

МОЛЕКУЛЯРНА БІОФІЗИКА

УДК 577.3

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ Cu^{2+} НА ДНК В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ, СОДЕРЖАЩИХ 1,2-ПРОПАНДИОЛ И ГЛИЦЕРИН, МЕТОДОМ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ**Е.В. Хакл, С.В. Корнилова, Ю.П. Благой***Физико-технический институт низких температур им. Б.И.Веркина НАН Украины, 310164, Харьков, пр. Ленина, 47, E-mail: hackl@ilt.kharkov.ua*

Статья поступила 20 мая 1998 г.

В настоящей работе методом ИК спектроскопии изучено взаимодействие ионов Cu^{2+} с ДНК в водных растворах, содержащих малые (до 20 об %) добавки глицерина и 1,2-пропандиола, при 29 и 45⁰С. Показано, что ионы Cu^{2+} вызывают переход ДНК в компактную форму в водном и водно-глицериновом (пропандиоловом) растворах как при 29, так и при 45⁰С. Этот процесс носит кооперативный характер. Добавление 1,2-пропандиола к водному раствору ДНК увеличивает кооперативность перехода ДНК в компактную форму и уменьшает концентрацию ионов Cu^{2+} , необходимую для индуцирования этого процесса. Эффект 1,2-пропандиола монотонно увеличивается с ростом его объемной концентрации (в интервале концентраций 0-20 об %) при 29 и 45⁰С. Влияние глицерина на компактизацию ДНК носит немонотонный характер: малые (4 об %) добавки глицерина к водному раствору ДНК уменьшают кооперативность перехода ДНК в компактное состояние при 29⁰С. Сравнение влияния малых добавок 1,2-пропандиола и глицерина, для которых изменение диэлектрической проницаемости раствора практически одинаково, на Cu^{2+} -индуцированную конденсацию ДНК позволяет сделать вывод о том, что конденсация ДНК под влиянием ионов Cu^{2+} зависит не только от диэлектрической проницаемости, но и от структуры образующегося раствора.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ДНК, ИК-спектроскопия, ионы меди, 1,2-пропандиол, глицерин, конденсация ДНК.

В нашей предыдущей работе [1] мы показали, что под действием ионов двухвалентных металлов, в том числе ионов Cu^{2+} , ДНК может переходить в компактное состояние. Используемый в этой работе метод ИК спектроскопии позволяет исследовать взаимодействие ионов Cu^{2+} с ДНК в растворе с высокой концентрацией биополимера, достаточно близкой к локальной концентрации ДНК *in vivo* [2]. Дальнейшим приближением к условиям, в которых функционирует ДНК в живой клетке, является изучение взаимодействия ионов Cu^{2+} с ДНК в растворе с пониженной активностью воды, поскольку в клетке ДНК находится в условиях частичной дегидратации [3]. *In vitro* понижение активности воды эквивалентно добавлению менее полярных, чем вода, растворителей к водному раствору ДНК. В

настоящей работе мы исследовали взаимодействие ДНК с ионами Cu^{2+} в водных растворах, содержащих малые (до 20 об. %) добавки 1,2-пропандиола и глицерина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовалась нативная ДНК тимуса теленка с молекулярным весом $1.9 \cdot 10^7$ Da, содержанием белка менее 0.3 %, РНК менее 0.2 % и гипохромным эффектом 36 %. Количество элементов Na^+ и K^+ , определенное с помощью пламенного фотометра ФПЛ-1, в препаратах ДНК по отношению к их сухому весу составляло соответственно $7.0 \pm 0.2\%$ и $0.6 \pm 0.2\%$. ДНК была получена в лаборатории проф. Д. Ландо (Институт биоорганической химии АН Республики Беларусь). Подробно методы определения и очистки препарата ДНК описаны в [4]. Препараты ДНК растворяли в какодилатном буфере, концентрация ионов Na^+ составляла 5×10^{-3} М, $\text{pH} = 7.0$. Концентрация ДНК в растворе определялась с помощью УФ-спектроскопии [5] и была в пределах $(3 \div 5) \times 10^{-2}$ М фосфора.

