

## МЕТОДИ БІОФІЗИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

УДК 535.37. 538.931

## НОВЫЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ЗОНДЫ ДЛЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА ОСНОВЕ ЭКСИМЕРОВ ЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ

И.И. Филимонова<sup>1</sup>, А.В. Сорокин<sup>2</sup>, И.Ю. Курильченко<sup>3</sup>, С.Л. Ефимова<sup>2</sup>, И.А. Боровой<sup>2</sup>, Ю.В. Малюкин<sup>2</sup><sup>1</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков 61077, Украина,<sup>2</sup>Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, пр. Ленина, 60, Харьков 61001, Украина,<sup>3</sup>Славянский государственный педагогический университет, ул. Батюка, 19, Славянск 84116, Украина, sorokin@isc.kharkov.com

Поступила в редакцию 8 июня 2009 г.

Принята 25 июня 2009 г.

При помощи методов оптической спектроскопии были исследованы особенности взаимодействия производных оксакарбоцианинового красителя (С2, С6 и С9), отличающихся длиной углеводородного радикала, с нуклеиновыми кислотами (ДНК и РНК). Было установлено, что краситель С2 практически не взаимодействует с НК, а краситель С9 при взаимодействии с НК образует нелюминесцирующие димеры. В отличие от них, краситель С6 взаимодействует с НК и образует при этом эксимеры, полоса люминесценции которых смещена на 150 нм в длинноволновую область относительно полосы поглощения. Было показано, что образование эксимеров является специфичным по отношению к НК и не наблюдается при взаимодействии с другими биологическими объектами. На основании этого, краситель С6 предложен в качестве нового специфичного люминесцентного зонда для нуклеиновых кислот.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** нуклеиновые кислоты; цианиновые красители; люминесцентные зонды; эксимеры.

## NOVEL LUMINESCENT PROBES FOR NUCLEIC ACIDS ON BASE OF CYANINE DYE EXCIMERS

I.I. Filimonova<sup>1</sup>, A.V. Sorokin<sup>2</sup>, I.Yu. Kurilchenko<sup>3</sup>, S.L. Yefimova<sup>2</sup>, I.A. Borovoy<sup>2</sup>, Yu.V. Malyukin<sup>2</sup><sup>1</sup>Kharkiv V.N. Karazin National University, 4 Svobody sq., Kharkiv 61077, Ukraine,<sup>2</sup>Institute for Scintillation Materials, NAS of Ukraine, 60 Lenin ave., Kharkiv 61001, Ukraine,<sup>3</sup>Slavyansk State Pedagogical University, 19 Batyuka str., Slavyansk 84116, Ukraine

Using optical spectroscopy methods features of an interaction of oxacarbocyanine dye derivatives (C2, C6 and C9), which differ only by hydrocarbon tails length, with nucleic acids (DNA and RNA) have been investigated. It has been found that the C2 dye almost not interact with the NA, whereas the C9 dye reveals a strong interaction with non-luminescent dimers formation. Contrary, the C6 dye interacts with NA and forms excimers, which luminescent band is shifted on 150 nm into longwavelength side compare to an absorption band. It has been shown that the C6 excimer formation is specific for interaction with NA and it isn't observed at the dye interaction with another type of biological objects. Therefore, the C6 dye is proposed as a new specific luminescent probe for nucleic acids.

**KEY WORDS:** nucleic acids, cyanine dyes, luminescent probes; excimers.

## НОВІ ЛЮМІНЕСЦЕНТНІ ЗОНДИ ДЛЯ НУКЛЕЙНОВИХ КИСЛОТ НА ОСНОВІ ЕКСИМЕРІВ ЦІАНИНОВОГО БАРВНИКА

I.I. Филимонова<sup>1</sup>, О.В. Сорокін<sup>2</sup>, І.Ю. Курільченко<sup>3</sup>, С.Л. Єфімова<sup>2</sup>, І.А. Боровой<sup>2</sup>, Ю.В. Малюкін<sup>2</sup><sup>1</sup>Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків 61077, Україна,<sup>2</sup>Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України, пр. Леніна, 60, Харків 61001, Україна,<sup>3</sup>Слов'янський державний педагогічний університет, вул. Батюка, 19, Слов'янськ 84116, Україна,

