

УДК 577.3

**ФИЗИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ
АКТИНОЦИНА С ДНК**
**7. ПЬЕЗОГРАВИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ ДНК
С ПРОИЗВОДНЫМИ АКТИНОЦИНА**

**Т.В.Большух, Е.В.Духопельников, М.А.Семенов, Е.Г.Березняк, В.Я.Малеев,
Е.Н.Глибин*, Д.В.Овчинников***

Институт радиофизики и электроники им. А.Я.Усикова НАН Украины, ул. Ак. Проскуры, 12, г.Харьков, 61085

**) Санкт-Петербургский государственный технический университет, Россия*

e-mail: berez@ire.kharkov.ua

Поступила в редакцию 26 апреля 2002 г.

С помощью метода кварцевого резонатора получены изотермы гидратации тимусной ДНК, производных актиноцина с различной длиной метиленовых цепочек в боковых радикалах, а также их комплексов. Найдено, что способность комплексов к сорбции молекул воды меньше, чем у чистой ДНК, и зависит от длины боковых метиленовых цепочек: чем длиннее боковая цепь лиганда, тем меньше воды сорбируется на комплексах. Сопоставление экспериментальных изотерм гидратации с моделями адсорбции, полученными с помощью модифицированного уравнения Д'Арси и Ватта, позволило установить зависимость констант связывания молекул воды с гидратно-активными центрами комплексов от длины метиленовых цепочек лигандов. Величина констант оказалась большей, чем в случае чистой ДНК. Рассчитаны теплоты адсорбции воды на ДНК и ее комплексах на разных стадиях адсорбции. Показано, что стабилизация ДНК в составе комплексов на 50-60% осуществляется за счет взаимодействия с молекулами воды гидратной оболочки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ДНК, производные актиноцина, интеркаляция, пьезогравиметрия, модель Д'Арси и Ватта, термодинамические параметры адсорбции

Исследование молекулярных механизмов взаимодействия антибиотиков с ДНК необходимо для понимания природы их биологического действия, а также для разработки рекомендаций для направленного синтеза более эффективных лекарственных препаратов. К таким веществам относятся производные актиноцина - аналоги известного противоопухолевого антибиотика актиномицина D. В этих соединениях имеются диметиламинные группы атомов, присоединенные к 1-му и 9-му атомам хромфора посредством метиленовых цепочек разной длины.

Как известно, производные актиноцина взаимодействуют с ДНК по типу интеркаляции и внешнего связывания. В предыдущих работах [1-4] методом ИК-спектроскопии нами изучались комплексы этих веществ с ДНК в пленках с контролируемым содержанием воды. Было найдено, что при увеличении содержания воды (начиная с нулевой относительной влажности (ОВ)) одновременно гидратируются азотистые основания и сахарофосфатный остов нуклеиновой кислоты, а также гидратно-активные центры лиганда. Обнаружено, что ДНК в составе комплекса в процессе увлажнения переходит из неупорядоченного состояния в необычную спиральную структуру, особенностью которой является отсутствие при высоких значениях ОВ ИК-спектроскопических признаков, характерных для В-формы чистой ДНК. На структуру ДНК в комплексе оказывает влияние не только вода, но и взаимодействие с производными актиноцина с разным числом CH_2 групп (n) в боковых цепях. Особенностью структуры комплекса ДНК - производное актиноцина с $n=2$ является взаимодействие концевых диметиламинных групп атомов интеркалированного лиганда с сахарофосфатным остовом ДНК. Методом дифференциальной сканирующей микрокалориметрии обнаружено [5], что этот комплекс обладает наибольшей стабильностью. Для детального выяснения молекулярных механизмов взаимодействия ДНК с производными актиноцина с разной длиной метиленовых цепочек актуальным является определение вкладов обнаруженных типов взаимодействий в стабилизацию структуры комплексов. Ранее нами было показано [6], что молекулы воды за счет установления водных мостиков с гидратно-активными центрами нуклеиновых кислот вносят основной вклад в энергию стабилизации канонических структур ДНК. Поскольку при формировании комплексов ДНК с производными актиноцина происходит одновременная гидратация ДНК и интеркалированных лигандов [4], то вода, по-видимому, и в этом случае оказывает стабилизирующее действие. Это предположение подтверждается результатами исследования влажных пленок ДНК в комплексах с интеркалированными красителями [7-9] и данными, полученными методом рентгено-структурного анализа о наличии пентагонов из молекул воды в структуре кристаллогидрата комплекса интеркалятора - профлавина с динуклеотидфосфатом $d(\text{C}_p\text{G})$ [10, 11]. О стабилизирующем действии воды свидетельствуют предварительные расчеты, выполненные для комплекса двуспирального