Активность воды изменялась путем добавления 1,2-пропандиола или глицерина к водному раствору ДНК. В работе использовались спектрально чистые препараты глицерина и пропандиола («Sigma»), а также CuCl_2 (х.ч.). Концентрация неэлектролитов выражалась в объемных процентах.

Инфракрасные спектры комплексов ДНК с ионами меди регистрировали с помощью двулучевого инфракрасного спектрофотометра UR-20 (Karl Zeiss, Германия). Оптимальная ширина щели соответствовала щелевой программе N 4, скорость регистрации спектра - $10 \text{ см}^{-1}/\text{мин}$. Для записи спектров использовались флюоритовые разборные кюветы с толщиной рабочего слоя 50 мкм , сделанные по модели, предложенной Фишманом [6]. Подробно конструкция кювет описана в работах [7, 8]. Кюветы термостатировались при температуре 29 или 45°C с помощью термостата, температура в кювете измерялась термопарой медь-константан с точностью $\pm 0.05^\circ\text{C}$.

Оптическую плотность D (с точностью 2 %) определяли методом базовой линии [9], за которую принимали значение D при построении общего спектра поглощения на частоте $\nu = 1400 \text{ см}^{-1}$, где отсутствовали полосы поглощения.

Поскольку в области поглощения фосфатных групп ДНК ($1000\text{-}1400 \text{ см}^{-1}$) присутствуют полосы поглощения С-О групп использовавшихся в работе спиртов, проводилась компенсация растворителей путем помещения в канал сравнения спектрофотометра кюветы переменной толщины с растворителем. Подробно принцип компенсации применительно к используемым кюветам описан в [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Были получены ИК-спектры комплексов ДНК с ионами Cu^{2+} в водном и смешанных растворах, содержащих 4 и 9 % глицерина, 4, 9 или 20 % пропандиола, при температуре 29 и 45°C . Спектры регистрировались в области поглощения фосфатных групп ДНК ($1000\text{-}1400 \text{ см}^{-1}$). Поскольку изменения, происходящие в ИК спектрах ДНК при ее связывании с ионами меди в водных и смешанных растворах, содержащих добавки 1,2-пропандиола и глицерина, имеют сходный характер, рассмотрим общие особенности ИК спектров комплексов ДНК- Cu^{2+} на примере ИК спектров комплексов ДНК - Cu^{2+} в 4%-ном водном растворе 1,2-пропандиола, полученных при 45°C (рис.1):

