

УДК 577.323

ИЗМЕНЕНИЯ ГИДРАТАЦИИ ПРИ ОБРАЗОВАНИИ КОМПЛЕКСОВ ДНК С НЕКОТОРЫМИ ИНТЕРКАЛЯТОРАМИ

О.В. Хорунжая, В.А. Кашпур, Д.А. Песина, В.Я. Малеев

*Институт радиопластики и электроники НАН Украины,
ул. Академика Проскуры, 12, г. Харьков, 61085
e-mail: dubovits@ire.kharkov.ua*

Поступила в редакцию 26 марта 2010 г.

Принята 30 мая 2010 г.

В КВЧ диапазоне радиоволн изучены диэлектрические свойства водных растворов ряда интеркаляторов (бромид этидия, профлавин и иодид пропидия) и комплексов ДНК с этими соединениями. Для исследуемых лигандов на основании полученных данных определены степени гидратации и вероятные гидратно-активные центры. Обнаружено, что процесс комплексообразования сопровождается изменением диэлектрических свойств раствора, которое обусловлено изменениями в водной оболочке нуклеиновой кислоты. Показано, что наблюдаемое уменьшение диэлектрической проницаемости соответствует увеличению гидратации ДНК на несколько молекул воды в расчете на нуклеотид. Полученные результаты сопоставлены с литературными данными и проанализированы с помощью моделей взаимодействия ДНК с интеркаляторами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ДНК, гидратация, интеркаляция, бромид этидия, профлавин, иодид пропидия, комплекс, диэлектрометрия.

ЗМІНИ ГІДРАТАЦІЇ ПРИ УТВОРЕННІ КОМПЛЕКСІВ ДНК З ДЕЯКИМИ ІНТЕРКАЛЯТОРАМИ

О.В. Хорунжа, В.А. Кашпур, Д.О. Песина, В.Я. Малєєв

Институт радіофізики та електроніки ім. О.Я. Усикова НАН України, вул. Академіка Проскури, 12, м. Харків, 61085
В НВЧ діапазоні вивчені діелектричні властивості водяних розчинів деяких інтеркаляторів (бромід етидію, профлавін та іодид пропідію) і комплексів ДНК з цими сполуками. Для досліджуваних лігандів на основі отриманих даних визначені ступені гідратації та ймовірні гідратно – активні центри. Знайдено, що процес комплексоутворення супроводжується зміною діелектричних властивостей розчину, яке обумовлено змінами у водній оболонці нуклеїнової кислоти. Показано, що виявлене зменшення діелектричної проникності відповідає збільшенню гідратації ДНК на декілька молекул води у розрахунку на нуклеотид. Отримані результати зіставлені з літературними даними і проаналізовані за допомогою моделей взаємодії ДНК з інтеркаляторами.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ДНК, гідратація, інтеркаляція, бромід етидію, профлавін, іодид пропідію, комплекс, діелектрометрія.

HYDRATION CHANGES UNDER COMPLEXATION OF DNA WITH SOME INTERCALATORS

O.V. Khorunzhaya, V.A. Kashpur, D.A. Pesina, V.Ya. Maleev

Institute for Radiophysics and Electronics NAS of Ukraine, Acad. Proskura str., 12, Kharkov, 61085, Ukraine

The dielectric properties of water solutions of some intercalators (ethidium bromide, proflavine, propidium iodide) and complexes of DNA with these substances were investigated in the range of millimeter wavelengths. The extent of hydration and probable hydration-active centers were determined for ligands studied. It was found that the complexation is accompanied by changes of the dielectric properties of solutions induced by changes in the hydration shell of DNA. It is shown that the observed decrease of dielectric permittivity corresponds to the notable increase of DNA hydration. The obtained results are compared with known data and are analyzed using the models for interaction between DNA and intercalators.

KEY WORDS: DNA, hydration, complex, ethidium bromide, proflavine, propidium iodide, dielectric permittivity.