За допомогою методів оптичної спектроскопії були досліджені особливості взаємодії похідних оксакарбоціанинового барвника (С2, С6 і С9), що відрізняються довжиною вуглеводневого радикала, з нуклеїновими кислотами (ДНК і РНК). Було встановлено, що барвник С2 практично не взаємодіє з НК, а барвник С9 при взаємодії із НК утворює нелюмінесцентні димери. На відміну від них, барвник С6 взаємодіє з НК і утворює при цьому эксимери, смуга люмінесценції яких зміщена на 150 нм у довгохвильову область щодо смуги поглинання. Було показано, що утворення эксимерів є специфічним стосовно НК і не спостерігається при взаємодії з іншими біологічними об'єктами. На підставі цього, барвник С6 запропонований у якості нового специфічного люмінесцентного зонда для нуклеїнових кислот.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** нуклеїнові кислоти; ціанінові барвники; люмінесцентні зонди; эксимери.

Нуклеиновые кислоты (НК) являются исключительными по своей важности объектами исследования, поскольку полностью определяют генетическую информацию и план построения любого живого организма. Известно, что некоторые химические соединения (белки, синтетические органические молекулы, флуоресцентные красители и ионы) могут взаимодействовать с НК и использоваться в качестве зондов для НК [1]. В частности, в качестве люминесцентных зондов для детекции НК широко используются цианиновые красители, т.к. они имеют ряд особенностей, очень полезных при использовании их для детекции нуклеиновых кислот в гомогенном анализе [1-9], а именно:

- высокие значения коэффициентов молярной экстинкции ( $> 50\,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) в видимом спектральном диапазоне;
- низкий квантовый выход флуоресценции ( $\leq 0,01$ ) в свободном (не связанном с НК) состоянии;
- резкое (на 2–3 порядка) возрастание интенсивности флуоресценции при связывании с НК;
- значительные константы связывания с НК;
- отсутствие специфичности при взаимодействии с определенным типом нуклеотидной последовательности;
- достаточная фотостабильность.

Считается, что возрастание интенсивности флуоресценции происходит за счет “жесткой” фиксации транс-конформации красителя в интеркаляционном комплексе [1,10-13] или при связывании его с малой бороздкой НК [1,6,7,14].

При бороздковом связывании, цианиновые красители могут взаимодействовать между собой, образуя агрегаты, чаще всего «face-to-face» димеры [1,15-17]. Образование димеров приводит к гипсохромному сдвигу полосы поглощения, поэтому подобные типы агрегатов называют Н-агрегатами [18,19]. Однако для некоторых типов красителей наблюдалась и «head-to-tail» агрегация (J-агрегация) красителей в малой бороздке ДНК [16,20-22], которая приводит к батохромному сдвигу полосы поглощения [23,24]. Образование агрегатов цианиновых красителей может быть специфичным для взаимодействия с НК, поэтому агрегатная форма цианиновых красителей очень перспективна для создания новых типов люминесцентных зондов для НК [25,26].

В данной работе исследовались спектральные проявления взаимодействия производных оксакарбоцианинового красителя (Рис.1, на вставке) с НК (нативными ДНК и РНК). Данные производные отличаются только длиной углеводородного радикала ( $\text{C}_2\text{H}_5$ ,  $\text{C}_6\text{H}_{13}$ ,  $\text{C}_9\text{H}_{19}$ ) и в дальнейшем будут для простоты обозначаться С2, С6 и С9, соответственно. Отметим, что данные производные оксакарбоцианина ранее уже использовались в качестве люминесцентных зондов для биологических объектов и выявили специфичность взаимодействия в зависимости от длины углеводородного радикала [27,28].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Производные оксакарбоцианинового красителя были синтезированы к.х.н. Боровым И.А. (Институт сквнтилляционных материалов НАН Украины). Их чистота контролировалась при помощи тонкослойной хроматографии. Образцы для исследований приготавливались из исходного раствора красителей в диметилформамиде (ДМФА) ( $10^{-3} \text{ M}$ ) при разбавлении их в водном буфере TRIS-HCl ( $\text{C} = 0.05 \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 8$ ) в соотношении 1:19. Т.о. концентрация красителей во всех образцах составляла  $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ . ДНК (salmon testes, Sigma-Aldrich) растворяли в