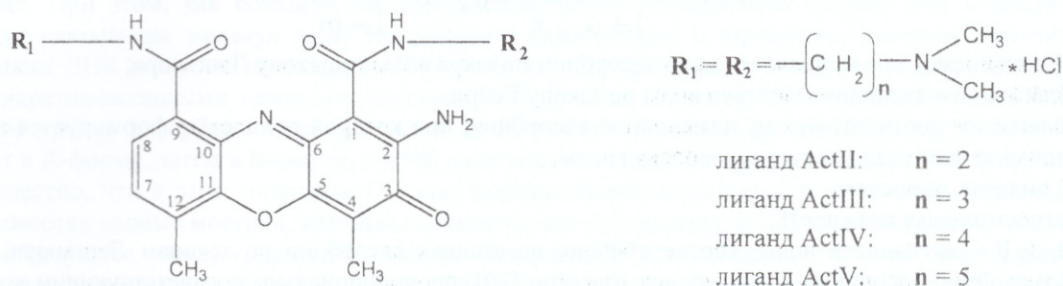
Физические механизмы взаимодействия производных актиноцина с ДНК. 7. ...

октамера ДНК с производным актиноцина с $n = 2$ [12]. Однако отсутствие экспериментальных данных об энергиях взаимодействия молекул воды с комплексами ДНК – производное актиноцина не позволяет провести оценку вклада воды в стабилизацию структуры ДНК в составе комплексов.

В связи с этим в данной работе с помощью чувствительной пьезограмметрической установки [13] проведено экспериментальное исследование адсорбции воды на пленках ДНК и ее комплексов с производными актиноцина с разной длиной метиленовых цепочек ($2 \leq n \leq 5$). Аппроксимация экспериментальных изотерм гидратации модифицированным уравнением Д'Арси и Ватта [14] позволила определить термодинамические параметры связывания воды с ДНК и комплексами ДНК- производные актиноцина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовалась тимусная ДНК, выделенная в лаборатории проф. Ландо Д.Ю. (Институт биоорганической химии АН Беларуси, Минск), со следующими параметрами: нуклеотидный состав АТ/ГС = 1,36, молекулярная масса $M > 10^7$ D, гипохромный эффект $h = 38-40\%$ при $\lambda = 260$ нм. Спектральные и аналитические характеристики производных актиноцина, синтезированных в Санкт-Петербургском государственном техническом университете (Россия), приведены в работах [15-17]. В исследованных соединениях (лиганды ActII-V) к амидным группам в положении 1 и 9 феноксазонового хромофора присоединены диметиламиноалкильные группировки, терминальный атом азота которых в водных растворах имеет положительный заряд:



Концентрацию ДНК в растворе определяли спектрофотометрически [18]. Содержание соли NaCl составляло около 3%, воды – 18% по отношению к сухому весу ДНК. Комплексы ДНК-лиганд готовили, как описано ранее в [1-4] с $P/D = 5 - 8,5$ (отношение молей фосфатов ДНК к молям исследуемого лиганда).

