

УДК 577.323

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КОВАЛЕНТНО ПРИСОЕДИНЕННОГО ФЕНАЗИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ НА ПЕРЕХОД СПИРАЛЬ-КЛУБОК В СМЕШАННОЙ СИСТЕМЕ $POLY(rA)-(dT)_{14}$

О.А. Рязанова<sup>1</sup>, И.Я. Дубей<sup>2</sup>, В.Н. Зозуля<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Физико-технический институт низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины,  
пр. Ленина 47, 61103, Харьков, e-mail: [ryazanova@ilt.kharkov.ua](mailto:ryazanova@ilt.kharkov.ua)

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины,  
ул. Заболотного 150, 03143, Киев

Поступила в редакцию 3 июня 2008 г.

Исследовано действие имидазо-(4,5-d)-феназин-N1-β-D-рибофуранозида (Pzp), ковалентно присоединенного к 3' – концу  $(dT)_{14}$ , на конформационные переходы в смешанной дуплексной системе  $poly(rA)-(dT)_{14}$ . Измерения проведены в Na-какодилатном буфере, pH6,9, с содержанием 0,1 М NaCl, при концентрациях полинуклеотидов 10–300 мкМ пар оснований. Комплексообразование  $poly(rA)$  с  $(dT)_{14}$  и  $(dT)_{14}Pzp$  было изучено методом термической денатурации с регистрацией кривых плавления по изменениям УФ поглощения и интенсивности флуоресценции присоединенного феназинового красителя. Установлено, что ковалентное присоединение нуклеозидного производного имидазофеназина существенно повышает термостабильность дуплексов, образуемых  $(dT)_{14}$  с  $poly(rA)$ , увеличивая температуру конформационного перехода спираль-клубок на 7 °С, что вызвано интеркаляцией хромофора красителя между парами адениновых оснований. С помощью модели “двух состояний” для изучаемых систем определены термодинамические параметры перехода двойная спираль – клубок. Продемонстрировано, что присоединение красителя приводит к уменьшению энтальпии перехода, однако наблюдаемый выигрыш в свободной энергии комплексообразования,  $\Delta G$ , обеспечивается уменьшением изменения энтропии.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** термическая денатурация, УФ-спектроскопия, флуоресцентная спектроскопия, переход спираль-клубок,  $poly(rA)$ ,  $(dT)_{14}$ , имидазофеназин.

Одним из наиболее перспективных направлений науки последних десятилетий стала разработка нового класса противовирусных и противовоспалительных лекарственных препаратов направленного действия на основе синтетических олигонуклеотидов [1,2]. Можно выделить три класса терапевтических препаратов такого типа. Первые два класса – антисмысловые олигонуклеотиды, образующие двухспиральные комплексы с РНК, и антигенные олигонуклеотиды, образующие трехспиральные комплексы с ДНК – действуют как блокировщики экспрессии генетического кода [3,4]. Третий класс – олигонуклеотиды-аптамеры – могут, подобно антителам, образовывать связи с определенными белками, блокируя их [5].

Антисмысловые олигонуклеотидные аналоги были предложены с целью блокирования вирусных или клеточных РНК, участвующих в процессах трансляции и транскрипции, что приводит к подавлению синтеза белка, вызывающего заболевание. Расчеты и эмпирические исследования показали, что для специфичности к мишени олигонуклеотиды должны иметь длину порядка 15-18 оснований. Для улучшения терапевтических свойств антисмысловые олигонуклеотиды можно различным образом модифицировать. Одним из способов модификации заключается в присоединении к 3'–концу олигонуклеотидной последовательности молекул интеркалирующих красителей [6-8], что существенно повышает стабильность образуемого с мишенью комплекса и его устойчивость к действию экзонуклеазы [9]. Поэтому постоянно проводится

интенсивный поиск подходящих ароматических хромофоров, модификация которыми позволила бы существенно повысить термостабильность комплексов, образуемых антисмысловыми олигонуклеотидами с РНК. Наиболее распространенным является способ присоединения красителя через гибкий линкер, например, полиметиленовую цепочку. Альтернативный подход предусматривает встраивание флуоресцирующего нуклеозидного аналога в олигонуклеотидную цепь вместо «родного» нуклеотида [10]. Преимущество последнего способа заключается в предопределенном положении хромофора при его интеркаляции между нуклеотидными основаниями в процессе формирования дуплекса, что позволяет использовать присоединенный краситель в качестве эффективного флуоресцентного зонда при изучении структуры и динамики нуклеиновых кислот.

