

МЕТОДИ БІОФІЗИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

УДК 577.323

МОДЕЛИРОВАНИЕ КРИВЫХ ТЕПЛОПОГЛОЩЕНИЯ ТРОЙНЫХ СИСТЕМ ЛИГАНД-КОНКУРЕНТ-ДНК.**Духопельников Е.В.***Институт радиофизики и электроники НАН Украины, ул.Ак.Проскуры, 12, г.Харьков, 61085*

e-mail: dukhopelnikov@gmail.com

Поступила в редакцию 28 мая 2014 года

Принята 30 июня 2014 года

Для тройных систем лиганд-конкурент-ДНК предложена модель, позволяющая анализировать данные ДСК эксперимента, основанная на уравнениях химических равновесий. Показано, что добавление конкурента изменяет долю лиганда, связанного с ДНК как при комнатных температурах, так и при температурах, близких к температуре плавления ДНК. При одних и тех же константах и местах связывания, определяемых при комнатных температурах, в зависимости от энтальпии связывания на калориметрических кривых плавления могут наблюдаться как количественные, так и качественные отличия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: теоретические модели, конкурентное связывание, калориметрия, температура плавления, параметры взаимодействия.

МОДЕЛЮВАННЯ КРИВИХ ТЕПЛОПОГЛИНАННЯ ПОТРІЙНИХ СИСТЕМ ЛІГАНД-КОНКУРЕНТ-ДНК.**Духопельников Є.В.***Институт радіофізики та електроніки НАН України, вул.Ак.Проскури, 12, м.Харків, 61085*

Для потрійних систем ліганд-конкурент-ДНК було запропоновано модель, яка дозволяє аналізувати дані ДСК експерименту. Така модель базується на рівняннях хімічної рівноваги. Показано, що додавання конкурента змінює долю ліганду, який зв'язаний з ДНК як за кімнатних температур, так й за температур, що близькі до температури плавлення ДНК. При однакових константах і місцях зв'язування, що були визначені при кімнатних температурах, в залежності від ентальпії зв'язування на калориметричних кривих плавлення можуть спостерігатися як кількісні, так й якісні відмінності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: теоретичні моделі, конкурентне зв'язування, калориметрія, температура плавлення, параметри взаємодії.

MODELING OF HEAT ABSORPTION CURVES FOR LIGAND-COMPETITOR-DNA TRIPLE SYSTEM.**Dukhopelnikov E. V.***Institute for Radiophysics and Electronics, National Academy of Sciences of Ukraine, 12 Ak. Proskura Str., Kharkov, 61085, Ukraine*

The model for a ligand-competitor-DNA triple system is suggested. The model is based on chemical equilibria equations and allows one to analyze DSC experimental data. It is shown that the competitor addition alters the percentage of ligand bound to DNA both at room temperatures and at temperatures close to the melting temperature of DNA. Given the same binding constants and binding sites determined at room temperatures, both qualitative and quantitative differences in calorimetric melting curves can be detected depending on the enthalpy of binding.

KEY WORDS: theoretical models, competitive binding, calorimetry, melting temperature, binding parameters.

Многие ароматические антибиотики и мутагены (лиганды) обладают высоким сродством к ДНК. Одновременно в клетке находятся и другие биологически активные вещества, которые могут влиять на взаимодействие лигандов с полинуклеотидными матрицами. Так, например, было показано, что

некоторые метилксантины и витамины снижают токсичность действия интеркалирующих мутагенов и антиопухолевых лекарственных препаратов в живых клетках [1-6]. Основными молекулярными механизмами изменения токсичности лигандов в присутствии таких веществ являются гетероассоциация и конкуренция за места связывания с ДНК [7-10].

Для интерпретации эффектов, возникающих при совместном использовании нескольких биологически активных веществ важно знать, как изменяются термодинамические параметры связывания лигандов с ДНК в присутствии конкурента. В настоящее время для исследования тройных систем лиганд-конкурент-ДНК используются методы ЯМР-спектроскопии и спектроскопии в видимой области [11-16]. Еще одним методом исследования взаимодействия в тройных системах может быть метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Метод ДСК обладает высокой чувствительностью и позволяет из одного измерения получить такие термодинамические характеристики как температура, энтальпия, энтропия, свободная энергия и изменение теплоемкости при конформационном переходе. Этот метод используется для исследования фазовых и конформационных переходов белков и нуклеиновых кислот, а также их комплексов с лигандами. Однако для расчета параметров взаимодействия в тройных системах лиганд-конкурент-ДНК из данных ДСК необходимы новые теоретические модели, поскольку существующие в литературе методики не применимы для анализа результатов исследования взаимодействия лигандов с полимерной матрицей и не используют всех преимуществ метода ДСК.