буферном растворе TRIS-HCl, а концентрация ДНК определялась спектроскопически по молярному коэффициенту экстинкции ( $\epsilon = 13200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  при  $\lambda = 260 \text{ nm}$ , где  $M =$  моль пар оснований/л). Раствор суммарной РНК (Sigma-Aldrich) также приготавливали в буферном растворе (4 мг/мл в исходном растворе) с последующим разбавлением в 100 раз. Во всех экспериментах использовались концентрации: ДНК –  $6 \times 10^{-5}$  моль пар оснований/л, РНК –  $1.2 \times 10^{-4}$  моль оснований/л.

Спектры люминесценции и возбуждения люминесценции записывались при помощи спектрофлуориметра на базе двух решеточных монохроматоров МДР-23. Один из монохроматоров использовался для выделения требуемой длины волны возбуждения из спектра ксеноновой лампы (ширина линии на полувысоте, FWHM  $\sim 0.5 \text{ nm}$ ), а второй – для регистрации спектра люминесценции. Спектры поглощения регистрировались при помощи микроспектрометра USB4000 (OceanOptics, США).

Люминесцентные изображения получались при помощи люминесцентного микроскопа Olympus IX-71 (Япония).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Т.к. все производные используемого красителя имеют одинаковую хромофорную часть, то их спектральные характеристики в бинарном растворе ДМФА/водный буфер одинаковы ( $\lambda_{\text{погл}} = 482 \text{ nm}$  и  $\lambda_{\text{люм}} = 500 \text{ nm}$ ) (Рис. 1). Однако разная длина углеводородных радикалов влияет на эффективность взаимодействия с различными объектами, а также способность к агрегации [24].

При добавлении красителя С2 в растворы, содержащие ДНК и РНК (Рис. 2), не наблюдается значительных изменений в спектрах поглощения и люминесценции красителя по сравнению со спектрами красителя в растворе, не содержащим НК (Рис. 1). Т.о. можно сделать вывод, что данный краситель практически не взаимодействует с НК, что связано с высокой растворимостью красителя в водных растворах. Отметим, что при окрашивании С2 клеточных культур, он также показал невысокую степень связывания с клетками [27,28].

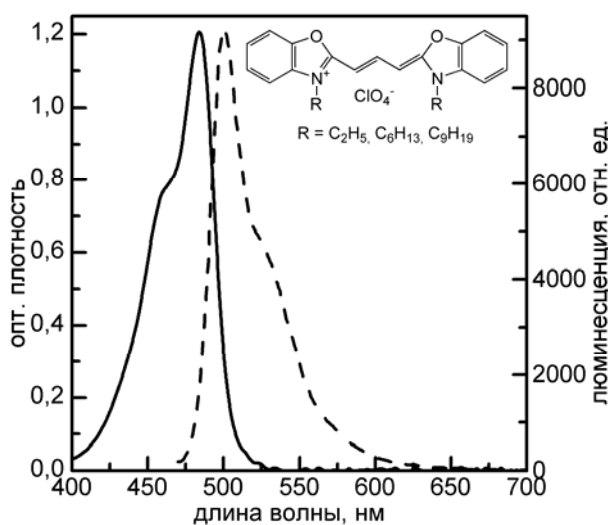


Рис. 1 Спектры поглощения (сплошная линия) и люминесценции (пунктирная линия) оксакарбацианина в растворе ДМФА/вода. На вставке – структурная формула красителя.