Действие многих биологически активных веществ (БАВ) – противоопухолевых, противомикробных и противовирусных лекарств – обусловлено их взаимодействием с ДНК. Поэтому для повышения эффективности существующих БАВ, а также для направленного синтеза новых препаратов, необходимо выяснение молекулярной природы их взаимодействия с ДНК. В настоящее время известно, что растворитель играет ключевую роль как в поддержании структуры ДНК, так и в процессах формирования комплексов ДНК – БАВ. В частности, термодинамика

комплексообразования зависит от состояния воды столь же значительно, как и от ионной силы, рН и температуры [1]. Предполагается, что степень сродства и специфичность при связывании также в большой мере определяются гидратацией [2].

Несмотря на то, что гидратация ДНК и комплексов ДНК – лиганд изучалась во многих работах (методы рентгенографии, осмотического стресса, молекулярного моделирования и др.), до сих пор не существует достаточно ясной картины этого явления [3, 4, 5]. В связи с этим для определения изменений гидратации в системе ДНК – БАВ нами предлагается использовать метод диэлектromетрии в области крайне высоких частот (КВЧ), соответствующей диапазону миллиметровых длин волн. Хотя микроволновые измерения в молекулярной биофизике проводятся уже довольно давно, для изучения комплексообразования они ранее не применялись, несмотря на свою перспективность [6].

Ранее гидратационные явления мы изучали при образовании комплексов ДНК с кофеином и полиаминами [7, 8]. В данной статье исследуется взаимодействие ДНК с некоторыми интеркаляторами. Многие из этих веществ используются в качестве противоопухолевых препаратов: они ингибируют транскрипцию и репликацию тех молекул ДНК, с которыми связаны. Интеркаляция приводит также к повышению степени стабильности ДНК, что проявляется в увеличении температуры плавления и уширении зоны теплового перехода нуклеиновой кислоты. При выяснении природы сил, стабилизирующих комплексы ДНК – интеркалятор, установлено, что ковалентные связи в них не образуются, а ионные силы взаимодействия между фосфатными группами ДНК и лигандами недостаточно велики [9]. Поэтому предположено, что в стабильность комплексов могут вносить вклад вандерваальсовы силы, водородные связи, гидрофобные взаимодействия [10]. В настоящем исследовании – ввиду важной роли водного окружения – нами ставилась цель получить информацию об изменениях в гидратной оболочке ДНК, сопровождающих формирование упомянутых комплексов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе изучали комплексы ДНК из тимуса теленка (натриевая соль, молекулярная масса – свыше 10^7 Да) с тремя БАВ: профлавином РF (гидрохлорид), бромистым этидием ЕВг и иодистым пропидием РI. Использовали препараты ДНК, РF и РI фирмы "Sigma", а препарат ЕВг – фирмы "Fluka". Комплексообразование с требуемым соотношением числа нуклеотидов к числу молекул лиганда (P/D) осуществляли многократным добавлением к раствору ДНК небольших объемов растворов лиганда. Затем проводили тщательное размешивание.

Методом изучения гидратации являлась, как и ранее, диэлектromетрия в миллиметровом диапазоне длин волн. Измерения комплексной диэлектрической проницаемости $\varepsilon^* = \varepsilon' - i\varepsilon''$ выполняли с помощью дифференциального метода, позволяющего надежно определить даже небольшие изменения величины ε^* [11, 12]. Непосредственно измеряли разности $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$ коэффициентов затухания α и фазовых постоянных β воды и изучаемых образцов. Из них на основании известных электродинамических соотношений вычисляли соответствующие разности $\Delta\varepsilon'$ и $\Delta\varepsilon''$. Вклад в ε'' (в мм диапазоне небольшой) компоненты $\delta\varepsilon''$, обусловленный наличием в образцах ионов, учитывали с помощью измерения электропроводности σ : $\delta\varepsilon'' = \sigma\lambda/c$, где c – скорость света.