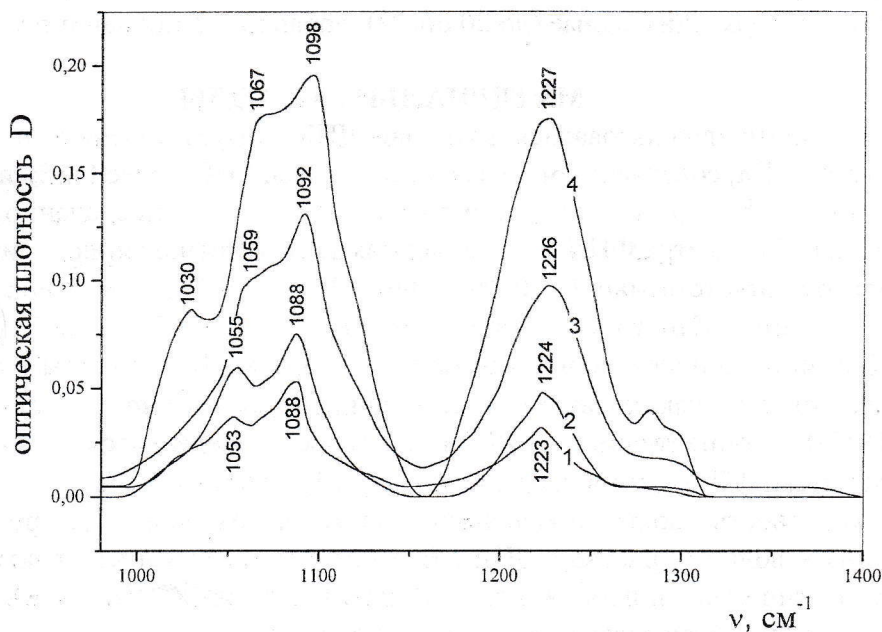


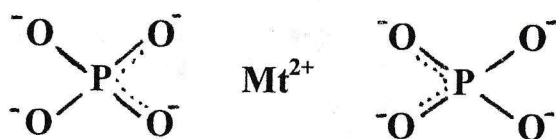
Рисунок 1. ИК спектры ДНК (1) и комплексов ДНК с ионами Cu^{2+} в водном растворе, содержащем 4 об % пропандиола; концентрации ионов Cu^{2+} : 2 - 3.87×10^{-3} М, 3 - 5.57×10^{-3} М, 4 - 1×10^{-2} М; концентрация ДНК - 0.047 М фосфора, температура - 45°C .

- при взаимодействии ионов Cu^{2+} с ДНК (кроме комплексов с высокой концентрацией меди, см. далее) наблюдается смещение полос при 1089-90 (симметричные колебания фосфатных групп) и 1223 см^{-1} (асимметричные колебания фосфатных групп) к $1095 - 1097 \text{ см}^{-1}$ и $1225 - 1227 \text{ см}^{-1}$, соответственно. Подобные изменения в ИК спектрах ДНК говорят о связывании ионов Cu^{2+} с фосфатными группами ДНК во всех исследованных растворах.
- в спектрах комплексов ДНК с ионами Cu^{2+} (кроме комплексов с высокой концентрацией меди) присутствует маркерная полоса В-формы ДНК при 1223 см^{-1} , а также полоса при 1053 см^{-1} (колебания С-О-Р групп сахарофосфатного остова), показывающая, что ДНК находится в двуспиральном состоянии [10]. Присутствие этих полос в спектрах наряду с отсутствием значительных смещений этих полос свидетельствует о том, что ДНК в комплексе с ионами Cu^{2+} остается в пределах В-конформации.
- при увеличении концентрации ионов Cu^{2+} до $[\text{Cu}^{2+}] / [\text{P}] \sim 0.5 \div 0.7$ происходят сдвиги полос поглощения при $1090 \rightarrow 1100$ и $1223 \rightarrow 1230 \text{ см}^{-1}$, при этом полоса 1053 см^{-1} сдвигается к $1060-1065 \text{ см}^{-1}$, превращается в плечо или полностью исчезает. Все эти изменения в спектре свидетельствуют о частичном разупорядочении ДНК в комплексах с высокой концентрацией меди. Сдвиг полосы $1223 \rightarrow 1230-31 \text{ см}^{-1}$ может свидетельствовать о частичном переходе ДНК в А-форму в комплексе с ионами Cu^{2+} (следует отметить, что подобный сдвиг полосы при 1223 см^{-1} не сопровождался появлением других маркерных полос А-формы, например, при 1188 см^{-1} [10]). Аналогичный сдвиг полосы 1223 см^{-1} при связывании ДНК с ионами Al^{3+} наблюдался в работе [11], где также предполагался частичный переход ДНК в А-форму.

- из рис. 1 видно, что в результате связывания ДНК с ионами Cu^{2+} в водном и смешанных растворах, содержащих малые добавки пропандиола и глицерина, интенсивность полос поглощения фосфатных групп ДНК резко возрастает.

В наших предыдущих работах мы связывали подобное увеличение интенсивности с переходом ДНК в компактную форму в результате связывания с ионами Cu^{2+} [1, 12]. В литературе отмечается, что для индуцирования конденсации ДНК в водном растворе при комнатной температуре необходимы ионы металлов с валентностью ≥ 3 [13 - 15], однако имеются работы, в которых конденсация ДНК вызывалась и двухвалентными ионами в растворах, не содержащих добавки спиртов [16, 17]. В работе [18] мы показали, что при взаимодействии ДНК с ионами Tb^{3+} происходит увеличение интенсивности полос поглощения, аналогичное наблюдаемому в настоящей работе. Сравнивая концентрации ионов Tb^{3+} , необходимые для конденсации ДНК в растворе [19], с концентрациями, при которых мы регистрировали резкое возрастание интенсивности ИК полос в спектрах комплексов ДНК- Tb^{3+} , мы показали, что при переходе ДНК в компактную форму (но не просто при связывании ионов металлов с фосфатными группами ДНК) интенсивность ИК полос фосфатных групп ДНК действительно возрастает [18]. То, что увеличение интенсивности полос поглощения происходит именно в результате компактизации ДНК, а не в результате связывания с ионами металлов, подтверждается и тем, что при взаимодействии ДНК с ионами Na^+ и K^+ вплоть до $\text{Met}^+/P \sim 80$ и с ионами Ca^{2+} до $\text{Ca}^{2+}/P \sim 2$ изменения интенсивности ИК полос не наблюдалось, хотя связывание с ДНК, согласно [5], должно иметь место.

