

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ДВУХВАЛЕНТНЫХ МЕТАЛЛОВ НА  
КОНФОРМАЦИОННОЕ СОСТОЯНИЕ МОЛЕКУЛЫ  
ПОЛИРИБОАДЕНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

П. П. ЯСЕМ, В. М. АСЛАНЯН, Ю. С. БАБАЯН, Е. Б. ДАЛЯН

Методами КД и УФ-спектрофотометрии исследовано взаимодействие ионов двухвалентных металлов,  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  и  $Mn^{2+}$ , с полиадениловой кислотой. Выяснено, что ионы  $Mg^{2+}$ , связываясь с фосфатными группами, стабилизируют спиральную структуру кислоты. Ионы  $Cu^{2+}$  преимущественно взаимодействуют с основаниями полиадениловой кислоты, приводя к сильной дестабилизации и разрушению спиральной структуры. Воздействие ионов  $Mn^{2+}$  носит сложный характер: при концентрациях  $M/P=2$  наблюдается стабилизация спиральной структуры, дальнейшее повышение концентрации до  $M/P=6$  сопровождается дестабилизацией спирали.

*Ключевые слова:* полиадениловая кислота, ионы металлов, стабильность.

Изучению влияния ионов двухвалентных металлов на структуру ДНК посвящен целый ряд работ [1, 7, 11, 14—17]. Проведенные до настоящего времени исследования подтверждают, что специфические взаимодействия нуклеиновая кислота—белок могут происходить лишь в присутствии двухвалентных ионов переходных металлов, а в ряде случаев ими стимулируется протекание ферментативных реакций [19, 22]. Известно также [7, 8, 20, 24], что некоторые ионы двухвалентных металлов (например,  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$ ) стабилизируют структуру двойной спирали ДНК, в то время как другие ( $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ) являются сильными дестабилизаторами.

Влияние двухвалентных катионов на структуру и стабильность ДНК во многих случаях существенно зависит от нуклеотидного состава, что является свидетельством избирательного характера взаимодействия ионов с азотистыми основаниями. Весьма информативным в плане выяснения специфичности воздействия двухвалентных катионов на конформационную стабильность ДНК является, очевидно, исследование их взаимодействий с синтетическими полинуклеотидами. В настоящей работе излагаются результаты исследований, посвященных выяснению характера и природы взаимодействий ионов  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  и  $Mn^{2+}$  с азотистыми основаниями полиадениловой кислоты (поли-А).

*Материал и методика.* Исследования проводились на промышленном препарате полирибоадениловой кислоты фирмы «Reanal» (Венгрия) в уксусно-ацетатном буфере (ионная сила  $[Na^+] = 10^{-3}$  М, рН 6,0). Растворы составлялись и хранились в поли-

этиленовой посуде для исключения влияния примесных двухвалентных ионов. Концентрация поли-А в исследуемых растворах  $\sim 25$   $\mu$ /мл или  $7 \cdot 10^{-5}$  М по фосфору. Ионы двухвалентных металлов  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  и  $Mn^{2+}$  вводились в буферный раствор поли-А в виде хлоридов. Места неспецифического связывания—фосфатные группы молекулы поли-А—были предварительно блокированы ионами  $Mg^{2+}$ .

Спектры кругового дихроизма (КД) снимались на дихрографе «Roussel Jouan-II». Использовались кварцевые кюветы с длиной оптического пути в 1 см; коэффициент экстинкции  $\epsilon=9686$ . Для каждой исследуемой системы предварительно снимался спектр поглощения на спектрофотометре «Spectord UV-VIS».