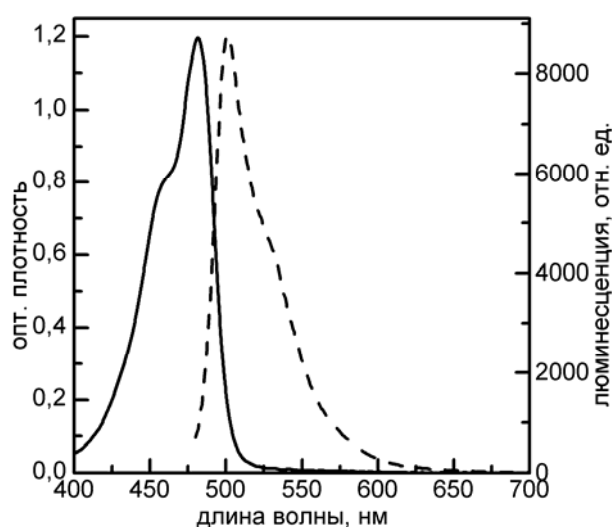


Рис. 2 Спектры поглощения (сплошная линия) и люминесценции (пунктирная линия) красителя С2 в растворе ДМФА/вода в присутствии НК.

В отличие от С2, краситель С6 имеет более длинные углеводородные радикалы, а значит его гидрофобность выше, т.е. растворимость в воде ниже. При добавлении красителя С6 в раствор, содержащий нуклеиновые кислоты, происходит изменение его спектров поглощения и люминесценции, относительно спектров красителя в растворе, не содержащем НК (Рис. 3). Особенно хорошо это проявляется при взаимодействии С6 с РНК (Рис. 3б). Видно, что полоса поглощения красителя уширяется, а интенсивность ее коротковолнового плеча с максимумом  $\lambda = 460$  нм значительно увеличивается. Такое изменение спектра говорит о взаимодействии красителя с НК и образовании димеров красителя с так называемой сендвичевой структурой или Н-димеров. Если проанализировать спектр поглощения красителя в присутствии ДНК (Рис. 3а), то можно также выделить некоторое уширение полосы и перераспределение интенсивностей максимума и коротковолнового плеча, хотя и намного менее выраженное, чем в случае раствора красителя с РНК (Рис. 3б). В спектрах люминесценции наблюдается появление новой малоинтенсивной полосы с максимумом  $\lambda_{\text{д}} = 655$  нм, причем она наблюдается как в случае взаимодействия красителей с ДНК, так и с РНК (Рис. 3). Отметим, что если интенсивность мономерной полосы люминесценции с максимумом  $\lambda_{\text{м}} = 500$  нм изменяется в зависимости от того, с каким типом НК взаимодействует краситель (ДНК или РНК), то интенсивность новой полосы люминесценции остается неизменной. Уменьшение интенсивности мономерной полосы люминесценции красителя С6 при его взаимодействии с РНК можно связать с эффективным образованием Н-димеров, которые, как известно, нелюминесцирующие [23,24]. Причина появления новой длинноволновой полосы люминесценции будет обсуждаться ниже.