Целью данной работы является создание теоретической модели для анализа ДСК данных в системах лиганд-конкурент-ДНК. Такая модель позволит получать теоретические кривые теплопоглощения, сравнивать их с экспериментальными и рассчитывать параметры взаимодействия. Также появится возможность оценивать влияние изменения концентраций лиганда и конкурента на форму и положение термограмм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее была предложена модель, позволяющая из экспериментальных кривых теплопоглощения получать полное термодинамическое описание связывания лигандов с ДНК при образовании одного типа комплекса [17]. Согласно этой модели плавление комплекса ДНК-лиганд рассматривается при любой температуре как два независимых процесса – диссоциация комплекса и денатурация ДНК. Макромолекула ДНК представлена в виде совокупности кооперативных единиц длиной m пар нуклеотидов, плавление которых описывается с помощью уравнений химических равновесий. Процесс взаимодействия лиганда с ДНК рассматривается как многоступенчатое

последовательное насыщение кооперативной единицы лигандом. Для расчета макроскопических констант на каждом из этапов связывания используется стандартный подход, описывающий взаимодействие лигандов с идентичными независимыми местами связывания на одномерной матрице конечной длины. Связь между микроскопической (k_{bind}) и макроскопическими константами связывания определяется из соотношения:

$$K_{bind,i} = \frac{\Omega_i}{\Omega_{i-1}} k_{bind}, \quad (1)$$

где Ω_i - число микроскопических форм, которые содержат i связанных молекул [18,19].

Записав температурные зависимости для константы плавления ДНК и константы связывания с лигандом с учетом температурных изменений энтальпии и энтропии, можно построить теоретические кривые теплопоглощения при различных концентрациях лиганда, т.е. получить двумерные ДСК кривые. Приведенный аналитический подход позволяет из двумерного ДСК эксперимента рассчитать максимально возможное количество параметров связывания лигандов с ДНК: константу связывания, стехиометрию, изменение теплоемкости, энтальпии, энтропии.

При описании тройной системы рассмотренный подход должен быть расширен путем учета связывания с ДНК двух лигандов (рис. 1). Рассмотрим систему, в которой с ДНК связывается лиганд L_1 с местом связывания n_1 , константой связывания $k_{bind,1}$ и конкурент L_2 с параметрами связывания n_2 и $k_{bind,2}$.

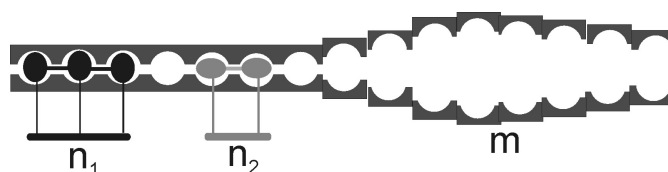


Рис. 1. Схема конкурентного связывания двух лигандов с местами связывания n_1 и n_2 ; m -кооперативная единица плавления.

При конкурентном связывании двух лигандов предполагается, что участок ДНК, занятый одним лигандом, недоступен для связывания с конкурентом. Тогда число микроскопических форм зависит от числа связанных молекул лиганда (i) и конкурента (j) и выражается как:

$$\Omega_{ij} = \left(\frac{(m - i(n_1 - 1) - j(n_2 - 1))!}{(m - n_1 \cdot i - n_2 \cdot j)! (i + j)!} \right)^2 \frac{(m - n_1 \cdot i)! i!}{(m - i(n_1 - 1))!} \frac{(m - n_2 \cdot j)! j!}{(m - j(n_2 - 1))!}. \quad (2)$$

Концентрация частиц, содержащих i молекул лиганда и j молекул конкурента, может быть выражена через соответствующие микроскопические константы связывания из закона действующих масс:

$$[dsDNA_m - L_{1,i} - L_{2,j}] = \Omega_{ij} k_{bind,1}^i(T) k_{bind,2}^j(T) [L_1]^i [L_2]^j [dsDNA_m]. \quad (3)$$