Изотермы гидратации лигандов, ДНК и их комплексов были получены на пьезограмметрической установке, описанной ранее [13]. Пьезограмметрический метод получения изотерм гидратации веществ основан на определении зависимости изменения резонансной частоты кварцевого резонатора (Δf) от массы вещества (m), нанесенного на поверхность кварцевой пластины [19]:

$$\Delta f = \frac{-f_0^2 \cdot K \cdot m}{N \cdot \rho \cdot A} = G_f \cdot m, \quad (1)$$

где f_0 , ρ , A – резонансная частота, плотность и площадь пластины кварца, соответственно;

N и K – постоянные кварца. Значение K зависит от распределения массы вещества по поверхности кварца и равно ~ 1 , если вещество равномерно расположено на контакте пластины. Величина N характеризует тип среза кварца и связана с резонансной характеристикой и толщиной t кварцевого резонатора соотношением $f_0 = N/t$. В работе использовались кварцы ВТ-среза с характеристиками: $f_0 = 6,06$ МГц, $t = 0,04$ см, $A = 1$ см², $G_f = 5,72 \cdot 10^7$ Гц/г, что позволило достоверно исследовать образцы массой $\sim 7 \cdot 10^{-8}$ г. При достаточно малых величинах m и при $\Delta f/f_0 \ll 0,01$ выражение (1) дает хорошую линейную аппроксимацию, которая использовалась нами для определения m .

Равномерные по толщине пленки ДНК и ее комплексов с производными актиноцина получали путем испарения воды при температуре 20°C и 50%ОВ из раствора (1 мг вещества в 1 мл воды), нанесенного в количестве $\sim 0,05$ мл на платиновые контакты кварцевого кристалла. Сушку образцов проводили в вакуумной камере при давлении 10^{-3} Торр. Увлажнение пленок осуществляли путем дозированной подачи паров воды в камеру из термостатированного баллона с дважды дистиллированной и обезгаженной водой. Равновесное состояние адсорбции воды на образцах достигалось в течение 30 минут и определялось по установлению постоянного значения разностной частоты кварцевого резонатора. Давление водяного пара в камере контролировалось с помощью калиброванного U-образного масляного манометра с точностью ± 1 мм масляного столба, что соответствует 0,25%ОВ. Термостатирование кварцевых датчиков осуществлялось с точностью $\pm 0,5$ °C. Ошибка измерения частоты кварцевых резонаторов составляла не более ± 1 Гц.

Изотермы гидратации, т.е. зависимости от ОВ грамм сорбированной воды на грамм сорбента (или молей воды на моль сорбента), получали по формуле:

$$g = \frac{\delta f}{\Delta f} = \frac{\delta m}{\Delta m} \quad \text{или} \quad n = \frac{M_{\text{нукл., лиг.}}}{M_{\text{H}_2\text{O}}} \cdot \frac{\delta f}{\Delta f} \quad (2)$$

$$\delta f = \Delta f_i - \Delta f_m,$$

где Δf_i – текущее значение разностной частоты между опорным и измерительным кварцевыми резонаторами при i – влажности;

Δf_m – изменение разностной частоты, вызванной сухим образцом;

δm – прирост массы воды;

Δm – масса сухого вещества;

$M_{\text{нукл.}}$, $M_{\text{лиг.}}$ и $M_{\text{H}_2\text{O}}$ – молекулярные массы нуклеотида, лиганда и воды, соответственно.

Измерение величин g и n для ДНК, лигандов и их комплексов проводили в интервале 0-90%ОВ при температуре 20°C. Погрешность определения n при повторных измерениях составляла в среднем $\pm 0,05$.

Полученные экспериментальные изотермы гидратации были аппроксимированы с помощью модифицированного уравнения Д'Арси и Ватта [14]:

$$V(x) = \frac{V_m \cdot a_n \cdot x}{1 + a_n \cdot x} + a_2 \cdot x + \frac{bx}{1 - bx}, \quad (3)$$

где 1-е слагаемое представляет стадию адсорбции молекул воды по закону Лэнгмюра;

2-е слагаемое – адсорбция молекул воды по закону Генри;

3-е слагаемое соответствует мультислойной адсорбции, при которой полностью формируется гидратная оболочка за счет слабо связанных молекул воды;

V_m – емкость монослоя;

x – относительная влажность;

a_n , a_2 и b – активности воды, соответственно, на стадиях адсорбции по законам Лэнгмюра, Генри и мультислойной адсорбции, которые, как известно [20], пропорциональны соответствующим константам адсорбционного равновесия (K_n , K_2 и K_b).