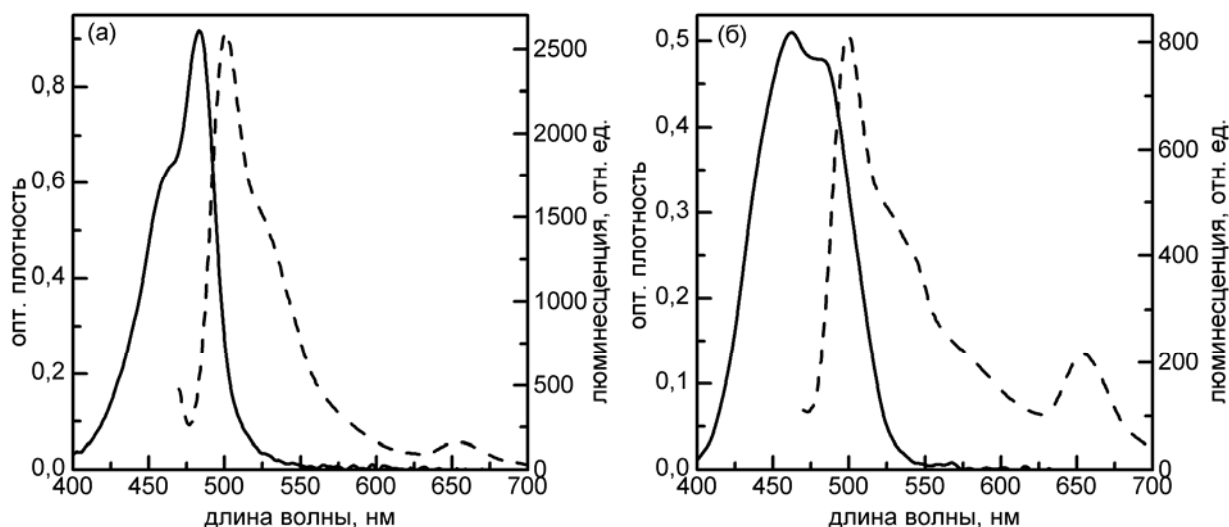


Рис. 3 Спектры поглощения (сплошная линия) и люминесценции (пунктирная линия) красителя С6 в растворе ДМФА/вода в присутствии: а) ДНК и б) РНК.

При добавлении красителя С9, в спектре поглощения наблюдается еще более интенсивная полоса Н-димеров, причем ее интенсивность одинакова как в случае взаимодействия красителя с РНК, так и с ДНК (Рис. 4). Это связано с еще более длинными углеводородными хвостами данного красителя по сравнению с С6, а значит большей гидрофобностью. Вследствие эффективной агрегации красителя и образования Н-димеров, интенсивность люминесценции С9 в присутствии НК значительно снижена и регистрируется с трудом. При этом, в спектре люминесценции

можно выделить перегиб, соответствующий полосе с максимумом  $\lambda = 655$  нм, но сама полоса при этом не разрешается (Рис. 4).

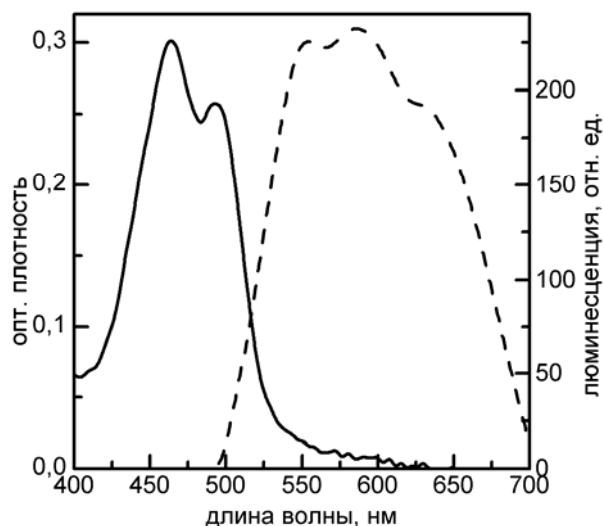


Рис. 4 Спектры поглощения (сплошная линия) и люминесценции (пунктирная линия) красителя С9 в растворе ДМФА/вода в присутствии НК.

Т.о., можно сделать вывод, что наиболее перспективным для дальнейшего использования в качестве люминесцентного зонда для НК является производная оксакарбодиазинового красителя С6. Поэтому необходимо разобраться, с чем связано появление полосы люминесценции с максимумом  $\lambda = 655$  нм (Рис. 3). Для этого были получены спектры возбуждения люминесценции красителя С6 в присутствии НК при регистрации на разных участках спектра люминесценции –  $\lambda_{\text{рег}} = 655$  нм (длинноволновая полоса) и  $\lambda_{\text{рег}} = 550$  нм (мономерная полоса) (Рис. 5).