Совместное решение уравнений закона сохранения общих концентраций ДНК, лиганда и конкурента позволяет рассчитать концентрации связанного лиганда и конкурента:

$$C_{DNA} = m[ssDNA_m] + 2m \sum_{i=0}^{m/n_1} \sum_{j=0}^{(m-i \cdot n_1)/n_2} [dsDNA_m - L_{1,i} - L_{2,j}]; \quad (4)$$

$$C_{L_1} = [L_1] + \sum_{i=0}^{m/n_1} \sum_{j=0}^{(m-i \cdot n_1)/n_2} i \cdot [dsDNA_m - L_{1,i} - L_{2,j}]; \quad (5)$$

$$C_{L_2} = [L_2] + \sum_{i=0}^{m/n_1} \sum_{j=0}^{(m-i \cdot n_1)/n_2} j \cdot [dsDNA_m - L_{1,i} - L_{2,j}]. \quad (6)$$

Зависимость избыточной теплоемкости комплексов ДНК-лиганд для конкурентного связывания рассчитывается по формуле, аналогичной уравнению (22) из работы [17].

$$\begin{aligned} \langle \delta C_p \rangle = & \frac{1}{C_{DNA}} \left(\Delta H_{melt}(T) \frac{dC_{ssDNA}(T)}{dT} + C_{ssDNA}(T) \frac{d\Delta H_{melt}(T)}{dT} \right) + \\ & + \frac{1}{C_{DNA}} \left(\Delta H_{bind,1}(T) \frac{dC_{L_1bind}(T)}{dT} + C_{L_1bind}(T) \frac{d\Delta H_{bind,1}(T)}{dT} \right) + \\ & + \frac{1}{C_{DNA}} \left(\Delta H_{bind,2}(T) \frac{dC_{L_2bind}(T)}{dT} + C_{L_2bind}(T) \frac{d\Delta H_{bind,2}(T)}{dT} \right) \end{aligned} \quad (7)$$

где C_{ssDNA} , C_{L_1bind} , C_{L_2bind} - концентрации односпиральной ДНК, связанного лиганда и связанного конкурента; ΔH_{melt} , $\Delta H_{bind,1}$, $\Delta H_{bind,2}$ - энтальпия плавления ДНК и энтальпии связывания лиганда и конкурента.

С помощью разработанного подхода можно построить калориметрические кривые для любой тройной системы ДНК-лиганд-конкурент при различных концентрациях добавленного лиганда (L_1) и конкурента (L_2). В данном случае при моделировании кривых теплопоглощения константа при комнатной температуре и величина места связывания с ДНК для лиганда ($k_{bind,1} = 10^4 \text{ M}^{-1}$, $n_1 = 2$ пары оснований) задавались более высокими, чем для конкурента ($k_{bind,2} = 10^3 \text{ M}^{-1}$, $n_1 = 1$ пара оснований). При переходе от комнатной температуры к области

температур, в которой происходит плавление комплексов лигандов с ДНК, необходимо учитывать температурные зависимости констант связывания:

$$k_{bind} = k_{bind}(T_{298}) \exp\left(\frac{1}{R} \left[-\Delta H_{bind}(T_{298}) \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{298}} \right) - \Delta C_{p,bind} \left(1 - \frac{T_{298}}{T} - \ln \frac{T}{T_{298}} \right) \right] \right) \quad (8)$$

Предполагается, что образование комплекса ДНК с конкурентом обусловлено, в основном, электростатическими силами, и энтальпийный вклад в константу связывания невелик. Поэтому, в расчетах использовалось значение энтальпии связывания конкурента $\Delta H_{bind,2} = -0,1$ ккал/моль. Взаимодействие лиганда с ДНК происходит за счет водородных связей и является энтальпийно более выгодным. В расчетах использовались три значения $\Delta H_{bind,1}$, при которых соотношения констант $k_{bind,1}$ и $k_{bind,2}$ для высоких температур различаются (рис. 2):

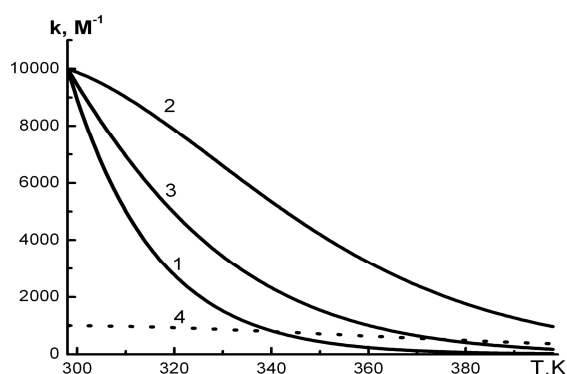


Рис. 2. Зависимость константы связывания лиганда и конкурента от температуры при различных значениях энтальпии связывания лиганда.