Таким образом мы можем сказать, что, взаимодействуя с ДНК, ионы Cu^{2+} вызывают переход ДНК в компактную форму как в водном, так и в смешанных растворах, содержащих 4 ÷ 20 об % 1,2-пропандиола или глицерина. Основанием для такого предположения может быть возможность образования координационных соединений с реализацией связей между нитями через ион металла:



В этом случае происходит сильная поляризация связей и значительное усиление поглощения в ИК-спектрах, поскольку интенсивность ИК полос поглощения пропорциональна квадрату производной от дипольного момента по нормальной координате [20 и ссылки этой работы].

Хотелось бы отметить, что переход ДНК в компактное состояние возможен без значительного нарушения В-конформации ДНК и макромолекула в конденсированном состоянии может оставаться в пределах В-формы [21]. Это становится понятным, если учесть, что подобный переход в макромолекуле ДНК возможен в процессе ее функционирования *in vivo* [2].

В спектрах комплексов ДНК - Cu^{2+} с высокой концентрацией ионов меди ($> 8.5 \times 10^{-3}$ М для ДНК в водно-пропандиоловом и $> 2.3 \times 10^{-2}$ М в водно-глицериновом растворах (4 об %)), образованных при 45°C , наблюдается резкое уменьшение интенсивности полос поглощения при 1090 и 1223 см^{-1} и сдвиги этих полос к 1100 и 1231 см^{-1} , соответственно. Поскольку данное уменьшение интенсивности сопровождалось значительным (в 2-4 раза) уширением этих полос, возрастанием фонового рассеяния на всех частотах и сильным искажением общего вида спектра,

наблюдаемое уменьшение интенсивности можно объяснить частичной денатурацией и агрегацией ДНК в комплексе с высокой концентрацией меди. То, что подобное уменьшение интенсивности не наблюдается при 29⁰С, можно объяснить наличием расплавленных участков на ДНК при 45⁰С, увеличением константы связывания ионов Cu^{2+} с этими участками и образованием межмолекулярных сшивков, приводящих к агрегации ДНК (подобный механизм на основе теории Shibata-Schurr [22] предложен авторами [23]). Подробное исследование таких комплексов ДНК - Cu^{2+} с высокой концентрацией ионов меди выходило за рамки настоящей работы. Поскольку столь значительное уширение полос поглощения наблюдалось лишь при высокой концентрации ионов Cu^{2+} , мы считаем, что использование зависимостей для «пиковой» интенсивности вместо интегральной возможно для характеристики конформационного перехода в ДНК [24].

На рис. 2 и 3 приведены зависимости относительного увеличения оптической плотности полос поглощения фосфатных групп ДНК ($R = D_i/D_0$, где D_i - оптическая плотность в максимуме полосы поглощения комплекса ДНК с i -той концентрацией двухвалентного металла, D_0 - та же величина для ДНК без ионов двухвалентных металлов) от полной концентрации ионов меди в растворе, полученные при 29 и 45⁰С для комплексов ДНК с ионами Cu^{2+} в водных и смешанных растворах, содержащих малые (до 20 об %) добавки пропандиола и глицерина. Из рис. видно, что ионы Cu^{2+} вызывают увеличение интенсивности полос поглощения фосфатных