Рабочая длина волны λ составляет 7,6 мм (частота 39,5 ГГц), температура – 23 °С. Необходимые значения α , β , ε' и ε'' воды при этих условиях рассчитаны на основании опытных данных и интерполяционной схемы, приведенных в обзоре [13]. Они

составляют $\alpha = 2,75$; $\beta = 5,13$; $\varepsilon' = 18,8$; $\varepsilon'' = 28,2$. Измерения проводили многократно, полученные данные усредняли. Метод обеспечивает измерение $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$ с погрешностями (стандартными, среднеквадратическими отклонениями) не более чем $\pm 0,0006$ Нп/мм и $\pm 0,0004$ радиан/мм, что соответствует аналогичным погрешностям определения $\Delta\varepsilon'$ и $\Delta\varepsilon''$ в $\pm 0,005$ и $\pm 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены результаты диэлектromетрии растворов ДНК, профлавина, бромистого этидия, а также комплексов ДНК – PF, ДНК – EBr и ДНК – PI. Так как в области КВЧ ε' и ε'' воды зависят от частоты, то целесообразно описывать диэлектрические свойства изучавшихся растворов с помощью частотнонезависимых параметров теории полярных жидкостей Дебая: ε_s (низкочастотный предел ε'), ε_∞ (высокочастотный предел ε') и λ_s (релаксационная длина, $\lambda_s = 2\pi\tau$, где τ время релаксации растворителя). В теории Дебая, которая с высокой точностью справедлива как для воды, так и для водных растворов биомолекул, значения ε_s и λ_s однозначно связаны с ε' и ε'' :

$$\varepsilon_s = \varepsilon' + \frac{\varepsilon''^2}{(\varepsilon' - \varepsilon_\infty)} \quad \text{и} \quad \lambda_s = \frac{\lambda\varepsilon''}{\varepsilon' - \varepsilon_\infty} \quad (1)$$

Декременты $\Delta\varepsilon'$, $\Delta\varepsilon''$ и $\Delta\varepsilon_s$ представляют собой разности соответствующих параметров воды (уменьшаемое) и образцов. Величины $\Delta\varepsilon_s^*$ являются удельными декрементами: $\Delta\varepsilon_s^* = \Delta\varepsilon_s / k$, где k – концентрация. Для воды $\varepsilon_s = 79,4$ и $\lambda_s = 16,3$ мм.

Таблица 1. Диэлектрические параметры и гидратация растворов ДНК, БАВ и комплексов ДНК – БАВ.

Параметр	ДНК	PF	ДНК – PF	EBr	ДНК – EBr	ДНК – PI
k , %	0,58	1,94	0,62	0,839	0,644	0,692
$\Delta\alpha$	0,0125	0,043	0,0165	0,0135	0,013	0,0165
$\Delta\beta$	0,0105	0,0505	0,0155	0,026	0,009	0,017
$\Delta\varepsilon'$	0,035	0,280	0,05	0,19	0,02	0,085
$\Delta\varepsilon''$	0,26	1,30	0,35	0,37	0,27	0,34
λ_s , мм	16,2	15,85	16,15	16,8	16,15	16,2
$\Delta\varepsilon_s$	1	4,6	1,25	0,9	1,1	1,2
$\Delta\varepsilon_s^*$	1,7	2,4	2,03	1,1	1,7	1,7
n	16	7-8	20	5	17	18-19

Для количественной оценки степени гидратации мы, как и ранее [7, 8], полагаем, что при используемых малых концентрациях и отсутствии поглощения в КВЧ диапазоне разность $\Delta\varepsilon_s$ является линейной функцией объема биомолекул ν и объема связанной воды ω [14, 15]:

$$\Delta\varepsilon_s = pk[(\varepsilon_s - \varepsilon_\infty^B)\nu + (\varepsilon_s - \varepsilon_\infty^W)\omega] \quad (2)$$

где p – коэффициент пропорциональности, ε_{∞}^B и ε_{∞}^W – высокочастотные пределы величины ε' биомолекул (~ 4 [16]) и воды (~ 5 [13]). Так как для воды объем и масса численно совпадают, то ω обозначает также число граммов связанной воды на 1 г биомолекулы.

В табл. 1 число n выражает количество молекул связанной воды на молекулу лиганда или на нуклеотид (для ДНК или комплекса). Значение $n = 16$ для ДНК соответствует принятому значению степени гидратации ДНК, которое является средним для известных чисел гидратации, определенных методами рентгеноструктурного анализа, ИК спектроскопии и калориметрии: от 11 до 20 молекул воды на нуклеотид [17, 18]. Погрешность (стандартное отклонение) определения n , рассчитанная из погрешностей $\Delta\alpha$ и $\Delta\beta$, составляет одну молекулу воды.

