in varying degrees. Quenching degree depends on the oligoadenylates concentration. 2',5'-A<sub>3</sub> and its analogs 2',5'-A<sub>3</sub>-thio, 2',5'-A<sub>3</sub>-ino, and 2',5'-A<sub>3</sub>-cord substantially quench the proteins fluorescence excited at a wavelength of 280 nm and do significantly less at an excitation wavelength of 296 nm that may indicate the possible tyrosine role in the binding of these drugs to proteins. At the same time, in the case of 2',5'-A<sub>3</sub>-epo and 2',5'-A<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>, their interaction with proteins can occur via tyrosine and tryptophan, as there is a significant increase in the proteins fluorescence quenching at an excitation wavelength of 296 nm, especially for 2',5'-A<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>. Possible mechanisms of interaction between the investigated proteins and oligoadenylates are under discussion.*