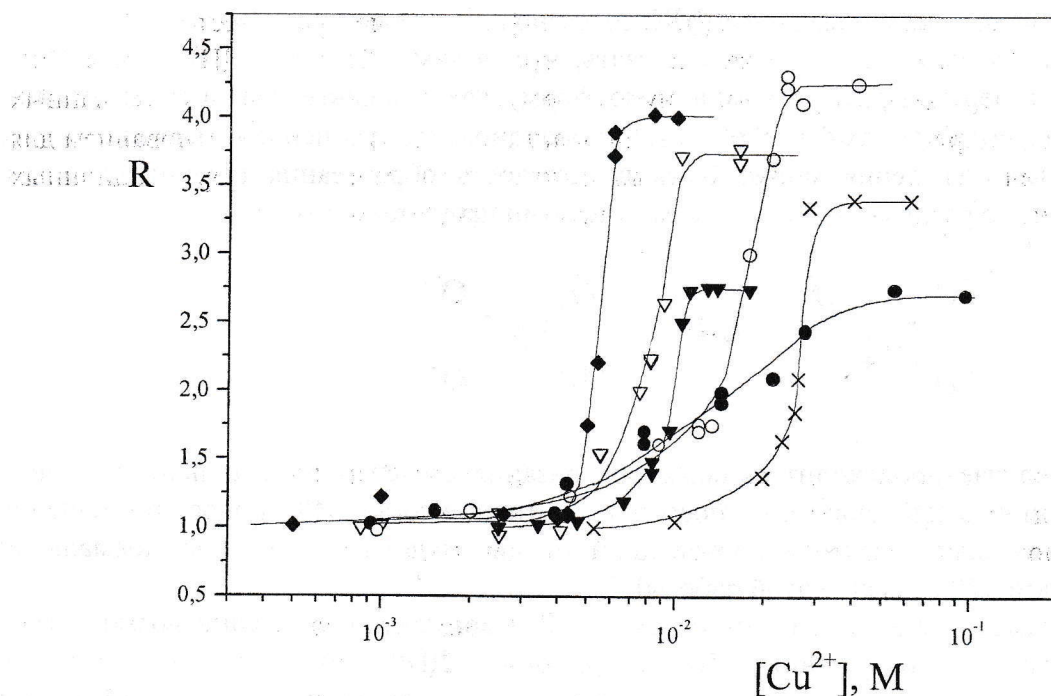


Рисунок 2. Зависимости относительного изменения оптической плотности R от полной концентрации ионов Cu^{2+} в растворе для полосы поглощения при 1090 см^{-1} (симметричные колебания фосфатных групп) для комплексов ДНК с ионами Cu^{2+} в водном (X) и водно-спиртовых растворах, содержащих 4 (●), 9 (○) об % глицерина, 4 (▼), 9 (▽), 20 (◆) об % пропандиола. Концентрация ионов Na^+ - 5×10^{-3} М, ДНК - $(3.5 \div 5) \times 10^{-2}$ М, температура - 29⁰С.