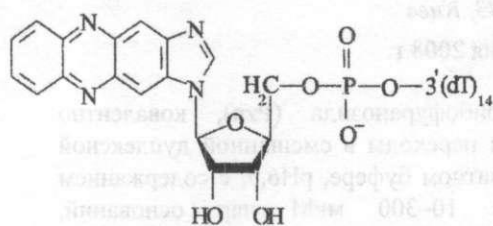


Рис. 1. Структурная формула модифицированного фенозиновым красителем (dT)<sub>14</sub>.

Выбор в нашей работе синтетического гомополинуклеотида poly(rA) в качестве РНК-мишени обусловлен тем, что участки poly(rA) длиной около 200 нуклеотидов, ковалентно связанные с 3'-концом молекул полидисперсной ядерной РНК и информационной РНК, были обнаружены в клетках животных и многих вирусах [11,12]. Для модификации антисмыслового олигонуклеотидного аналога (dT)<sub>14</sub> в качестве интеркалирующего лиганда нами был использован синтезированный в ИМБГ НАН Украины имидазо-(4,5-d)-феназин-N1-β-D-рибофуранозид, (Pzn), который был ковалентно присоединен к 3'-концу олигонуклеотида через фосфодиэфирную связь (Рис.1). Хромофор данного красителя отличается от классического феназина наличием еще одного плоского пятичленного кольца, сопряженного с π-электронной системой феназиновой части молекулы [13].

Проведенное ранее исследование влияния Pzn, присоединенного к 3'-концу декатимидилата [14] выявило существенное повышение термостабильности дуплекса poly(rA)·(dT)<sub>10</sub>. Целью настоящей работы было изучение влияния Pzn, ковалентно присоединенного к (dT)<sub>14</sub>, на формирование дуплексов (dT)<sub>14</sub> с poly(rA) и на термодинамические параметры перехода «двойная спираль – клубок».

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Натриевую соль poly(rA) (Sigma Chemical Co.) использовали без дополнительной очистки. Олигодезоксинуклеотид (dT)<sub>14</sub> был синтезирован в соответствии со стандартной Н-фосфонатной процедурой [15]. Синтез красителя имидазо-[4,5-d]-феназин-N1-β-D-рибофуранозид (Pzn) был осуществлен в соответствии с [10, 16, 17]. Конъюгат (dT)<sub>14</sub> с рибонуклеозидом имидазофеназина, (dT)<sub>14</sub>Pzn (Рис. 1), был получен путем присоединения рибонуклеозида феназола к 3'-концу (dT)<sub>14</sub> посредством фосфодиэфирной связи с помощью метода твердофазного синтеза [10, 14]. В качестве растворителя во всех экспериментах использовался 10 мМ Na-какодилатный буфер, рН6,9, содержащий 0,5 мМ ЭДТА, приготовленный на деионизованной дистиллированной воде, в который добавляли NaCl до концентрации 0,1 М.

Концентрацию олиго- и полинуклеотидов определяли спектрофотометрически, используя следующие коэффициенты молярной экстинкции:  $\epsilon_{257} = 10100 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  для poly(rA) (при 20 °С) [18], и  $\epsilon_{266} = 8560 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  для (dT)<sub>14</sub> (при 21-23 °С) [19]. Концентрацию (dT)<sub>14</sub>Pzn рассчитывали по поглощению феназинового остатка в

видимой области спектров поглощения, исходя из  $\epsilon_{384} = 22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  [14].

Комплексообразование  $\text{poly}(\text{rA})$  с олигонуклеотидами  $(\text{dT})_{14}$  и  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  было изучено методом термической денатурации с регистрацией кривых плавления по изменениям УФ поглощения при 260 нм, и интенсивности флуоресценции присоединенного феназинового красителя в максимуме полосы при 546 нм. Исследовали растворы смесей поли- и олигонуклеотидов, содержащих равные концентрации адениновых и тиминных оснований, для которых концентрация АТ-пар варьировалась в диапазоне от 10 до 300 мкМ.