При аппроксимации изотерм использовали программу минимизации функции многих переменных [21]. Среднеквадратичное отклонение рассчитанных изотерм от экспериментальных составляло не более 0,05 грамм воды на грамм сорбента.

ИК-спектры пленок производных актиноцина были получены с помощью методики, описанной в работах [1-2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изотермы гидратации производных актиноцина

На рис.1 представлены изотермы гидратации производных актиноцина с разной длиной метиленовых цепочек (ActII-V). Видно, что в интервале 0-60%ОВ наблюдается плавный ход изотерм адсорбции воды всеми лигандами. Как показали ИК-спектроскопические исследования пленок лигандов в диапазоне 900-1800 см^{-1} [1-2, 4] в этом интервале влажности происходит связывание молекул воды хиноидным кислородом в положении 3 и аминогруппой в положении 2 феноксазонового хромофора лигандов, а также карбонильными группами боковых цепей

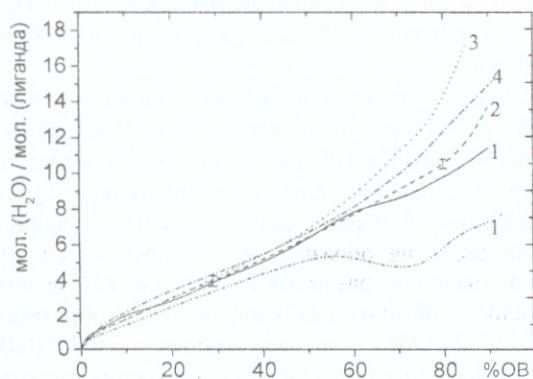


Рис.1. Изотермы гидратации лигандов ActII (1 – $\Delta f_m = 400$ Гц и 1' – $\Delta f_m = 3370$ Гц), ActIII (2), ActIV (3), ActV (4)

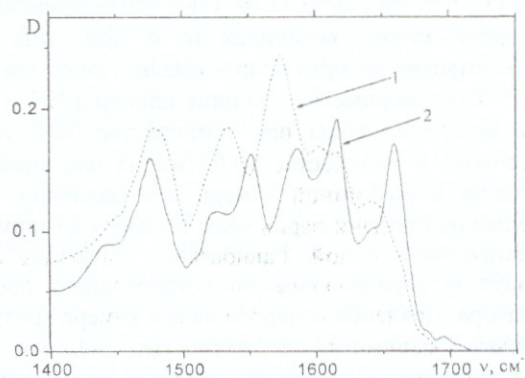


Рис.2. ИК-спектры пленки лиганда ActII при 0%ОВ: 1 - до увлажнения; 2 - после сушки увлажненного при 56%ОВ образца

Однако во 2-м интервале изменения ОВ от 60 до 90% изотермы адсорбции воды лигандами существенным образом отличаются. Если лиганды с длинными метиленовыми цепочками ($n = 4, 5$) продолжают плавно сорбировать воду, как и в первом интервале ОВ, то сорбция воды на лигандах с короткими метиленовыми цепочками ($n = 2, 3$) во втором интервале ОВ уменьшается. Особенно ярко этот эффект проявляется для изотерм, полученных для больших масс лиганда ActII (рис.1, кривая 1'). Это, по-видимому, связано с ассоциацией молекул лиганда, которая происходит при активности воды около 60%ОВ. В этих условиях могут формироваться межмолекулярные контакты ассоциированных молекул, что приведет к уменьшению уровня адсорбции воды. О формировании квазикристаллической структуры в пленке лиганда ActII свидетельствуют ИК-спектроскопические эксперименты, в которых после сушки увлажненных при 56%ОВ образцов обнаружено сужение полос поглощения карбонильных колебаний, колебаний атомов $C=N$, $C=C$ (рис.2) и валентных колебаний $N-H$. Длинные метиленовые цепочки лигандов ActIV и ActV, вероятно, препятствуют ассоциации молекул при 60%ОВ, поэтому во втором интервале ОВ для этих лигандов происходит мультислойная адсорбция. По этой причине различаются уровни сорбции молекул воды лигандами с разными длинами метиленовых цепочек.