Далее приведены результаты изучения гидратации указанных комплексов.

Комплекс ДНК – бромистый этидий

Бромистый этидий (производное фенантридина) является классическим модельным соединением при изучении взаимодействия между ДНК и лигандом (рис.1). Этот краситель обычно используется в биотехнологии как флуоресцентная метка для выявления нуклеиновых кислот в экспериментах по гель-электрофорезу, при окраске хромосом и для количественного определения правых двойных спиралей в ДНК.

Предполагается, что вследствие электростатического взаимодействия между отрицательно заряженными атомами кислорода в фосфатах ДНК и положительно заряженным атомом азота (катионная форма EBr) лиганда происходит раздвигание оснований и встраивание (перпендикулярное оси спирали ДНК) молекулы бромистого этидия между парами оснований, что сопровождается частичным раскручиванием двойной спирали и удлинением макромолекулы. Кроме того, часть молекул EBr, как и других исследованных нами интеркаляторов, может связываться с ДНК с помощью внешнего связывания (с фосфатной группой), которое носит электростатический характер [19].

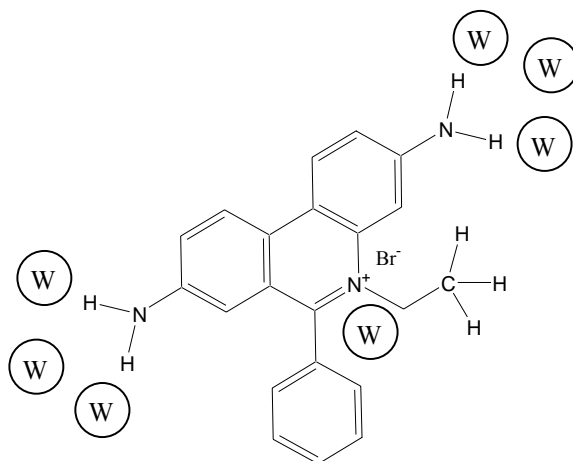


Рис.1 Структурная формула и возможные центры гидратации [20] этидия бромид.

Как видно из табл. 1, величины ε' , ε'' и ε_s для раствора лиганда заметно ниже (на $\sim 1\%$), чем соответствующие диэлектрические параметры воды. Кондуктометрические измерения показали, что раствор обладает также заметной электропроводностью $0,00245 \text{ См}\cdot\text{см}^{-1}$, которую следует считать обусловленной появлением ионов Br^- . В приведенном значении $\Delta\varepsilon''$ вклад электропроводности учтен.

Ионы Br^- не только обуславливают электропроводность раствора лиганда, но и понижают его диэлектрическую проницаемость. Поэтому из измеренной разницы $\Delta\epsilon_s^{\text{exp}}$ вычтен вклад $\Delta\epsilon_s$ ионов Br^- . Для определения величины этого эффекта использованы сведения о диэлектрических параметрах солей [21, 22], в состав которых входят катионы Na^+ , K^+ , Li^+ и анионы Cl^- , Br^- , I^- . Из этих данных следует, что для 1М Br^- декремент $\Delta\epsilon_s$ равен 4,5. Поскольку изучаемый раствор лиганда содержит 0,02М Br^- , то поправка составляет 0,09.

Необходимое для оценки гидратации EBr значение кажущегося объема EBr ($\nu = 0,736 \text{ см}^3/\text{г}$) было сообщено авторам Букиным В.А., за что авторы ему глубоко благодарны. Расчет, сделанный на основе соотношения (2), показывают, что с молекулой бромистого этидия связаны пять молекул воды. Поскольку группы CH и CH_2 в лиганде не образуют водородных связей и не заряжены, то они не могут оказывать влияния на структуру воды. Единственными сайтами, связывающими молекулы растворителя, являются две аминные NH_2 группы и заряженный атом азота. Таким образом, найденному числу гидратации приблизительно соответствует образование каждой группой NH_2 двух-трех водородных связей с водой, а атомом азота – одной водородной связи.