$\Delta H_{bind,1} = -10$ ккал/моль (1) $\Delta H_{bind,1} = -1$ ккал/моль (2) и $\Delta H_{bind,1} = -5$ ккал/моль (3). Зависимость константы связывания конкурента от температуры (4) рассчитана для $\Delta H_{bind,1} = -0,1$ ккал/моль.

- $\Delta H_{bind,1} = -10$ ккал/моль. Константа связывания лиганда становится меньше, чем константа связывания конкурента задолго до температуры плавления свободной ДНК (рис.3, кривая 1);
- $\Delta H_{bind,1} = -1$ ккал/моль. Константа связывания лиганда остается больше, чем константа связывания конкурента даже при температурах выше температуры плавления комплексов ДНК -лиганд(рис.3, кривая 2);
- $\Delta H_{bind,1} = -5$ ккал/моль. Константы связывания для лиганда и конкурента становятся равными в интервале температур, который ограничен температурами плавления свободной ДНК и комплекса ДНК-лиганд (рис.2, кривая 3).

При исследовании методом ДСК двойных и тройных систем наблюдаемые эффекты связаны с состоянием ДНК. Поэтому удобно анализировать изменение зависимости доли ДНК, связанной с лигандом и конкурентом (рис. 3). Видно, что с увеличением L_1 доля ДНК, связанная с лигандом (рис. 3, кривая 1), растет, и этот рост сопровождается соответствующим уменьшением доли ДНК, связанной с конкурентом (рис. 3, кривая 2).

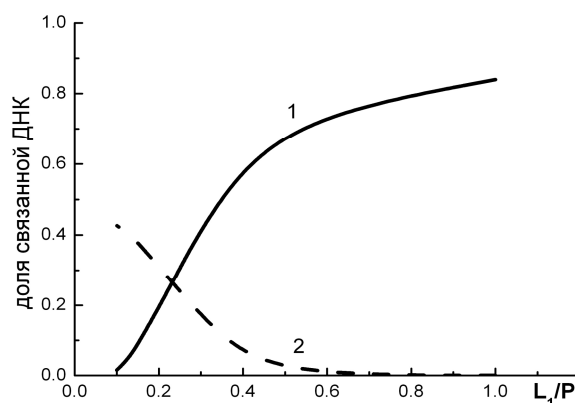


Рис. 3. Зависимость доли ДНК, связанной с лигандом (1) и конкурентом (2), от относительной концентрации добавленного лиганда. Относительная концентрация конкурента $L_2/P=1$.

При температуре плавления свободной ДНК (350 К) зависимости доли ДНК, связанной с лигандом и конкурентом, для трех описанных выше случаев будут различны (рис. 4). Видно, что при высокой энтальпии связывания $\Delta H_{bind,1}$ доля ДНК, связанной с лигандом, практически равна 0, а вся ДНК связывается с конкурентом (рис. 4, кривые 1 и 1'). Для случаев с низкой $\Delta H_{bind,1}$ зависимости долей ДНК, связанных с лигандом и конкурентом, несущественно отличаются от наблюдаемых при комнатных температурах (рис. 4, кривые 2 и 2'). При значении $\Delta H_{bind,1}=-5$ ккал/моль доля ДНК, связанной с лигандом (рис. 4, кривая 3) начинает расти при более высоких значениях L_1 , чем это показано для $\Delta H_{bind,1}=-1$ ккал/моль (рис. 4, кривая 2).