*Результаты и обсуждение.* Известно, что полиадениловая кислота в кислых средах существует в форме двойной спирали, в то время как в нейтральной—конформации существенно иные, биспираль практически не реализуется [9, 10]. Вместе с тем в нейтральных средах поли-А обладает выраженной упорядоченностью, характер которой заметно отличается от биспирального порядка. О различии в конформациях поли-А в кислых и нейтральных средах свидетельствуют результаты, полученные методами спектрополяриметрии и оптического кругового дихроизма [2, 12]. Исследования, проведенные методом малоуглового рассеяния рентгеновских лучей, свидетельствуют о том, что в нейтральной среде реализуются однонитчатые организованные структуры [13, 23]—электронная плотность на единицу длины оказалась примерно вдвое меньшей, чем в биспиральной форме. Практически та же информация была получена по дифракции рентгеновских лучей на ориентированных пленках поли-А [18]. Изучение растворов олигонуклеотидов [3, 4] убеждает в том, что структурная упорядоченность в условиях, при которых не могут образоваться биспиральные комплексы, проявляется уже на их уровне. В работе [21] для исключения сомнений относительно упорядоченности структуры поли-А в нейтральной среде, наряду с поли-А, были исследованы динуклеотидмонофосфаты и поли- $N^6$ -гидроксиэтиладениловая кислота (присутствие в последней громоздких замещающих групп препятствует образованию биспиральной конформации). Совместный анализ спектров КД и УФ-поглощения всех трех соединений свидетельствует о реальности существования однонитчатой спиральной конформации. Естественно, что такие структуры скорее всего стабилизируются межплоскостными взаимодействиями азотистых оснований.

Теоретические и экспериментальные изыскания [5, 6] привели авторов к следующему заключению о геометрии однонитчатой спирали для олигонуклеотидов адениловой кислоты: основания лежат в параллельных плоскостях, перпендикулярных оси спирали; угол между основаниями равен  $36^\circ$ ; расстояние между основаниями составляет  $3,4 \text{ \AA}$ .

В полном согласии с изложенными соображениями находятся и наши данные о температурном плавлении растворов поли-А при нейтральных рН методами УФ-спектрофотометрии и КД. С повышением температуры наблюдается гипохромность (29,5%) основной полосы поглощения поли-А с одновременным уменьшением по абсолютному зна-

чению положительной и отрицательной полос спектров кругового дихроизма при неизменности пересечения с базисной линией, что может быть обусловлено только переходом упорядоченной структуры в беспорядочный клубок.

Перейдем теперь к изложению результатов исследований, посвященных выяснению характера воздействия бивалентных катионов  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  и  $Mn^{2+}$  на упорядоченную структуру молекул поли-А в буферных растворах с рН 7.

*Влияние ионов  $Mg^{2+}$  на конформацию и стабильность молекулы поли-А.* При добавлении  $Mg^{2+}$  к раствору поли-А возможно образование комплексов между ними, что должно приводить к изменению КД-спектров. В присутствии  $Mg^{2+}$  спектр КД поли-А претерпевает определенные изменения ( $\Delta\epsilon_{263}$ —уменьшается, а  $\Delta\epsilon_{245}$ —увеличивается по абсолютному значению). Одновременно с увеличением концентрации  $Mg^{2+}$  увеличивается гипохромность поли-А (в буфере  $\Delta H=29,5\%$ , а для раствора, содержащего  $2 \cdot 10^{-4}$  М  $MgCl_2$ ,  $\Delta H=32\%$ ), что, по-видимому, указывает на увеличение спиральности полимера в присутствии  $Mg^{2+}$ . Увеличение спиральности скорее всего обусловлено тем, что ионы  $Mg^{2+}$  в основном взаимодействуют с отрицательно заряженными фосфатными группами, экранируя их взаимное отталкивание. Эффективность экранировки определяется отношением М/Р. Это предположение согласуется с УФ-спектрофотометрическими данными, которые показывают, что при относительно малых концентрациях  $Mg^{2+}$  ( $M/P \leq 10$ ) сдвиг в максимуме полосы поглощения поли-А не наблюдается. Ослабление взаимного отталкивания фосфатных групп сопровождается стабилизацией спиральной структуры. При этом равновесие между двумя формами смещается в сторону спиральной, что, естественно, должно сопровождаться увеличением степени спиральности. Уменьшение  $\Delta\epsilon_{263}$  и увеличение гипохромности можно связать именно с этим эффектом. При концентрации  $Mg^{2+}$   $M/P=0,5$  происходит резкое увеличение амплитуды полосы  $|\epsilon A_{245}|$ , которое с повышением концентрации  $Mg^{2+}$  до  $M/P=10$  не сопровождается существенным изменением пространственной организации комплексов. Это значит, что экранировка отрицательно заряженных фосфатных групп достигает насыщения при наличии в системе одного катиона  $Mg^{2+}$  на две фосфатные группы.