Абсорбционные кривые плавления комплексов были получены на спектрофотометре SPECORD UV-VIS (VEB Carl Zeiss, Йена, Германия) в кварцевой кювете при длине оптического пути луча, равной 0,2 и 1 см. Флуоресцентные измерения выполнялись в этой же кювете методом счета фотонов на лабораторном спектрофлуориметре [20]. Кювету фиксировали в медном держателе, температура которого регулировали с помощью управляемого компьютером элемента Пелтье, скорость нагрева составляла  $0,5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{мин}$ . Возбуждение флуоресценции осуществляли стабилизированным излучением галогенной лампы, из которого с помощью двойного монохроматора выделялась спектральная полоса с максимумом интенсивности при 450 нм. Счет фотонов производился путем накопления импульсов за 10 с для каждой экспериментальной точки.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектр поглощения конъюгата  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  в водных буферных растворах (Рис. 2) в УФ-области состоит из интенсивной полосы с максимумом при 265 нм, являющейся суперпозицией полос имидазофеназина при 262 нм и олиготимидилата при 266 нм. В видимой области спектр обусловлен исключительно поглощением феназиновой части и состоит из менее интенсивной полосы с максимумом при 384,5 нм и широкого длинноволнового плеча, простирающегося до 500 нм [21]. При возбуждении в области длинноволновой полосы поглощения присоединенного имидазофеназина наблюдается флуоресценция с максимумом при 546 нм.

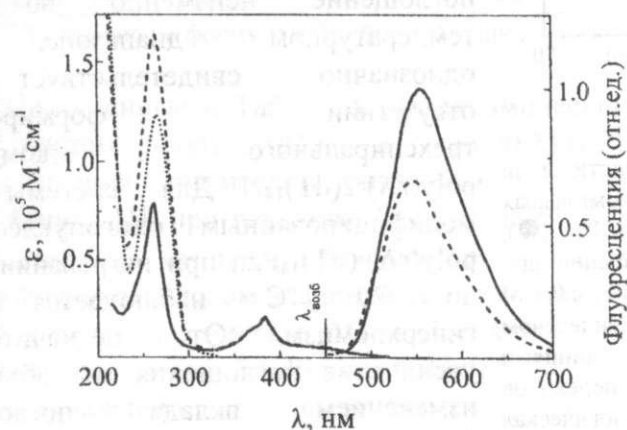


Рис. 2. Спектры поглощения и флуоресценции свободного феназина (—),  $(\text{dT})_{14}$  (.....) и  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  (-----) при  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Возбуждение флуоресценции осуществляли светом с  $\lambda = 450 \text{ nm}$ .

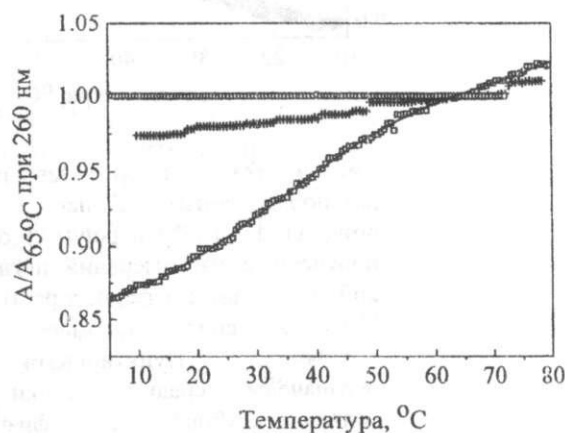
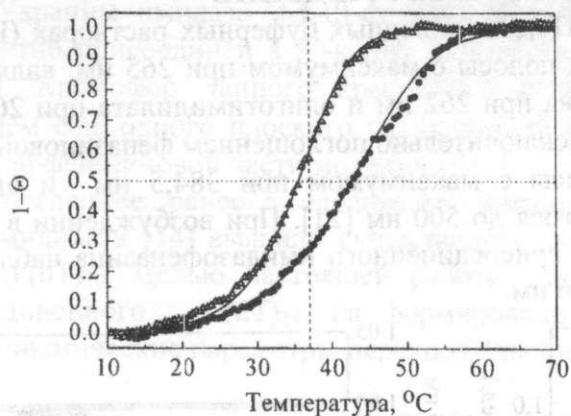


Рис. 3. Температурная зависимость поглощения при 260 нм для  $(\text{dT})_{14}$  (○),  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  (+) и  $\text{poly}(\text{rA})$  (□). Сплошной линией показана аппроксимация кривой  $\text{poly}(\text{rA})$  полиномом 5 степени. Данные нормированы на значение поглощения при  $65 \text{ }^\circ\text{C}$ .