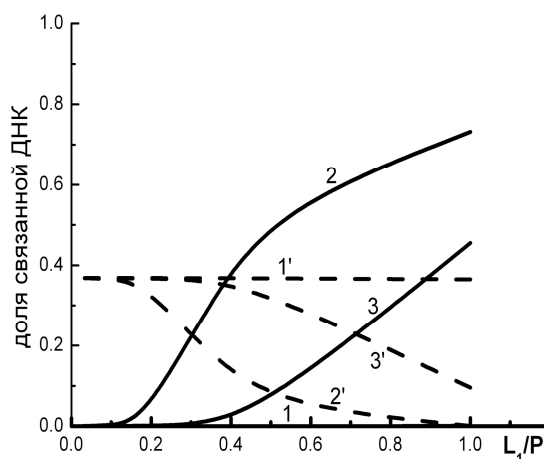
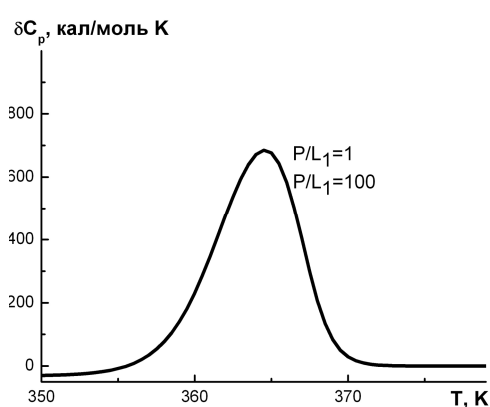


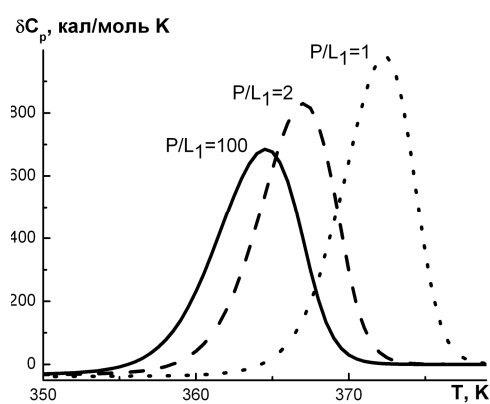
Рис. 4. Зависимость доли ДНК, связанной с лигандом (1,2,3) и конкурентом (1',2' и 3'), от относительной концентрации добавленного лиганда при различных значениях энтальпии связывания лиганда.

$\Delta H_{bind,1}=-10$ ккал/моль (1) $\Delta H_{bind,1}=-1$ ккал/моль (2) и $\Delta H_{bind,1}=-5$ ккал/моль(3). Относительная концентрация конкурента $L_2/P=1$ и $\Delta H_{bind,2}=-0,1$ ккал/моль

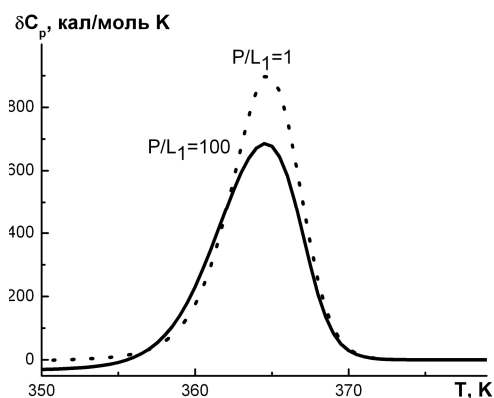
Полученные с помощью нашей модели теоретические кривые теплопоглощения при различных концентрациях добавленного лиганда приведены на рис. 5. При энтальпии связывания -10 ккал/моль не наблюдается различий в кривых теплопоглощения для высоких ($P/L_1=1$) и низких ($P/L_1=100$) концентрациях лиганда (рис. 5,а). При $\Delta H_{bind,1}=-1$ ккал/моль изменение кривых теплопоглощения при увеличении L_1 соответствуют изменениям, происходящим при $L_2=0$ (рис. 5,б). С ростом концентрации лиганда энтальпия и температура плавления увеличиваются. При промежуточном значении $\Delta H_{bind,1}$ наблюдается рост энтальпии плавления при постоянной температуре плавления (рис 5,в).



а



б



в

Рис. 5. Теоретические кривые теплопоглощения систем лиганд-конкурент-ДНК, рассчитанные при различных энтальпиях связывания лиганда ($\Delta H_{bind,1} = -10$ ккал/моль (а), $\Delta H_{bind,1} = -1$ ккал/моль (б), $\Delta H_{bind,1} = -5$ ккал/моль (в)) и концентрациях добавленного лиганда L_1 .