В изучавшихся комплексах ДНК – EBr отношение P/D составляло 10, ионная сила – 0,025М NaCl. Из табл. 1 следует, что декремент $\Delta\epsilon_s$ комплекса несколько больше, чем то значение, которое следовало бы ожидать, исходя из значений декрементов для компонентов и величины P/D . Действительно, при $P/D = 10$ следовало ожидать, что $\Delta\epsilon_s^*$ составит 1,64, а не 1,7, как наблюдается в эксперименте.

Расчет по соотношению (2) показывает, что при $\Delta\epsilon_s^* = 1,7$ в системе ДНК – EBr с каждым нуклеотидом связано 17 молекул воды (для ДНК $\nu = 0,581 \text{ см}^3/\text{г}$ [23]). Так как одна молекула EBr приходится на 10 нуклеотидов, то при аддитивном сложении величин гидратации компонентов следовало ожидать, что для комплекса $n \approx 16,5$. Таким образом, превышение составляет 0,5 молекулы воды (при погрешности определения числа n в одну молекулу). Поскольку взаимодействие ДНК с EBr, как показано в ряде работ [2, 24], сопровождается некоторым уменьшением кажущегося объема ν реагентов, то диэлектрические измерения, возможно, указывают на тенденцию к увеличению количества связанной воды при образовании комплекса ДНК – EBr. Сделанный вывод коррелирует с результатом, полученным методом осмотического стресса [1]. В этой работе Кью и Черз также обнаружили некоторую тенденцию к захвату молекул воды при образовании данного комплекса.

Комплекс ДНК – профлавин

Профлавин (производное акридина) является плоской трехкольцевой молекулой, обладающей положительным зарядом (рис. 2). Профлавин проявляет мутагенные и канцерогенные свойства.

Исследование диэлектрическим методом изменения гидратации при образовании комплекса между профлавином и ДНК представляет интерес, поскольку в настоящее время об этом эффекте имеются противоречивые сведения. Предполагается, что взаимодействие профлавина с ДНК сопровождается освобождением части молекул воды, связанных с нуклеиновой кислотой [25]. В то же время в работе [1] при использовании осмометрического метода обнаружено, что система ДНК – профлавин более гидратирована, чем ДНК и лиганд в свободном состоянии [1].

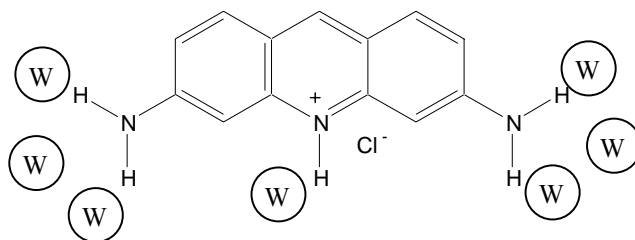


Рис. 2. Структурная формула и возможные центры гидратации [20] профлавина гидрохлорида.

В изучавшихся нами комплексах ДНК – PF концентрация ДНК составляла 0,58%, профлавина – 0,067%. Отношение P/D равнялось девяти, ионная сила – 0,025M NaCl. В табл. 1 в значении $\Delta\epsilon_s$ учтено, что молекулы HCl, находящиеся в исходном препарате гидрохлорида профлавина, не только обуславливают электропроводность растворов лиганда, но и понижают их диэлектрическую проницаемость. Поэтому из измеренной разницы $\Delta\epsilon_s^{\text{exp}}$ вычтен вклад HCl (использовано известное значение диэлектрической проницаемости водных растворов соляной кислоты [21]). Кажущийся объем v профлавина определялся нами с помощью пикнометра. Он составляет 0,855 см³/г.

Расчет по соотношению (2) показывает, что с молекулой профлавина связано 7-8 молекул воды. Эта величина близка к числу водородных связей, которые способны образовать с растворителем две NH₂ группы и группа NH⁺ лиганда [20]. Следует также принять во внимание, что и вблизи от поверхности лиганда в области между группами NH₂ и NH⁺ имеются условия для появления связанных молекул воды.