На Рис. 3 приведены нормированные температурные зависимости поглощения в УФ-области для отдельно взятых исходных биополимеров: олигонуклеотида  $(\text{dT})_{14}$ , его конъюгата с феназиновым красителем,  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$ , и гомополинуклеотида  $\text{poly}(\text{rA})$ .

Отсутствие зависимости поглощения  $(dT)_{14}$  от температуры свидетельствует о полной разупорядоченности структуры олигонуклеотида. Таким образом, наблюдаемый гиперхромизм (2,5%) для  $(dT)_{14}Pzn$  при повышении температуры (Рис. 3) связан исключительно с поведением феназиновой части конъюгата и может быть обусловлен нарушением при нагревании стекинг-взаимодействия хромофора с соседним тиминным основанием. Как известно, в нейтральных водных растворах  $poly(rA)$  имеет упорядоченную односпиральную структуру со стекингом оснований, нарушение которой при нагревании приводит к росту поглощения (Рис. 3). Данные зависимости в дальнейшем были использованы для определения верхней базовой линии при расчете перехода спираль-клубок из абсорбционных измерений.

Измерение температурных зависимостей поглощения при 260 нм растворов смесей  $poly(rA)+(dT)_{14}$  и  $poly(rA)+(dT)_{14}Pzn$  в диапазоне концентраций 10–300 мкМ АТ-пар показало, что кривые плавления имеют S-образную форму, характерную для кооперативного перехода спираль – клубок. Увеличение концентрации АТ-пар сопровождалось ростом температуры перехода,  $t_m$ . Однако, при концентрациях олигонуклеотидов ниже 100 мкМ пар оснований не достигалось полноты формирования двухспиральных структур в нижнем температурном диапазоне, что проявлялось в уменьшении степени гипохромизма поглощения. Этот факт может быть объяснен в соответствии с моделью "застежка-молния" [22], согласно которой доля спаренных оснований главным образом определяется концентрационным параметром,  $\gamma$ , который прямо пропорционален константе нуклеации  $\beta$  и концентрации нитей



**Рис. 4.** Температурные зависимости доли разупорядоченных АТ-пар в комплексах  $poly(rA) \cdot (dT)_{14}$  ( $\Delta$ ) и  $poly(rA) \cdot (dT)_{14}Pzn$  ( $\bullet$ ), полученные из измерений поглощения при 260 нм в водных буферных растворах с 0.1 М NaCl.  $\theta$  - доля олигомера в дуплексном состоянии. Пунктирными линиями обозначены средние точки переходов "спираль-клубок" и физиологическая температура. Сплошными линиями показаны результаты аппроксимации кривых в рамках модели двух состояний при значениях  $\Delta H$  и  $\Delta S$ , указанных в Табл. 1

феназинового хромофора.

Из полученных данных термической денатурации для систем  $poly(rA) \cdot (dT)_{14}$  и  $poly(rA) \cdot (dT)_{14}Pzn$  при одинаковых концентрациях АТ-пар (100 мкМ) в соответствии со стандартной процедурой [23] были построены переходы спираль-клубок, которые

полимера С:  $\gamma = \beta \cdot C$ .

Для того, чтобы установить, образуются ли в данных системах триплексы, также были измерены температурные зависимости поглощения образцов при 284 нм, в изобестической точке спектров поглощения для АТ-пар. Было показано, что для  $poly(rA) \cdot (dT)_{14}$  поглощение неизменно во всем температурном диапазоне, что однозначно свидетельствует об отсутствии формирования трехспирального комплекса  $poly(rA) \cdot 2(dT)_{14}$ . Для системы с модифицированным олигонуклеотидом  $poly(rA) \cdot (dT)_{14}Pzn$  при нагревании от 10 до 70 °C наблюдается 1.5% гиперхромизм. Это незначительное увеличение поглощения мы объясняем изменением вклада поглощения феназиновой части конъюгата при плавлении комплекса вследствие несовпадения длины волны изобестических точек для АТ-пар и