Изотермы гидратации ДНК и ее комплексов с производными актиноцина

На рис.3 представлены изотермы гидратации чистой ДНК и ее комплексов с лигандами ActII-V. Видно, что при изменении ОВ от 0 до 55% происходит плавное увеличение адсорбции воды на ДНК и ее комплексах. При этом, как показали ИК-спектроскопические исследования пленок этих веществ [4], происходит связывание молекул воды сахарофосфатным остовом и азотистыми основаниями чистой ДНК, а также ДНК в составе комплексов. В комплексах одновременно происходит связывание молекул воды с гидратно-активными центрами лигандов [1-2, 4]. При ОВ выше 50% происходит дальнейшее увеличение уровня адсорбции воды на чистой ДНК и ее комплексах. Чистая ДНК при этом сначала переходит в А-форму, затем в В-форму, а ДНК в составе комплекса - только в спиральную форму типа А [4, 6]. Известно, что в этом интервале ОВ при формировании спиральных конформаций чистой ДНК устанавливаются водные мостики, которые стабилизируют ее структуру [6]. Вполне возможно, что такие мостики образуются между гидратно-активными центрами ДНК и лигандов. Об этом свидетельствует дальнейшая гидратация азотистых оснований, сахарофосфатного остова и гидрофильных групп лигандов в этом интервале ОВ [4]. Однако количество водных мостиков в комплексах различно, поскольку уровень сорбции молекул воды комплексами неодинаков: при 90%ОВ комплексы ДНК с лигандами ActII-IV сорбируют на 1-2 молекулы воды на нуклеотид меньше, чем чистая ДНК, а комплекс ДНК с лигандом ActV, у которого наиболее длинные боковые цепи, имеет самую низкую сорбционную способность (на 4 молекулы воды на нуклеотид меньше, чем чистая ДНК) (рис.3). Это объясняется тем, что гидрофобные метиленовые цепочки ограничивают доступ молекул воды к гидратно-активным центрам ДНК.

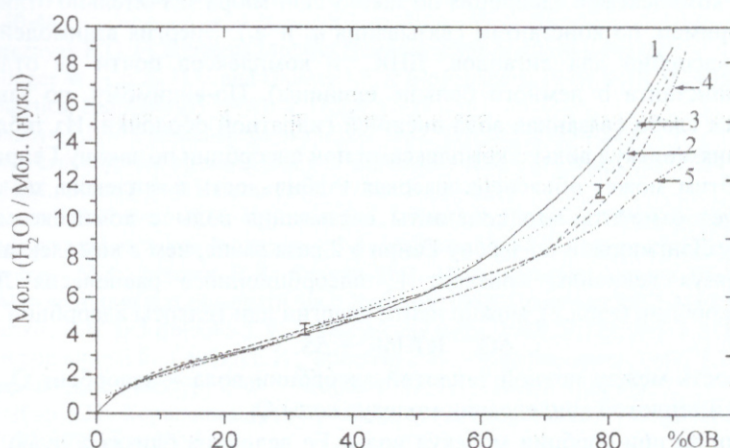


Рис.3. Изотермы гидратации чистой ДНК (1), и ее комплексов с лигандами ActII (2), ActIII (3), ActIV (4), ActV (5)