Из табл. 1 следует, что диэлектрический декремент $\Delta\epsilon_s^*$ комплекса ДНК – профлавин не является аддитивной суммой декрементов компонентов: он превосходит соответствующее значение на ~ 15% (при P/D = 9 следовало ожидать, что $\Delta\epsilon_s^*$ равно 1,77, а не 2,03, как в эксперименте). Ввиду отсутствия поглощения в биомолекулах увеличение декремента указывает на возрастание количества связанной воды в комплексе.

Расчет показывает, что гидратация системы ДНК – профлавин составляет ~20 молекул воды на нуклеотид. Но при аддитивном сложении и учете того, что одна молекула лиганда приходится на девять нуклеотидов, для комплекса должно быть $n \approx 17$. Следовательно, можно полагать, что при формировании комплекса гидратация ДНК увеличивается на ~3 молекулы на нуклеотид (на ~15-20 %). Как и в предыдущем случае, наблюдается качественное согласие с результатами вышеупомянутого исследования Кью и Черза [1].

Комплекс ДНК - иодид пропидия

Иодид пропидия (рис. 3) известен как эффективный интеркалятор, встраивающийся между двумя последовательными парами оснований ДНК. По сравнению с бромидом этидия он обладает дополнительным заряженным атомом азота. В силу своей способности легко связываться с нуклеиновыми кислотами PI широко используется для определения содержания ДНК в образцах, а также для дифференциации нормальных и разного рода патологических клеток.

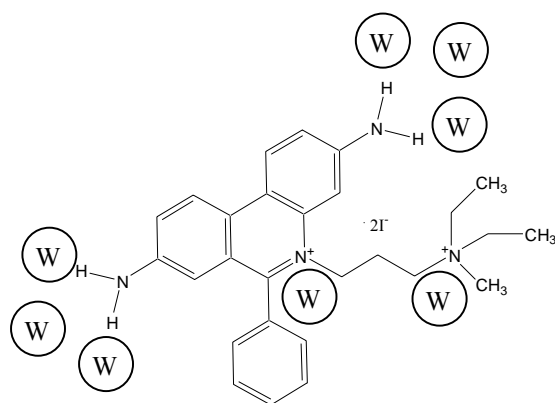


Рис. 3. Структурная формула и возможные центры гидратации [20] пропидия иодида.

К сожалению, нам не удалось экспериментально найти величину кажущегося объема и гидратацию лиганда вследствие его плохой растворимости при требуемых в измерениях концентрациях. Однако кажущийся объем комплекса, в котором лиганд занимает лишь часть, можно достаточно точно рассчитать и использовать при нахождении гидратации. Оценка кажущегося объема PI сделана нами на основании известной величины ν для EBr и учета кажущихся объемов тех групп в PI, которыми иодид пропидия отличается от бромида этидия. Это четыре группы CH_2 , две группы CH_3 , ион азота, два иона иода (вместо брома). Согласно существующим данным [26, 27], их мольные объемы в $\text{см}^3/\text{моль}$ составляют, соответственно: 16,3; 19,4; 1,5 и 44,6 (вместо 30,4 для брома). Учитывая молекулярные массы лигандов EBr и PI (соответственно 394 и 668,4), а также значение соотношения P/D, мы можем легко вычислить, что кажущийся объем одного грамма PI составляет около $0,68 \text{ см}^3$, а такой же объем одного грамма комплекса ДНК – PI – $0,595 \text{ см}^3$.

Расчет по соотношению (2) показывает, что с молекулой иодида пропидия связано 18-19 молекул воды. С другой стороны, так как метильные группы CH_2 и CH_3 не гидратированы, а величины гидратации ионов I^- и Br^- одинаковы [22], то числа гидратации PI и EBr не могут заметно отличаться. Поэтому при P/D = 10 следует ожидать, что с одной молекулой комплекса связано 16-17 молекул воды. Таким образом, диэлектрические измерения указывают на то, что, как и в случае профлавина, комплексообразование сопровождается захватом молекул воды. В данном случае увеличение гидратации составляет около двух молекул (на нуклеотид), что также близко к результатам работ [1, 28].