С увеличением температуры наблюдается деспирализация поли-А—уменьшаются  $\Delta\epsilon_{263}$  и  $|\Delta\epsilon_{245}|$  и увеличивается поглощение растворов поли-А (рис. 1). В присутствии ионов  $Mg^{2+}$  нагревание сопровождается освобождением части этих ионов, связанных с фосфатными группами. Эти ионы могут связываться за счет ион-дипольных взаимодействий с азотистыми основаниями и приводить к образованию комплексов и агрегатов. Последние при определенных концентрациях осаждаются. Это явление подробно изучено в работах [14, 16]. Термостабильность комплексов поли-А с  $Mg^{2+}$  зависит от М/Р. При  $M/P \leq 1$  комплексы более термостабильны, чем поли-А, при  $M/P \geq 3$  термостабильность комплексов уменьшается, что скорее всего обусловлено связыванием ионов  $Mg^{2+}$  с азотистыми основаниями.

Влияние ионов  $\text{Cu}^{2+}$  на конформацию и стабильность поли-А. Добавление небольших количеств ионов  $\text{Cu}^{2+}$  ( $10^{-5}$  —  $10^{-4}$  М) сопровождается значительным изменением конформации поли-А. В этом интервале концентраций, сходным с концентрацией фосфора ( $7 \cdot 10^{-5}$  М), конформационный переход спираль—клубок происходит при комнатной температуре.

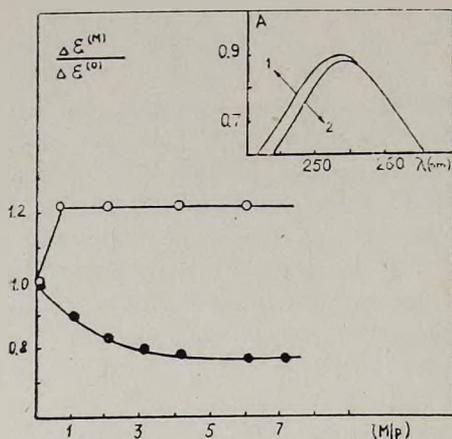


Рис. 1. Зависимость отношения  $\frac{\Delta \varepsilon_{\min}(M)}{\Delta \varepsilon_{\min}(0)}$  (○) и  $\frac{\Delta \varepsilon_{\max}(M)}{\Delta \varepsilon_{\max}(0)}$  (●) от концентрации ионов  $\text{Mg}^{2+}$ . В квадрате даны спектры УФ-поглощения (1)—поли-А и (2)—поли-А +  $\text{Mg}^{2+}$ .

Как видно из спектров УФ-поглощения комплекса поли-А с  $\text{Cu}^{2+}$  с возрастанием концентрации последнего (до  $3 \cdot 10^{-5}$  М) наблюдаются увеличение максимума полосы поглощения (максимальный гипохромный эффект  $\sim 24\%$  при концентрации  $M/P=1,5$   $\text{Cu}^{2+}$ ) и сдвиг всей кривой на  $\sim 3$  нм в сторону длинных волн. Этот сдвиг можно объяснить взаимодействием  $\text{Cu}^{2+}$  с аденином.

На рис. 2 показаны относительные изменения  $|\Delta \varepsilon_{\min}|$  спектров КД комплексов поли-А с  $\text{Cu}^{2+}$  (кр. 1) и поли-А с  $\text{Cu}^{2+}$  в присутствии  $\text{Mg}^{2+}$  ( $M/P=0,5$ ). Небольшое увеличение анизотропии молекулы в пределах концентраций  $10^{-5}$  —  $3 \cdot 10^{-5}$  М указывает на некоторую стабилизацию спиральной структуры комплекса поли-А с  $\text{Cu}^{2+}$ , которая обусловлена взаимодействием ионов меди с отрицательно заряженными фосфатными группами. При дальнейшем увеличении концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  до  $7 \cdot 10^{-5}$  М происходит кооперативное разрушение спиральной структуры (переход спираль—клубок). Начиная с концентрации  $M/P=1$  происходит стабилизация изменений конформации комплекса. Поэтому можно предположить, что уже при  $M/P=1$  все спиральные участки молекулы поли-А разрушены.