изображены на Рис. 4. При определении доли спаренных оснований А·Т в качестве верхних базовых линий были использованы аппроксимированные полиномом 5 степени кривые, соответствующие для системы  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}$  сумме отдельно измеренных температурных зависимостей поглощения образующих комплекс компонентов,  $\text{poly}(\text{rA}) + (\text{dT})_{14}$ , а для системы с модифицированным олигонуклеотидом -  $\text{poly}(\text{rA}) + (\text{dT})_{14}\text{Pzn}$ . В качестве нижней базовой линии для обеих систем брали постоянный уровень поглощения дуплексов в нижнем температурном диапазоне. Из рисунка видно, что ковалентное присоединение красителя вызывает увеличение термостабильности двухспиральной конформации комплекса  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}$ . При концентрации АТ-пар равной 100 мкМ увеличение температуры перехода составляет 7 °С, причем для системы с модифицированным олигонуклеотидом наблюдается уменьшение наклона кривой плавления в средней точке перехода, что приводит к увеличению температурного интервала перехода.

Для определения термодинамических параметров перехода двойная спираль-клубок, кривые плавления были аппроксимированы с помощью уравнения модели "двух состояний" [22] (сплошные линии на Рис. 4)

$$\ln \frac{\Theta}{(1-\Theta)^2 C} = \frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{RT}, \quad (1)$$

где  $C$  – полная молярная концентрация нитей  $(\text{dT})_{14}$  или  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$ . Полученные величины изменения энтальпии,  $\Delta H$ , и энтропии,  $\Delta S$ , в процессе перехода спираль-клубок в расчете на моль олигомерных нитей, а также значения температуры средней точки переходов,  $t_m$ , представлены в Таблице 1.

**Таблица 1.** Термодинамические параметры образования дуплексов  $(\text{dT})_{14}$  и  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  с  $\text{poly}(\text{rA})$  в растворах, содержащих 0,1М NaCl, при концентрации компонентов, равной 100 мкМ (в парах оснований).

Дуплекс	$t_m$ , °С	$-\Delta H$ , ккал/моль	$-\Delta S$ , кал/моль·К	$-\Delta G^a$ , ккал/моль
$\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}$	35,5	76	221,2	7,3
$\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}\text{Pzn}$	42,5	53	142,8	8,7

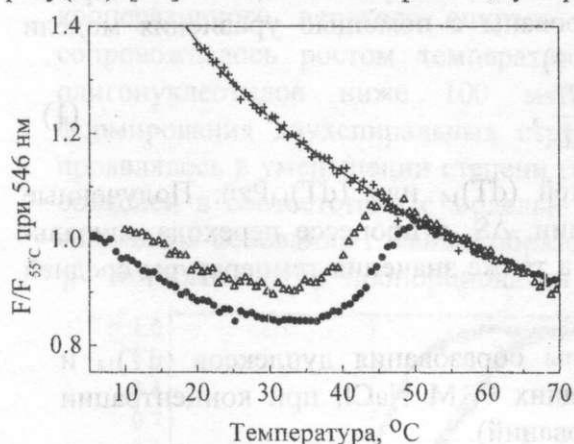
<sup>a</sup> Рассчитано по формуле  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$  при  $t = 37^\circ\text{C}$

Приведенные в Табл. 1 термодинамические параметры перехода спираль-клубок для систем  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}$  и  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  свидетельствуют о том, что модификация красителем олиготимидилата приводит к уменьшению изменения энтальпии,  $\Delta H$ , при переходе. Однако, за счет того, что уменьшается также изменение энтропии,  $\Delta S$ , мы наблюдаем некоторый выигрыш в изменении свободной энергии. При физиологическом значении температуры,  $t = 37^\circ\text{C}$ , и концентрации биополимера 100 мкМ он составляет  $\Delta G = 1,4$  ккал/моль, что приводит к увеличению доли спаренных оснований с 40 % для  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}$  до 73% для  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}\text{Pzn}$ .