Для объяснения подобных различий нами были построены зависимости доли ДНК, связанной с лигандом и конкурентом, от температуры при высоких L_1 и L_2 ($L_1/P=1$, $L_2/P=1$) (рис. 6).

При высоких значениях $\Delta H_{bind,1}$ разрушение комплексов ДНК-лиганд (рис. 6,а, кривая 1) и образование комплексов ДНК-конкурент (рис. 6, а, кривая 2) происходит при температурах существенно меньших, чем температура плавления. Видно, что при низкой $\Delta H_{bind,1}$ связывания вплоть до температуры

плавления ДНК сохраняется комплекс с лигандом (рис. 6, б, кривая 1), а доля ДНК, связанной с конкурентом, ничтожно мала (рис. 6, б, кривая 2).

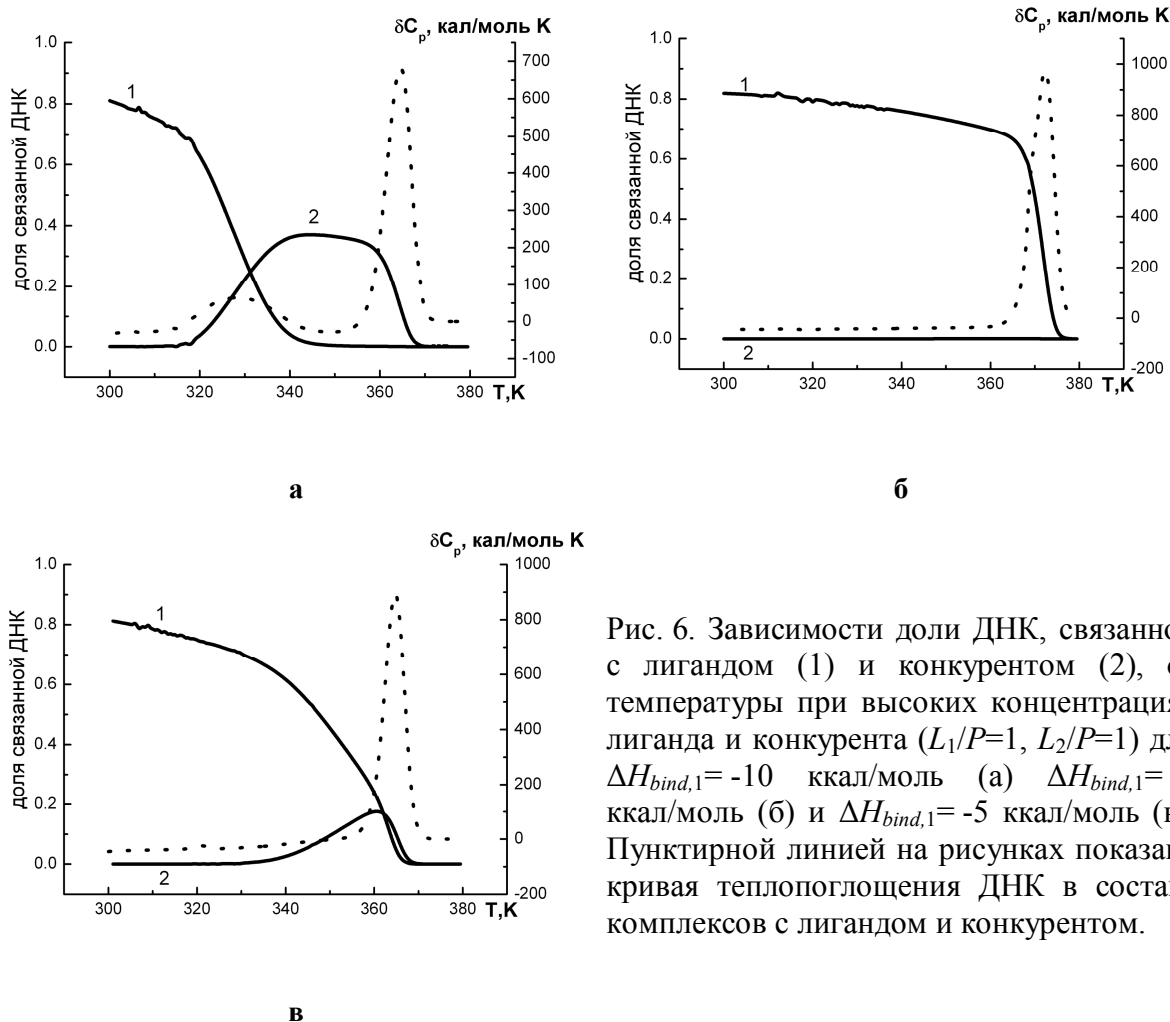


Рис. 6. Зависимости доли ДНК, связанной с лигандом (1) и конкурентом (2), от температуры при высоких концентрациях лиганда и конкурента ($L_1/P=1$, $L_2/P=1$) для $\Delta H_{bind,1} = -10$ ккал/моль (а) $\Delta H_{bind,1} = -1$ ккал/моль (б) и $\Delta H_{bind,1} = -5$ ккал/моль (в). Пунктирной линией на рисунках показана кривая теплопоглощения ДНК в составе комплексов с лигандом и конкурентом.

При средних значениях энтальпии связывания (рис. 6, в) замещение лиганда конкурентом в комплексах с ДНК наблюдается при температурах внутри интервала плавления ДНК. Таким образом, дополнительный вклад в энтальпию плавления комплекса вносит разница в энергиях связывания лиганда и конкурента. Это приводит к росту энтальпии плавления при увеличении L_1 (рис. 5,б). В результате, при денатурации ДНК разрушается комплекс ДНК-конкурент, содержание которого не зависит от L_1 . Можно отметить, что увеличение содержания лиганда не приводит к изменению термодинамических параметров плавления комплекса. При этом процесс вытеснения лиганда и связывания конкурента отражается на кривой теплопоглощения в виде широкого пика при низких температурах (пунктир, рис.6,а), который может не учитываться при определении энтальпии плавления комплекса.

ВЫВОДЫ

В работе предложена модель, позволяющая получать теоретические кривые теплопоглощения и анализировать ДСК данные для тройных систем лиганд-конкурент-ДНК. Показано, что добавление конкурента изменяет долю лиганда, связанного с ДНК как при комнатных температурах, так и при температурах, близких к температуре плавления ДНК. При одних и тех же константах и местах связывания, определяемых при комнатных температурах, в зависимости от энтальпии связывания на калориметрических кривых плавления могут наблюдаться не только количественные, но и качественные отличия. Зависимости энергетических параметров плавления комплексов от концентрации добавленного лиганда также отличаются между собой.