Ранее на основании диэлектрических измерений мы обнаружили, что формирование комплекса ДНК с кофеином (преимущественно внешнее связывание с нуклеиновой кислотой) и полиамином путресцином (связывание с ДНК в желобках, особенно в малом желобке) приводит к дегидратации. В то же время, как показывают результаты настоящей работы, взаимодействие ДНК с некоторыми интеркаляторами приводит к противоположному эффекту. Отметим, что увеличение полной гидратации было обнаружено нами и при образовании (также с помощью интеркаляции) комплекса между производным актиноцина и ДНК [29].

В настоящее время существуют различные точки зрения о характере изменений гидратации при комплексообразовании. Распространено мнение о том, что данный процесс сопровождается переходом части молекул воды из связанного в свободное состояние [25]. С другой стороны, опубликованы исследования, в которых сообщается

о захвате некоторого дополнительного числа молекул воды при формировании комплексов ДНК – интеркалятор [1, 28]. Для объяснения увеличения гидратации указывалось на ряд факторов:

1) обусловленный гидрофобностью возможный захват воды после того, как вследствие интеркаляции произошло раскручивание и удлинение ДНК [28];

2) необходимость учета как дегидратации лиганда, так и гидратации освобожденного иона натрия [2];

3) кооперативный характер гидратации, приводящий к появлению молекул воды, которые расположены за пределами первого гидратного слоя, но обладают подвижностью меньшей, чем молекулы свободной воды [30];

4) осуществление взаимодействия между лигандом и ДНК с помощью посредствующих молекул воды [5].

ВЫВОДЫ

В диапазоне КВЧ получены значения диэлектрических параметров растворов профлавина (PF), бромида этидия (EBr) и комплексов ДНК с PF, EBr, иодидом пропидия (PI). Из полученных данных рассчитаны гидратация PF и EBr, а также гидратация комплексов ДНК – PF, ДНК – EBr и ДНК – PI. Для всех лигандов обнаружено увеличение степени гидратации при комплексообразовании. Полученные результаты согласуются с предположениями о том, что происходящие при интеркаляции процессы раскручивания и удлинения ДНК приводят к появлению дополнительных молекул воды (в том числе за пределами первого гидратного слоя), которые обладают подвижностью меньшей, чем молекулы свободной воды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Qu X., Chaires J.B. Hydration changes for DNA intercalation reactions // *J. Am. Chem. Soc.* – 2001. – V.123. – P.1-7.
2. Han F., Chalikian T.V. Hydration changes accompanying nucleic acid intercalation reactions: volumetric characterizations // *J. Am. Chem. Soc.* – 2003. – V.125 – P.7219-7229.
3. Shimizu S. Estimating hydration changes upon biomolecular reactions from osmotic stress, high pressure, and preferential hydration experiments // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – V.101. – P.1195-1199.
4. Yonetani Y., Maruyama Y., Hirata F. et al. Comparison of DNA hydration patterns obtained using two distinct computational methods, molecular dynamics simulation and three-dimensional reference interaction site model theory // *J. Chem. Phys.* – 2008. – V.128. – P.185102-1–185102-9.
5. Auffinger P., Westhof E. Water and ion binding around RNA and DNA (C,G) oligomers // *J. Mol. Biol.* – 2000. – V.300. – P.1113-1131.
6. Craig D.Q.M. *Dielectric Analysis of Pharmaceutical Systems.* – London – Bristol, Taylor & Francis, 1995. – 246 p.
7. Хорунжая О.В., Кашпур В.А., Красницкая А.А., Малеев В.Я. Влияние гамма излучения на гидратацию и структуру комплекса ДНК – кофеин // *Біофіз. вісник.* – 2005. – Вип.1(15). – С.68-72.
8. Хорунжая О.В., Кашпур В.А., Малеев В.Я. Гидратация комплексов ДНК с полиаминами // *Біофіз. вісник.* – 2009. – Вип.1(22). – С.5-13.
9. Фаддеева М.Д., Беляева Т.Н. ДНК-интеркаляторы: взаимодействие с ДНК и другими клеточными компонентами и применение в биологических исследованиях // *Цитология.* – 1991. – Т.33. – С.3-22.
10. Martinez R., Chacon-Garcia L. The search of DNA-intercalators as antitumoral drugs: what it worked and what did not work // *Current Medicinal Chemistry.* – 2005. – V.12. – P.1345-1359.
11. Кашпур В.А., Малеев В.Я., Щеголева Т.Ю. Исследование гидратации глобулярных белков дифференциальным диэлектрическим методом // *Молекулярная биология.* – 1976. – Т.10. – С.568-575.
12. Кашпур В.А., Малеев В.Я., Хорунжая О.В. Применение метода дифференциальной КВЧ диэлектromетрии в молекулярной биофизике // *Радиофизика и электроника.* – 2008. – Т.13. Спец. вып. – С.446-454.
13. Ellison W.J., Lamkaouchi K., Moreau J.-M. Water: a dielectric reference // *J. Molec. Liquids.* – 1996. – V.68. – P.171-279.
14. Buchanan T.J., Haggis G.M., Hasted J.B et al. The dielectric estimation of protein hydration // *Proc. Roy. Soc.* – 1952. – V.A213. – P.379-391.