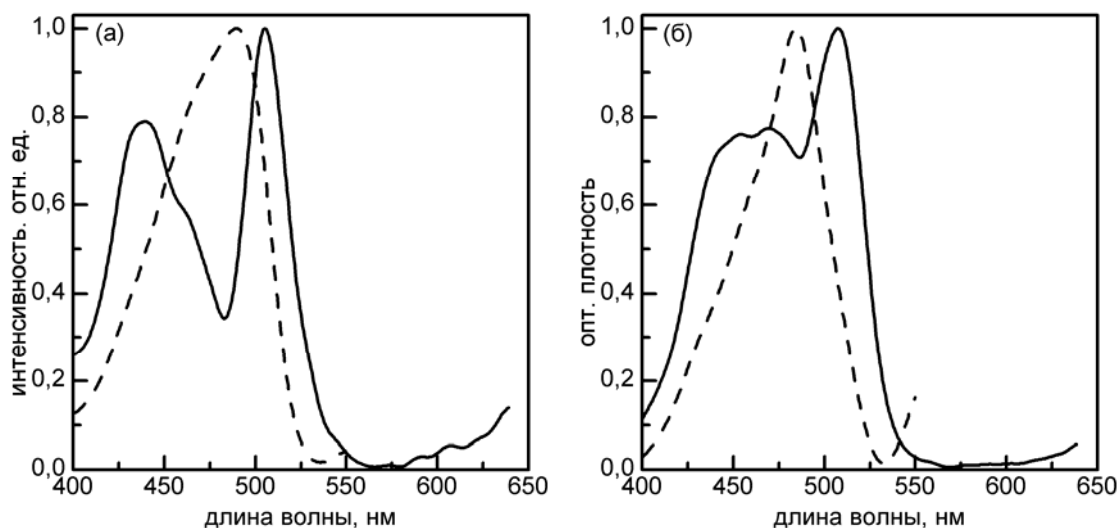


Рис. 5 Спектры возбуждения люминесценции красителя С6 при регистрации на разных участках полосы люминесценции (сплошная линия –  $\lambda_{\text{рег}} = 655$  нм и пунктирная линия –  $\lambda_{\text{рег}} = 560$  нм) в растворе ДМФА/вода в присутствии: а) ДНК и б) РНК.

Из Рис. 5 видно, что если спектры возбуждения люминесценции с регистрацией в мономерной полосе ( $\lambda_{\text{рег}} = 550$  нм), в общем, соответствует полосе поглощения (Рис. 3), то спектры возбуждения люминесценции с регистрацией в новой полосе ( $\lambda_{\text{рег}} = 655$  нм) значительно от нее отличаются. А именно, в последнем случае практически отсутствует возбуждение люминесценции через полосу, соответствующую поглощению мономеров ( $\lambda_{\text{погл}} = 482$  нм). В спектре возбуждения люминесценции при  $\lambda_{\text{рег}} = 655$  нм проявляются две полосы, смещенные как в коротковолновую ( $\lambda_1 = 440$  нм), так и в длинноволновую ( $\lambda_2 = 505$  нм) область относительно полосы мономеров. Появление одновременно двух полос свидетельствует об образовании димеров, у которых дипольные моменты находятся под косым углом друг к другу, образуя структуру типа «рыбья кость» [23,24]. Однако, в спектре поглощения красителя при взаимодействии с НК не выделяются полосы, соответствующие полосе с максимумом  $\lambda_2 = 505$  нм (Рис. 3). Отметим, что т.к. эта полоса находится ниже по уровню энергии, по сравнению с полосой  $\lambda_1 = 440$  нм, то именно она отвечает за наблюдаемую полосу люминесценции с максимумом  $\lambda = 655$  нм. Т.о. стоксов сдвиг оказывается равным 150 нм, что намного превышает типичные значения стоксового сдвига для красителей. Это означает, что наблюдаемая люминесценция относится к эксимерам красителя – люминесцентным димерам, существующим только в возбужденном состоянии [29,30].

Эксперименты показали, что эксимерная люминесценция красителя С6 наблюдается только при его взаимодействии с НК и отсутствует при взаимодействии с мицеллами различных поверхностно-активных веществ, АТФ, липосомами. Т.о. можно утверждать, что С6 является специфичным люминесцентным зондом для НК. Может возникнуть вопрос, а существенен ли вклад эксимерного свечения для практического применения данного красителя, ведь его интенсивность мала по сравнению с мономерным свечением (Рис. 3). Наблюдения с помощью люминесцентного микроскопа показали, что при взаимодействии с красителем С6 НК окрашиваются не в зеленый, а в оранжевый цвет, т.е. их можно выделить даже визуально. Кроме того, такой люминесцентный зонд можно использовать при анализе растворов при помощи проточной цитометрии.