Термодинамические параметры адсорбции воды на лигандах и комплексах

Для определения констант сорбции и величин емкости монослоя (V_m) в первом адсорбционном слое лигандов и комплексов полученные изотермы гидратации были аппроксимированы модифицированным уравнением Д'Арси и Ватта в интервале от 0 до 70%ОВ, как в работе [14]. Найденные в ходе минимизации параметры приведены в табл.1 и табл.2. На рис.4 и рис.5 для примера представлены экспериментальные изотермы для лиганда ActIII и его комплекса с ДНК, а также рассчитанные

изотермы, описываемые кривыми адсорбции по закону Лэнгмюра, Генри и мультислойной адсорбции. Видно, что при изменении ОВ от 0 до 50% основной вклад в изотерму гидратации комплексов вносит адсорбция воды по законам Генри и Ленгмюра, в то время как в изотерму гидратации производных актиноцина в основном адсорбция по закону Генри. Этот эффект, по-видимому, связан с большей гетерогенностью гидратно-активных центров комплексов по сравнению с лигандами.

Таблица 1. Термодинамические параметры адсорбции воды на лигандах

	Лэнгмюр		Генри	Мультислой
	Vm	a _л	a _г	b
ActII	1,07	31,13	9,45	1,02
ActIII	1,04	30,85	9,68	1,01
ActIV	0,85	24,66	10,02	1,01
ActV	2,02	20,53	7,22	1,04

Таблица 2. Термодинамические параметры адсорбции воды на комплексах ДНК-лиганды

Вещество	Лэнгмюр		Генри	Мультислой
	Vm	a _л	a _г	b
ДНК	2,05	26,12	3,54	1,09
ДНК - ActII	1,42	40,81	8,42	1,04
ДНК - ActIII	1,95	22,54	5,76	1,09
ДНК - ActIV	1,86	24,33	5,20	1,07
ДНК - ActV	1,59	26,58	8,11	1,03

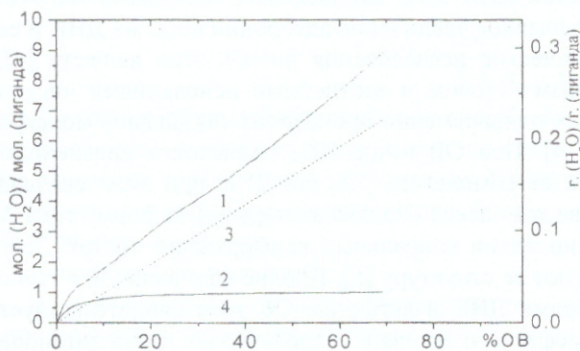


Рис.4. Изотерма гидратации лиганда ActIII(1) и ее аппроксимация кривыми адсорбции по закону Лэнгмюра (2), Генри (3) и мультислойной адсорбции(4).

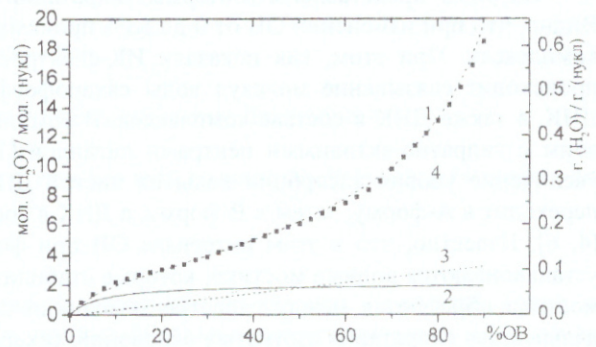


Рис.5. Изотерма гидратации комплекса ДНК - ActIII (1) и ее аппроксимация кривыми адсорбции по закону Лэнгмюра (2), Генри (3) и мультислойной адсорбции(4)