15. Wei Y., Sridhar S. Biological applications of a technique for broadband complex permittivity measurements // IEEE. MTT-S Digest. – 1992. – P.1271-1274.
16. Mashimo S., Kuwabara S., Yagihara S., et al. Dielectric relaxation time and structure of bound water in biological materials // J. Phys. Chem. – 1987. – V.91. – P.6337-6338.
17. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. – М.: Мир, 1987. – 584 с.
18. Bastos M., Castro V., Mrevlishvili G. et al. Hydration of ds-DNA and ss-DNA by neutron quasielastic scattering // Bioph. J. – 2004. – V.86. – P.3822-3827.
19. Garbett N.C., Hammond N.B., Graves D.E. Influence of the amino substituents in the interaction of ethidium bromide with DNA // Bioph. J. – 2004. – V.87. – P.3974-3981.
20. Kharakoz D.P. Partial molar volumes of molecules of arbitrary shape and the effect of hydrogen bonding with water // J. Solut. Chem. – 1992. – V.21. – P.569-595.
21. Ахадов Я.Ю. Диэлектрические свойства бинарных растворов. – М.: Наука, 1977. – 400 с.
22. Wachter W., Kunz W., Buchner R. Is there an anionic Hofmeister effect on water dynamics? Dielectric spectroscopy of aqueous solutions of NaBr, NaI, NaNO₃, NaClO₄, and NaSCN // J. Phys. Chem. A. – 2005. – V.109. – P.8675-8683.
23. Бреслер С.Е. Введение в молекулярную биологию. – М.: Наука, 1970. – 580 с.
24. Кудряшов Е.Д., Букин В.А. Брагинская Ф.И. Объемный эффект и изменение сжимаемости при интеркаляции этидиума бромидом и дауномицином в ДНК // Биофизика. – 1998. – Т.43. – С.40-45.
25. Костюков В.В., Хомутова Н.М., Евстигнеев М.П. Изменение гидратации при комплексообразовании ароматических лигандов с ДНК: моделирование методом молекулярной динамики // Биоп. и клетка. – 2010. – Т.26. – С.36-44.
26. Замятнин А.А. Дилатометрия растворов белков. – М.: Наука, 1973. – 102 с.
27. Рабинович В.А., Хавин З.Я. Краткий химический справочник. – Л-д.: Наука, 1978. – 392с.
28. Marky L.A., Kupke D.W., I. Kankia B.I. Volume changes accompanying interaction of ligands with nucleic acids // Methods Enzymol. – 2001. – V.340. – P.149-165.
29. Хорунжая О.В., Кашпур В.А., Красницкая А.А., Малеев В.Я. Гидратация производного актиноцина и его интактного и γ -облученного комплексов с ДНК по данным КВЧ диэлектротрии // Біофіз. вісник. – 2009. – Вип.1(22). – С.20-23.
30. Schneider B., Ginell S.L., Berman H.M. Low temperature structures of dCpG-proflavine. Conformational and hydration effects // Biophys. J. – 1992. – V.63. – P.1572-1578.