Необходимо отметить, что в уравнениях учтена только возможность конкуренции за места связывания на ДНК. Предложенная модель неприменима для анализа конкуренции, которая оценивается из калориметрических данных при исследовании соединений, образующих прочные гетерокомплексы с лигандами, но слабо связывающихся с ДНК. Тем не менее, константы гетероассоциации для многих биологически активных веществ часто невысоки, и с ростом температуры комплексы лиганд-конкурент разрушаются гораздо быстрее, чем комплексы с ДНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Odin A. P. Vitamins as antimutagens: Advantages and some possible mechanisms of antimutagenic action. / A. P. Odin // *Mutation Research*. – 1997. – V. 386. – P. 39–67.
2. Lyles M. B. Caffeine and other xanthines as cytochemical blockers and removers of heterocyclic dna intercalators from chromatin. / M. B. Lyles, I. L. Cameron // *Cell Biology International*. – 2002. – V. 26. №. 2. – P. 145–154.
3. Edenharde R. Antimutagenic effects and possible mechanisms of action of vitamins and related compounds against genotoxic heterocyclic amines from cooked food / R. Edenharde, A. Worf-Wandelbur, M. Decker, K.L. Platt // *Mutation Research*. – 1999. – V.444. – P. 235–248.
4. Usha S. Modulation of DNA intercalation by resveratrol and genistein/ S. Usha, I.M. Johnson, R. Malathi // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 2006. – V. 284. – P. 57–64.
5. Kimura H. Decrease in sensitivity to ethidium bromide by caffeine, dimethylsulfoxide or 3-aminobenzamide due to reduced permeability / H. Kimura // *J. Pharmacobiodyn*. – 1989. – N.12. – P.589–595.
6. Traganos F. Caffeine modulates the effects of DNA-intercalating drug in vitro: A flow cytometric and spectrophotometric analysis of caffeine interaction with novatrone, doxorubicin, ellipticine and doxorubicin analogue ADI98 / F. Traganos, J. Karpuscinski, Z. Darzynkiewicz // *Cancer Res*. – 1991. – V. 51. – P. 3682–3689.
7. Kapuscinska J. The modulation of the DNA-damaging effect of polycyclic aromatic agents by xanthines: Part I. Reduction of cytostatic effects of quinacrine mustard by caffeine / J. Kapuscinska, B. Ardel, J. Piosik, M. Zdunek, Z. Darzynkiewicz // *Biochemical Pharmacology*. – 2002. – V. 63. №. 4. – P. 625–634.
8. Piosik J. The modulation by xanthines of the DNA-damaging effect of polycyclic aromatic agents Part II. The stacking complexes of caffeine with doxorubicin and mitoxantrone / J. Piosik, M. Zdunek, J. Kapuscinski // *Biochemical Pharmacology*. – 2002. – V. 63. – P. 635–646.
9. Evstigneev M. P. ¹H NMR study of the hetero-association of flavin-mononucleotide with mutagenic dyes: ethidium bromide and proflavine / M. P. Evstigneev, Yu. V. Mukhina, D. B. Davies // *Molecular Physics*. – 2006. – V. 104. №. 4. – P. 647–654.
10. Davies D. B. Hetero-association of caffeine and aromatic drugs and their competitive binding with a DNA oligomer / D. B. Davies, D. A. Veselkov, L. N. Djimant, A. N. Veselkov // *Eur. J. Biophys*. – 2001. – V.30. – P.354–366.