## ВЫВОДЫ

Было показано, что оксакарбоцианиновый краситель с углеводородным радикалом  $C_6H_{13}$  (С6) эффективно взаимодействует с нуклеиновыми кислотами (ДНК и РНК), образуя при этом люминесцентные эксимеры. Образование эксимеров является специфичным для взаимодействия красителя С6 с НК и не происходит при взаимодействии с другими биологическими объектами. На основании этого, мы можем предложить данный краситель в качестве нового специфичного люминесцентного зонда для детекции НК в растворах.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M.J. Waring and J.B. Chaires (Eds.). DNA binders and related subjects. Berlin, Heidelberg: Springer. – 2005. – 432 P.
2. R. Haughland. Molecular Probes. Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals 9<sup>th</sup> ed.. Eugene, OR: Molecular Probes, Inc.. – 2002. – 880 P.
3. T.Y. Ohulchansky, H.E. Pudavar, S.M. Yarmoluk, V.M. Yashchuk, E.J. Bergey, P.N. Prasad. A Monomethine Cyanine Dye Cyan 40 for Two-photon-excited Fluorescence Detection of Nucleic Acids and Their Visualization in Live Cells // Photochem. Photobiol. – 2003. – v. 77, № 2. – P. 138-145.
4. S.M. Yarmoluk, M.Yu. Losytsky, V.M. Yashchuk. Nonradiative deactivation of the electronic excitation energy in cyanine dyes: influence of binding to DNA // J. Photochem. Photobiol. B. – 2002. – v. 67, № 1. – P. 57-63.