Из данных, приведенных в табл.1 и табл.2 можно видеть, что по энергии связывания молекул воды с лигандами, ДНК и их комплексами адсорбция по закону Лэнгмюра значительно отличается от адсорбции по закону Генри (например, по константам связывания a_l и a_g). Энергия взаимодействия молекул воды при мультислойной адсорбции для лигандов, ДНК и комплексов почти не отличается от энергии конденсации воды (константа b немного больше единицы). По-видимому, по закону мультислойной адсорбции сорбируется слабо связанная вода внешней гидратной оболочки. Из табл.2 также видно, что энергии взаимодействия молекул воды с комплексами при адсорбции по закону Генри значительно выше, чем с чистой ДНК. Этим может объяснена высокая стабильность комплексов по сравнению с чистой ДНК[5]. Особо следует отметить, что константы связывания воды с комплексом ДНК - ActII и при адсорбции и по закону Лэнгмюра, и по закону Генри в 2 раза выше, чем с комплексами ДНК - ActIII-V и чистой ДНК. Используя величины констант K_i адсорбционного равновесия Лэнгмюра, Генри и полимолекулярной адсорбции (табл.2), можно найти энергии или теплоты адсорбции ΔQ_i [22]:

$$\Delta Q_i = RT \ln K_i + \Delta S, \quad (4)$$

где $\Delta Q_i = Q_i - Q_L$ – разность между полной теплотой адсорбции вода – адсорбент Q_i в соответствующем адсорбционном слое i и теплотой конденсации молекул воды Q_L ;

ΔS – изменение энтропии при сорбции молекул воды. Ее величина близка к нулю [23], поэтому вклад второго слагаемого в уравнение (4) незначителен и им можно пренебречь. При определении общей теплоты адсорбции воды мы не учитывали вклад воды при полимолекулярной адсорбции, так как значения константы адсорбции b для ДНК и комплексов близки к единице.

В табл.3 приведены теплоты адсорбции молекул воды на чистой ДНК и ее комплексах с лигандами ActII-V по закону Лэнгмюра ΔQ_L , Генри ΔQ_G и их сумма ΔQ . В пятой колонке приведены энергии перехода спираль-клубок по данным дифференциальной сканирующей микрокалориметрии [5]. Согласно работе [6] в общую энергию стабилизации ДНК и комплексов вносят вклад энергии водородных связей в уотсон-криковских парах, энергии взаимодействия ДНК с молекулами воды гидратной оболочки и энергии взаимодействия ДНК - лиганд. Полагая, что при тепловой денатурации ДНК и ее комплексов

Физические механизмы взаимодействия производных актиноцина с ДНК. 7. ...

разрушаются эти типы взаимодействий, на основании представленных в табл. 3 данных можно оценить вклад воды в общую энергию стабилизации этих структур. Такие оценки представлены в шестой колонке этой таблицы. Видно, что вклад молекул воды в общую энергию стабилизации ДНК и ее комплексов составляет 50-60%.

Таблица 3. Теплоты адсорбции воды по законам Лэнгмюра ΔQ_L и Генри ΔQ_G , рассчитанные на моль нуклеотидов ДНК и ее комплексов; ΔQ - суммарная теплота адсорбции на моль пар нуклеотидов; ΔH - энергия перехода спирально-клубок на моль пар нуклеотидов ДНК по данным калориметрии [5]. D-вклад ΔQ в ΔH

Вещество	ΔQ_L (Ккал на моль нукл)	ΔQ_G (Ккал на моль нукл)	$\Delta Q = \Delta Q_L + \Delta Q_G$ (Ккал на моль пар нукл)	ΔH (Ккал на моль пар нукл)	D %
ДНК	1,90	0,32	4,44	7,5	60±10
ДНК - ActII	2,16	1,24	6,80	12,3	56±10
ДНК - ActIII	1,81	1,02	5,66	10,4	54±10
ДНК - ActIV	1,86	0,96	5,64	10,0	56±10
ДНК - ActV	1,91	1,22	6,26	9,7	64±10

Таким образом, проведенное исследование адсорбционных свойств воды на ДНК и комплексах ДНК-производные актиноцина с разной длиной метиленовых цепочек позволило установить, что энергии взаимодействия молекул воды с комплексами зависят от длины метиленовых цепочек лигандов. Показано, что в случае комплексов ДНК с лигандами ActII-V взаимодействия с гидратным окружением существенным образом стабилизируют спиральную структуру ДНК, как и в случае чистой ДНК.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке по программе INTAS'97, грант 31753.