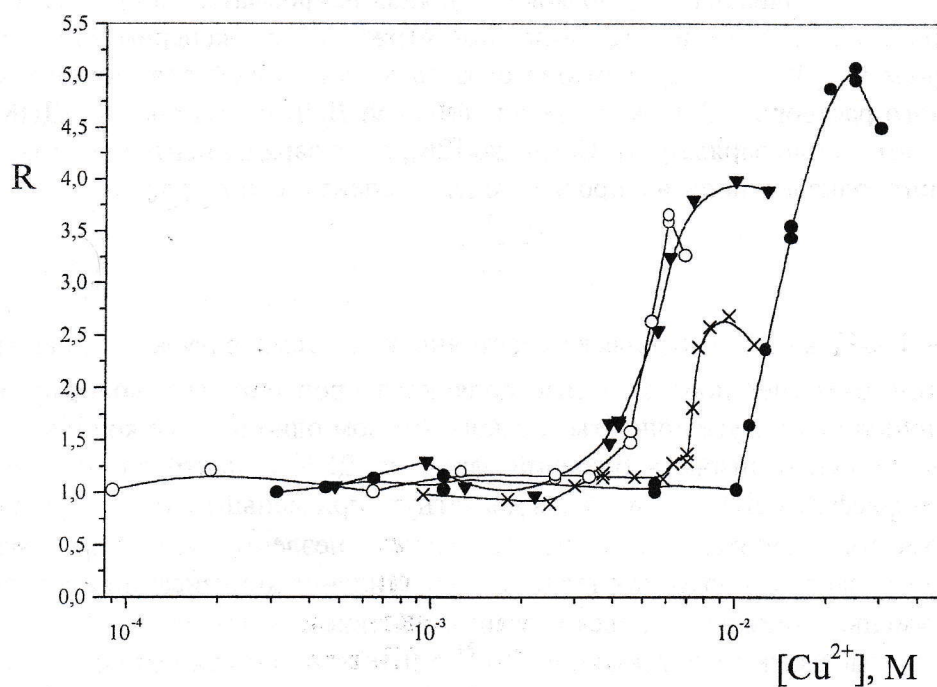


Рисунок 3. Зависимости относительного изменения оптической плотности R от полной концентрации ионов Cu^{2+} в растворе для полосы поглощения при 1090 см^{-1} (симметричные колебания фосфатных групп) для комплексов ДНК с ионами Cu^{2+} в водном (X) и водно-спиртовых растворах, содержащих 4 (●), 9 (○) об % глицерина, 4 (▼) об % пропандиола. Концентрация ионов Na^+ - $5 \times 10^{-3} \text{ M}$, ДНК - $(3.5 \div 5) \times 10^{-2} \text{ M}$, температура - 45°C .

групп во всех исследованных растворах как при 29 , так и при 45°C . Увеличение интенсивности происходит в достаточно узком интервале концентраций ионов Cu^{2+} , что говорит о высокой кооперативности процесса компактизации макромолекулы ДНК [1].

В водном растворе для индуцирования компактизации ДНК при 45°C требуется значительно меньшая концентрация ионов Cu^{2+} , чем при 29°C . Известно, что ионы Cu^{2+} понижают температуру плавления ДНК [5 и ссылки этой работы], поэтому при 45°C вероятно появление расплавленных сайтов на ДНК, особенно на участках, богатых А-Т парами (А-Т пары составляют 58% исследуемой ДНК [4]). Так как константа связывания ионов Cu^{2+} с денатурированной ДНК намного выше, чем с нативной [25], понижение необходимой для индуцирования компактизации ДНК концентрации ионов Cu^{2+} при 45°C может происходить за счет увеличения сродства ионов меди к ДНК, т.е. за счет увеличения «эффективной» концентрации ионов Cu^{2+} .

Данные рис. 2 и 3 свидетельствуют о том, что для перевода ДНК в компактное состояние в водном растворе, содержащем малые добавки пропандиола, требуется меньшая концентрация Cu^{2+} , чем для ДНК в водном растворе, как при 29 , так и при 45°C . Эти результаты согласуются с теорией конденсации полиэлектролитов Меннинга [26]. Действительно, авторы [27], используя теорию Меннинга, показали, что, так как одним из основных барьеров, препятствующих

конденсации ДНК, является электростатическое отталкивание отрицательно заряженных фосфатных групп, то для перевода ДНК в компактное состояние необходимо нейтрализовать 89-90% всех зарядов на фосфатах за счет связывания с противоионами. Эта величина была подтверждена в экспериментах по геле-электрофорезу ДНК [13], причем она оказалась одинаковой для водного и водно-этанольного растворов [27], а также для фаговой ДНК с отличной от ДНК тимуса теленка плотностью заряда [17]. Согласно [26], доля заряда, нейтрализованного при связывании полиэлектролита с противоионами валентности Z , равна

$$r = 1 - \frac{1}{Z\xi},$$

где $\xi \sim 1/\epsilon \times T$ (ϵ - диэлектрическая постоянная, T - температура в кельвинах). При уменьшении ϵ за счет добавки менее полярного пропандиола к водному раствору ДНК величина r будет увеличиваться, таким образом одно и то же количество ионов меди сможет нейтрализовать больший заряд на ДНК и нейтрализация 90% всех зарядов на фосфатах ДНК может быть достигнута при меньшей концентрации ионов Cu^{2+} . Кроме того, понижение ϵ за счет добавления неэлектролита может уменьшать эффективный заряд на фосфатах также за счет усиления конденсации противоионов, так как с уменьшением ϵ кулоновское взаимодействие возрастает.