5. I. V. Valyukh, V. B. Kovalska, Y. L. Slominskii, S. M. Yarmoluk. Spectroscopic Studies of  $\alpha,\gamma$ -Disubstituted Trimethine Cyanine: New Fluorescent Dye for Nucleic Acids // *J. Fluoresc.* – 2002. – v. 12, № 1. – P. 105-107.
6. M. Yu. Losytskyy, K. D. Volkova, V. B. Kovalska, I. E. Makovenko, Yu. L. Slominskii, O. I. Tolmachev and S. M. Yarmoluk. Fluorescent Properties of Pentamethine Cyanine Dyes with Cyclopentene and Cyclohexene Group in Presence of Biological Molecules // *J. Fluoresc.* – 2005. – v. 15, № 6. – P. 849-857.
7. V.B. Kovalska, K.D. Volkova, M.Yu. Losytskyy, O.I. Tolmachev, A.O. Balanda, S.M. Yarmoluk. 6,6'-Disubstituted benzothiazole trimethine cyanines – new fluorescent dyes for DNA detection // *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2006. – v. 65, №2. – P. 271-277.
8. V.B. Kovalska, V.P. Tokar, M.Yu. Losytskyy, T. Deligeorgiev, A. Vassilev, N. Gadjev, K.-H. Drexhage, S.M. Yarmoluk. Studies of monomeric and homodimeric oxazolo[4,5-*b*]pyridinium cyanine dyes as fluorescent probes for nucleic acids visualization // *J. Biochem. Biophys. Method.* – 2006. – v. 68, № 3. – P. 155-165.
9. P.R. Bianco, L.R. Brewer, M. Corzett, R. Balhorn, Y. Yeh, S.C. Kowalczykowski, R.J. Baskin. Processive translocation and DNA unwinding by individual RecBCD enzyme molecules // *Nature.* – 2001. – v. 409. – P. 374-378.
10. L.S. Lerman. Structural considerations in the interaction of DNA and acridines // *J. Mol. Biol.* – 1961. – v. 3. – P. 18-30.
11. H.S. Rye, S. Yue, D.E. Wemmer, M.A. Quesada, R.P. Haughland, R.A. Mathies, A. Glazer. Stable fluorescent complexes of double-stranded DNA with bis-intercalating asymmetric cyanine dyes: properties and applications // *Nucleic Acids Res.* – 1992. – v. 20, № 11. – P. 2803-2812.
12. A. Larsson, C. Carlsson, M. Jonsson, B. Albinsson. Characterization of the Binding of the Fluorescent Dyes YO and YOYO to DNA by Polarized Light Spectroscopy // *J. Am. Chem. Soc.* – 1994. – v. 116. – P. 8459-8465.
13. B. Norden. Optical studies on complexes between DNA and pseudoisocyanine // *Biophys. Chem.* – 1977. – v. 6. – P. 31-45.
14. D.E. Wemmer, H.D. Dervan. Targeting the minor groove of DNA // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 1997. – v. 7. – P. 355-361.
15. J.L. Seifert, R.E. Connor, S.A. Kushon, M. Wang, B.A. Armitage. Spontaneous Assembly of Helical Cyanine Dye Aggregates on DNA Nanotemplates // *J. Am. Chem. Soc.* – 1999. – v. 121. – P. 2987-2995.
16. M. Wang, G.L. Silva, and B. Armitage. DNA-Templated Formation of a Helical Cyanine Dye J-Aggregate // *J. Am. Chem. Soc.* – 2000. – v. 122. – P. 9977-9985.
17. D.E. Wemmer. Ligands recognizing the minor groove of DNA: development and applications // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 2000. – v. 29. – P. 439-461.
18. E.G. McRae, M. Kasha in L. Augenstein, R. Mason, B. Rosenberg (Eds.). *Physical processes in radiation biology.* New York: Academic Press. – 1964. – 456 P.
19. V. Czikkely, H.D. Forsterling, H. Kuhn. Extended dipole model for aggregates of dye molecules // *Chem. Phys. Lett.* 6(3) (1970) 207-210.
20. T.Yu. Ogul'chansky, M.Yu. Losytskyy, V.B. Kovalska, S.S. Lukashov, V.M. Yashchuk, and S.M. Yarmoluk. Interaction of cyanine dyes with nucleic acids. XVIII. Formation of the carbocyanine dye J-aggregates in nucleic acid grooves // *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2001. – v. 57, № 13. – P. 2705-2715.
21. M.Yu. Losytskyy, V.M. Yashchuk, S.S. Lukashov, S.M. Yarmoluk. Davydov Splitting in Spectra of Cyanine Dye J-Aggregates, Formed on the Polynucleotides // *J. Fluoresc.* – 2002. – v. 12, № 1. – P. 109-112.
22. A. Chowdhury, S. Wachsmann-Hogiu, P.R. Bangal, I. Raheem, L.A. Peteanu. Characterization of Chiral H and J Aggregates of Cyanine Dyes Formed by DNA Templating Using Stark and Fluorescence Spectroscopies // *J. Phys. Chem. B.* – 2001. – v. 105, № 48. – P. 12196-12201.
23. T. Kobayashi (Ed.). *J-Aggregates.* – Singapore, New Jersey, London, Hong Kong: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.. – 1996. – 346 P.
24. Шапиро Б.И. Молекулярные ансамбли полиметиновых красителей // *Успехи химии.* – 2006. – Т.75, №5. – С. 484–510.
25. G.Ya. Guralchuk, A.V. Sorokin, I.K. Katrunov, S.L. Yefimova, A.N. Lebedenko, Yu.V. Malyukin, S.M. Yarmoluk. Specificity of cyanine dye L-21 aggregation in solutions with nucleic acids // *J. Fluorescence* – 2007. – v.17, № 4. – P. 370-376.
26. Г.Я. Гуральчук, Р.С. Гринёв, И.К. Катрунов, А.В. Сорокин, С.Л. Ефимова, Ю.В. Малукин, С.М. Ярмолук. Применение агрегатов цианиновых красителей для детекции нуклеиновых кислот // *Биофиз. вестник.* – 2007. – в.18, № 1. – С. 102-107.

27. Гончарук Е.И., Онищенко Е.В., Тимон В.В., Петренко Т.Ф., Боровой И.А., Малюкин Ю.В., Грищенко В.И. Применение карбоцианиновых флуоресцентных зондов для оценки функционального состояния культивированных клеток после криоконсервации // Биополимеры и клетка. – 2008. – т. 24, № 3. – С. 225-231.
28. Малюкин Ю.В., Боровой И.А., Кавок Н.С., Герашенко А.В., Погребняк Н.Л., Ефимова С.Л., Лебеденко А.Н. Накопление оксакарбоцианинов с различной длиной алкильных цепей в клетках костного мозга и гепатоцитах // Биофизика. – 2007. – т. 52, № 4. – С. 667-673.
29. Е.И. Капинус. Фотоника молекулярных комплексов. Киев: Наукова думка. – 1988. – 312 С.
30. M. Gordon, W.R. Ware (eds.). The exciplex. – New York: Academic Press. – 1975. – 432 P.