Установлено, что повышение температуры перехода спираль-клубок в системы полинуклеотид-олигонуклеотид, обусловленное модификацией олигонуклеотида красителем, тем больше, чем короче олигонуклеотид. Так, при ковалентном присоединении Pzn к  $(\text{dT})_{10}$  наблюдалось повышение температуры плавления комплекса  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{10}$  на 12 °С [14]. Также известно [24], что в ряду двухспиральных структур, образуемых  $\text{poly}(\text{rA})$  с олигонуклеотидами  $(\text{dT})_4$ ,  $(\text{dT})_8$ ,  $(\text{dT})_{12}$ , модифицированными акридиновым производным путем присоединения хромофора через полиметиленовый линкер, увеличение температуры плавления

составило  $> 29^\circ\text{C}$ ,  $23,2^\circ\text{C}$  и  $13,8^\circ\text{C}$  соответственно.

На Рис. 5 приведены флуоресцентные кривые плавления системы  $\text{poly}(\text{rA}) + (\text{dT})_{14}\text{Pzn}$ , полученные при двух различных значениях концентраций биополимера, а также температурная зависимость интенсивности флуоресценции однонитетового модифицированного олигомера  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$ . Видно, что для  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  при увеличении температуры от  $20$  до  $70^\circ\text{C}$  эмиссия присоединенного феназина монотонно уменьшается в  $1,5$  раза. Такое изменение флуоресценции обусловлено динамическим тушением, вызванным столкновениями молекул хромофора и тимина. При низких температурах интенсивность флуоресценции хромофора, входящего в состав дуплекса  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}\text{Pzn}$ , существенно ниже флуоресценции  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$ . Тушение флуоресценции обусловлено взаимодействием имидазофеназина с аденином в результате встраивания хромофора между нуклеотидными основаниями  $\text{poly}(\text{rA})$ , что было установлено при исследовании связывания свободного имидазофеназина с  $\text{poly}(\text{rA})$  [20]. Оно вызвано фотоиндуцированным переносом электрона с основания в



**Рис. 5.** Температурная зависимость нормированной на значение при  $55^\circ\text{C}$  интенсивности флуоресценции олигонуклеотида  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  (+) и комплекса  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  при концентрациях АТ-пар:  $100 \text{ мкМ}$  (●),  $12,5 \text{ мкМ}$  (Δ). Сплошной линией показана аппроксимация флуоресценции  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  полиномом 3 степени.

основном состоянии на молекулу красителя в первом возбужденном синглетном состоянии [25]. С повышением температуры от  $5$  до  $30^\circ\text{C}$  (до начала перехода спираль-клубок) наблюдается плавное уменьшение интенсивности флуоресценции  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}\text{Pzn}$ , что, по-видимому, объясняется усилением столкновений хромофора внутри комплекса. В температурном интервале перехода спираль-клубок повышение температуры сопровождается ростом

интенсивности флуоресценции вследствие высвобождения хромофора. После окончания перехода спираль-клубок, при повышении температуры интенсивность флуоресценции  $\text{poly}(\text{rA}) \cdot (\text{dT})_{14}\text{Pzn}$  снова уменьшается, и ее ход совпадает с температурной зависимостью для однонитетового  $(\text{dT})_{14}\text{Pzn}$ , что подтверждает

диссоциацию комплекса. Следует отметить, что ширина температурного интервала, в котором наблюдается переход по флуоресцентным кривым, более чем в  $1,5$  раза уже ( $\Delta t \approx 15^\circ\text{C}$ ), чем для абсорбционных кривых плавления ( $\Delta t \approx 25^\circ\text{C}$ ). Это может быть связано с тем, что при измерении поглощения и флуоресценции в ходе плавления регистрируют различные процессы: первый отображает разделение АТ-пар оснований, а второй — высвобождение хромофора. Поэтому, более адекватным является определение параметров перехода спираль-клубок по данным температурной зависимости поглощения. Так же, как и абсорбционные измерения, флуоресцентные данные показывают, что при уменьшении концентрации биополимеров происходит смещение температуры перехода спираль-клубок в область более низких температур. Для системы с низкой концентрацией нитей биополимера флуоресцентные кривые плавления также показывают неполноту образования двухспиральных структур, которая наблюдалась по абсорбционным кривым плавления, что проявляется в более высоком уровне интенсивности флуоресценции на начальном участке кривой

плавления.