ЛИТЕРАТУРА

- Семенов М.А., Гасан А.И., Малеев В.Я и др. // Вісн.ХДУ №488. Біофізичний вісник. 2000. Вип.1(6). С.14-18
- Семенов М.А., Сагайдакова Н.Н., Большух Т.В. и др. // Вісн.ХДУ №497. Біофізичний вісник. 2000. Вип.2(7). С.16-23
- Семенов М.А., Круглова Е.Б., Духопельников Е.В., Большух Т.В., Малеев В.Я. // Вісн.ХДУ №528. Біофізичний вісник. 2001. Вип.2 (9). С.33-39
- Березняк Е.Г., Семенов М.А., Большух Т.В., Духопельников Е.В. и др. // Вісн.ХДУ. Біофізичний вісник. 2002 (в печати)
- Семенов М.А., Большух Т.В., Березняк Е.Г., Зинченко А.В., Малеев В.Я. // Вісн.ХДУ №528. Біофізичний вісник. 2001. Вип.2(9). С.40-44
- Seменов M.A., Bereznyak E.G. // Comments Mol.Cel.Biophys. 2000. V.10. №1. P.1-23
- Berman H.M., Stallings W., Corell H.L. and Glusker J.P. // Biopolymers. 1979. V.18. P.2405-2429
- Dongherty G. // Analytical Biochemistry. 1981. V.115. P.52-57
- Семенов М.А., Большух Т.В. // Биополимеры и клетка. 1987. Т.3. №5. С.234-240
- Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. М.: Мир. 1987. 584 с.
- Neidle S., Berman H.M., Shich H.S. // Nature. 1980. V.288. P.129-133
- Семенов М.А., Малеев В.Я., Глибин Е.Н., Круглова Е.Б., Гасан А.И., Большух Т.В., Березняк Е.Г., Шестопалова А.В. Физические явления в твердых телах. Материалы 5-й международной конференции. Харьков. 2001. с 74
- Большух Т.В. Семенов М.А. Малеев В.Я. Сечкин В.В. Использование метода кварцевого резонатора для получения изотерм гидратации полинуклеотидов // Харьков. 1983. Препринт ИРЭ АН УССР. №228
- Seменов M.A., Starikov E.V. and Bolbukh T.V. // Studia biophysika. 1988. V.123. №3. P.217-224
- Кривцова М.А., Морозкина Е.Б., Глибин Е.Н., Фрисман Э.В. // Мол.биология. 1982. Т.16. Вып.1. С.149-155
- Глибин Е.Н., Цукерман В.Б., Гинзбург О.Ф. // ЖОрХ. 1981. Т.17. Вып.3. С.657-663
- Гинзбург О.Ф., Глибин Е.Н., Коршунова З.И., Кривцова М.А., Яворская Н.П., Софивина З.П., Цимбалова С.С. // А.с.№677293 (СССР). 1992. БИ. №15
- Спирин А.С. // Биохимия. 1958. Т.23. С.656-662
- Gascoyne P.R.C., Pethig P. // J.Chem.Soc.Faraday Trans. 1977. V.1. P.171-180
- Герасимов Я.И., Древинг В.П., Еремин Е.Н. и др. Курс физ-химии. М.-Л.: Химия. 1964. 452с.
- Химмельблау Д. Прикладное нелинейное программирование. М.: Мир. 1975. 534 с.
- Стариков Е.Б., Большух Т.В., Семенов М.А. Изучение изотерм гидратации нуклеиновых кислот // Харьков. 1987. Препринт ИРЭ АН УССР. №359
- Falk M., Hartman K.A. // J. Amer. Chem. Soc. 1962. V.84. №20. P.3843-3845