11. Baranovsky S. F. Interaction of ethidium bromide and caffeine with DNA in aqueous solution / S. F. Baranovsky, P. A. Bolotin, M. P. Evstigneev, D. N. Chernyshev // *J. of Appl. Spectroscopy*. – 2009. – V. 76., № 1. – P. 143–150.
12. Davies D. B. Binding of anthracycline antibiotic with DNA in the presence of aromatic vitamin / D. B. Davies, M. P. Evstigneev, Yu. V. Mukhina // *Biophys. Chem.* – 2005. – V.50. – P.153–163.
13. Piosik J. De-intercalation of ethidium bromide and propidium iodine from DNA in the presence of caffeine. / J. Piosik, K. Wasielewski, A. Woziwodzka, W. Śledź, A. Gwizdek-Wisniewska // *Cent. Eur. J. Biol.* – 2010. – V. 5., № 1. – P. 59–66.
14. Pietrzak M. Attenuation of acridine mutagen ICR-191 – DNA interactions and DNA damage by the mutagen interceptor chlorophyllin / M. Pietrzak, H. D. Halicka, Z. Wiczorek, J. Wiczorek, Z. Darzynkiewicz. // *Biophys. Chem.* – 2008. – V.135. -№ 3. – P.69–75.
15. Pietrzak M. The “interceptor” properties of chlorophyllin measured within the three-component system: Intercalator-DNA-chlorophyllin / M. Pietrzak, Z. Wiczorek, J. Wiczorek, Z. Darzynkiewicz // *Biophysical Chemistry*. – 2006. – V.123. – P.11–19.
16. Iermak Ie. Light-absorption spectroscopy of mutagen-DNA complex in presence of competing biologically active compounds / Ie. Iermak, A. Woziwodzka, A. Gwizdek-Wisniewska, J. Piosik // *General Assembly and Scientific Symposium, 2011 XXXth URSI*. – P. 1– 4.
17. Dukhopelnikov E. V. Determination of ligand to DNA binding parameters from two-dimensional DSC curves / E. V. Dukhopelnikov, E. G. Bereznyak, A. S. Khrebtova, A. O. Lantushenko, A. V. Zinchenko // *J Therm Anal Calorim* . – 2013. – V. 111. – P. 1817–1827.
18. McGhee J. D. Theoretical calculations of the helix–coil transition of DNA in the presence of large, cooperatively binding ligands / J. D. McGhee // *Biopolymers*. – 1976. – V. 15 I., № 7. – P. 1345–1375.
19. Teif V. B. Statistical-mechanical lattice models for protein-DNA binding in chromatin / V. B. Teif, K. Rippe // *Journal of Physics: Condensed Matter*.. – 2010. – V. 22., №. 41. – P. 414105–414118.