В случае взаимодействия ионов Cu^{2+} с ДНК в водно-глицериновых растворах наблюдается немонотонность влияния добавок глицерина на компактизацию ДНК (см. рис. 2). В растворах с низким объемным содержанием глицерина (4 об %) резко уменьшается кооперативность перехода ДНК в компактное состояние. При повышении объемной концентрации глицерина до 9 об % зависимость $R(C)$ распадается на два участка: до концентрации Cu^{2+} порядка 1.3×10^{-2} М она идет почти параллельно зависимости $R(C)$ для ДНК в 4 об %-водном растворе глицерина, после этой концентрации кооперативность резко возрастает (рис.2). При более высокой температуре (45°C) кооперативность перехода ДНК в компактное состояние в водно-глицериновых и водно-пропандиоловых растворах увеличивается, однако для индуцирования такого перехода в 4 об % водном растворе глицерина требуется большая концентрация ионов Cu^{2+} , чем для ДНК в водном растворе (рис. 3).

Таким образом мы можем заключить, что влияние добавок пропандиола на переход ДНК в компактное состояние под действием ионов меди носит монотонный характер: по мере увеличения объемной концентрации пропандиола уменьшается концентрация ионов Cu^{2+} , необходимая для индуцирования компактизации ДНК, и кооперативность этого процесса увеличивается. Этот результат вполне согласуется с теорией конденсации Меннинга. В отличие от пропандиола, влияние глицерина на индуцированную ионами Cu^{2+} компактизацию ДНК носит немонотонный характер как при 29°C , так и при 45°C .

Особенно интересным представляется различие во влиянии на компактизацию ДНК маленьких добавок пропандиола и глицерина (4 об %) к водному раствору ДНК. При такой низкой объемной концентрации неэлектролитов в растворе разница в диэлектрических проницаемостях смесей буфер - пропандиол и буфер - глицерин и в подвижностях молекул воды в этих смесях очень мала [28]. Таким образом, различие в ϵ и, следовательно, в активностях воды, не может играть решающую роль в различном влиянии пропандиола и глицерина на конденсацию ДНК под влиянием ионов Cu^{2+} при малых (4 об %) концентрациях этих неэлектролитов в растворе. В работе [13] было показано, что конденсация ДНК

зависит только от ϵ среды и не зависит от вида неэлектролита. Однако результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что влияние добавок неэлектролитов к раствору ДНК может носить не только неспецифический характер за счет понижения активности воды, но также может зависеть от структуры образующегося водного раствора неэлектролита. Возможно, что сильнее влияние структуры раствора сказывается в случае добавок многоатомных спиртов, так как добавки одноатомных спиртов (до определенной критической концентрации спирта), встраиваясь в пустоты решетки воды, значительно меньше искажают пространственную структуру воды и сетку водородных связей (в работе [13] исследовалось влияние именно одноатомных спиртов на $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ -индуцированную компактизацию ДНК).

Авторы выражают благодарность проф. Д.Ландо (Институт биоорганической химии АН Беларуси, Минск) за любезно предоставленные препараты ДНК. Работа частично финансировалась за счет гранта Международного фонда «Відродження» № PSU072091 Хакл Е.В.