### ВЫВОДЫ

Ковалентное присоединение нуклеозидного производного имидазофеназина к 3'-концу фосфатной группы олиготимидилата (dT)<sub>14</sub> существенно повышает термостабильность образуемых им смешанных дуплексов с poly(rA), увеличивая температуру конформационного перехода спираль-клубок,  $t_m$ . Для системы, содержащей (dT)<sub>14</sub>Pzn, наблюдается повышение  $t_m$  на 7 °С по сравнению с системой, содержащей немодифицированный олигонуклеотид. Этот эффект вызван интеркаляцией хромофора красителя между парами адениновых оснований. Показано, что стабилизирующий эффект модификации красителем тем больше, чем короче олигонуклеотид.

Продемонстрировано, что присоединение красителя приводит к уменьшению выигрыша в энтальпии комплексообразования, однако наблюдаемый выигрыш в свободной энергии комплексообразования,  $\Delta G$ , обеспечивается соответствующим уменьшением изменения энтропии по сравнению со значением для системы, содержащей немодифицированный олигонуклеотид.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Власов В.В. // Наука из первых рук.-2007.-т.2, No.14.-с.56-59.
2. Cook P.D. // Anticancer Drug Des.-1991.- v.6, No.6.-p.585-607.
3. Milligan J.F., Matteucci M.D. and Martin J.C. // J. Medicinal Chem.-1993.-v.36.-p.1923-1937.
4. Helene C., Toulme J. // Biochim. Biophys. Acta.-1990.-v.1049.- p.99-125.
5. Riordan M.L., Martin J.C. // Nature.- 1991.-v.350.-p.442-443.
6. Letsinger R.L., Schott M.E.// J. Am. Chem. Soc.-1981.- v.103, No. 24.- p.7394-7396.
7. Asseline U., Delarue M., Lancelot G., Toulme F., Thuong N.T., Montenay-Garrestier T., Helene C. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1984.- v. 81, No 11.- p.3297-3301.
8. Dubey I.Ya. // Ukr. Bioorg. Acta.- 2006.-v.1.-p.42-59.
9. Shaw J.P., Kent K., Bird J., Fishback J., Froehler B. // Nucl. Acids Res.-1991.-v.19, No.4.-p.747-750.
10. Makitruk V.L., Yarmoluk S.N., Shalamay A.S. and Alexeeva I.V. // Nucl. Acids Symp. Ser.-1991.- v.24.-p. 244.
11. Edmonds M., Winters M.A. // Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.-1976.- v.17.-p.149-179.
12. Ahlquist P., Kaesberg P. // Nucl. Acids Res.- 1979.-v.7, No.5. - p. 1195-1204.
13. Нурмухаметов Р.Н. Поглощение и люминесценция ароматических соединений.- М.: Химия, 1971.- 216 с.
14. Zozulya V., Shcherbakova A., Dubey I. // J. Fluorescence.- 2000.-v.10, No.1.-p.49-53.
15. Froehler B.C., Ng P.G., and Matteucci M.D. // Nucl. Acids Res.-1986.-v.14.- p.5399-5407.
16. Макитрук В.Л., Шаламай А.С., Кондратюк И.В.// Биополимеры и клетка -1997.-v.13, №6, p.453-459.
17. Серебряный С.Б., Юфа П.А. // Укр. Хим. Журн.-1963.-т. 29.-с. 322-329.
18. Thuong N.T., Asseline U., Roig V., Takasugi M., Helene C. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1987.- v.84.- p.5129-5133.
19. Cassani G.R., Bollum F.J. // Biochemistry.- 1969.- v.8.-No 10.-p.3928-3936.
20. Zozulya V.N., Blagoi Yu.P., Lober G., Voloshin I., Winter S., Makitruk V., Shalamay A. // Biophys. Chem.-1997.- v.65. - p.55-63.
21. Zozulya V., Blagoi Yu., Dubey I., Fedoryak D., Makitruk V., Ryazanova O., Scherbakova A. // Biopolymers (Biospectroscopy).-2003.-v.72.-p.264-273.
22. Applequist J. and Damle V. // J. Am. Chem. Soc.-1965.- v.87.-p. 1450-1458.
23. Martin F.H., Uhlenbeck O.C., Doty P. // J. Mol. Biol.- 1971.- v.57(2).-p.201-215.
24. Asseline U., Delarue M., Lancelot G., Toulme F., Thuong N.T., Montenay-Garrestier T., Helene C. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 1984.-v. 81.-p.3297-3301.
25. Löber G., Kittler L. // Studia biophysica.-1978.-v.73, No.1.-p.25-30.