ВЫВОДЫ

Ионы Cu^{2+} вызывают переход ДНК в компактную форму в водном и водно-глицериновом (пропандиоловом) растворах как при 29, так и при 45⁰С. Этот процесс носит кооперативный характер. Добавление 1,2-пропандиола к водному раствору ДНК увеличивает кооперативность перехода ДНК в компактную форму и уменьшает концентрацию ионов Cu^{2+} , необходимую для индуцирования этого процесса. Эффект 1,2-пропандиола монотонно увеличивается с ростом его объемной концентрации (в интервале концентраций 0-20 об %) при 29 и 45⁰С. Влияние глицерина на компактизацию ДНК носит немонотонный характер: малые (4 об %) добавки глицерина к водному раствору ДНК уменьшают кооперативность перехода ДНК в компактное состояние при 29⁰С. Сравнение влияния малых добавок 1,2-пропандиола и глицерина, для которых изменение диэлектрической проницаемости раствора практически одинаково, на Cu^{2+} -индуцированную конденсацию ДНК позволяет сделать вывод о том, что конденсацию ДНК под влиянием ионов Cu^{2+} зависит не только от диэлектрической проницаемости, но и от структуры образующегося раствора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hackl E., Kornilova S., Kapinos L.et.al. // J. Mol. Struct.. 1997. V. 408/409. P.229-232.
2. Murphy L.D., Zimmerman S.B. // Biophys Chem. 1995. V. 57 (1). P. 71-92.
3. Веселков А.Н. Влияние внешних факторов на конформацию молекулы нуклеиновой кислоты в растворе. Дис..д-р физ.-мат. наук.Севастополь. 1988. 463с.
4. Ахрем А.А., Егорова В.П., Егоров А.С. и др. // Биополимеры и клетка 1989. вып.5. N 5. С. 44-48.
5. Благой Ю.П., Галкин В.Л., Гладченко Г.О.и др. Металлокомплексы нуклеиновых кислот в растворах. Киев: Наукова думка. 1991. - 272 с.
6. Fischman E. // Appl. Opt. 1962. N. 1. 493.
7. Малеев В.Я., Семенов М.А. // Биофизика 1971. Т. 16. вып. 3. С. 389-397.
8. Кальвин Н.Н., Вельяминов С.Ю. // ЖПС. 1987. N 4. С.592-597.
9. Бабушкин А.А., Бажулин П.А., Королев Ф.В. и др. Методы спектрального анализа. М., МГУ. 1962. 273 с.
10. Taillandier E., Liquier J. // Methods in enzymol. 1990. V. 211. P. 307-335.

11. Ahmad R., Naoui M., Neault J.F. et.al. // J. Biomol. Struct. Dyn. 1996. 13(5). P. 795-802.
12. Kornilova S., Hackl E., Kapinos L., et.al. // Acta Biochim. Polon. 1998. V. 45. N 1. P. 107-117.
13. Arscott P., Ma Ch., Wenner J., Bloomfield V. // Biopolymers 1995. V. 36. P. 345-364.
14. Pelta J., Livolant F., Sikorav J.-L. // J of Biological Chem. V. 271. N. 10. P. 5656-5662.
15. Bloomfield V. // Curr. Struct. Biol. 1996. V.6. P. 334-341.
16. Ma C., Bloomfield V. // Biophys. J. 1994. V.67. P. 1678-1681.
17. Benbasat J.A. // Biochemistry 1984. V. 23. P. 3609-3619.
18. Хакл Е.В., Корнилова С.В., Благой Ю.П. // Вестник проблем биологии и медицины 1998. N 8. С. 41-51.
19. Tajmir-Riahi H.A., Ahmad R., Naoui M. // J Biomol Struct Dyn. 1993. V. 10 (5). P. 865-877.
20. Zundel G. Proton polarizability of hydrogen bonds. Series of lectures, Zalzburg. 1997. 250 p.
21. Maniatis T., Venable J. Jr, Lerman L. // J Mol Biol. 1974. V. 84(1). P. 37-64.
22. Shibata J., Schurr J. // Biopolymers. 1981. V.20. P. 525-549.
23. Duguid J.G., Bloomfield V.A. // Biophys. J. 1995. V. 69. P. 2642-2648.
24. Семенов М.А. Гидратация и структурные переходы нуклеиновых кислот в конденсированном состоянии. Дис... доктора физ.-мат. наук. Харьков. 1988. 416 с.
25. Sorokin V., Blagoi Yu., Valeev V., et.al. // J. Inorg. Biochem. 1987, V. 30(2). P. 87-99.
26. Manning G. // Q Rev. Biophys. 1978, V. 11(2). P. 179-246.
27. Wilson R.W., Bloomfield V.A. // Biochemistry 1979. V. 18(11). P. 2192-2196.
28. Хакл Е.В., Корнилова С.В., Соловьева А.С. и др. // Проблемы криобиологии 1998., в печати.