В том случае (кр. 2), когда фосфатные группы предварительно блокируются ионами  $\text{Mg}^{2+}$  ( $M/P=0,5$ ), первоначального увеличения  $|\Delta \varepsilon_{\min}|$  не наблюдается, т. е. происходит непосредственное связывание  $\text{Cu}^{2+}$  с азотистым основанием. Дальнейший ход кривой подобен кривой для поли-А +  $\text{Cu}^{2+}$  без ионов  $\text{Mg}^{2+}$ . Где-то в районе концентрации  $M/P=1$  наступает насыщение. Процесс разрушения спиральных участков молекулы поли-А можно считать окончанным, когда на каждое

азотистое основание садится по одному иону меди. Можно предположить, что на аденине имеется одно посадочное место для ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , при заполнении которого происходит разрушение стэкинг-взаимодействия между основаниями, что ведет к расплетанию имеющихся спиральных участков.

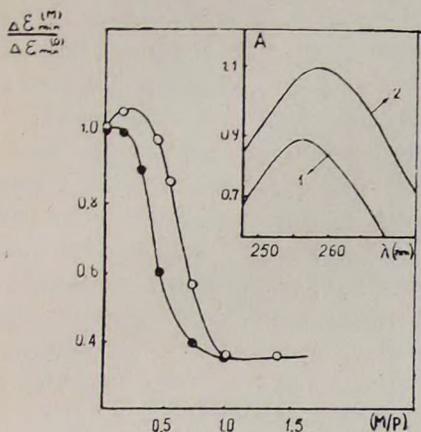


Рис. 2.

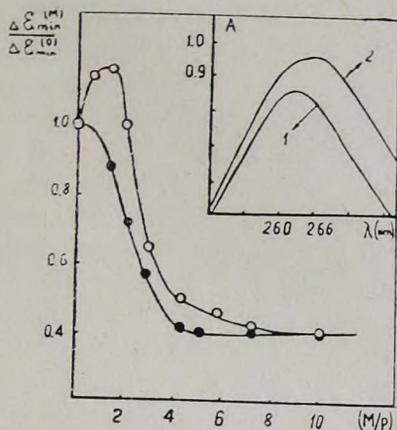


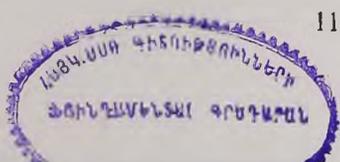
Рис. 3.

Рис. 2. Зависимость относительного изменения  $\frac{\Delta \epsilon_{\min}(M)}{\Delta \epsilon_{\min}(0)}$  от концентрации ионов  $\text{Cu}^{2+}$ . (○)-поли-А +  $\text{Cu}^{2+}$ ; (●)-поли-А +  $\text{Cu}^{2+}$  + 0,5 М/Р  $\text{Mg}^{2+}$ . В квадрате даны спектры УФ-поглощения (1)-поли-А + 0,5 М/Р  $\text{Mg}^{2+}$ , (2)-поли-А + 0,5 М/Р  $\text{Mg}^{2+}$  + 1,5 М/Р  $\text{Cu}^{2+}$ .

Рис. 3. Зависимость относительного изменения  $\frac{\Delta \epsilon_{\min}(M)}{\Delta \epsilon_{\min}(0)}$  от концентрации ионов  $\text{Mn}^{2+}$ . (○)-поли-А +  $\text{Mn}^{2+}$ ; (●)-поли-А +  $\text{Mn}^{2+}$  + 0,5 М/Р  $\text{Mg}^{2+}$ . В квадрате даны спектры УФ-поглощения (1)-поли-А + 0,5 М/Р  $\text{Mg}^{2+}$ , (2)-поли-А + 0,5 М/Р  $\text{Mg}^{2+}$  + 10 М/Р  $\text{Mn}^{2+}$ .

Интересно также, что величина гипохромного эффекта для комплекса поли-А +  $\text{Cu}^{2+}$  (М/Р=1,5) в присутствии  $\text{Mg}^{2+}$  (М/Р=0,5) составляет ~23,5%, т. е. практически столько же, сколько без  $\text{Mg}^{2+}$ . Сдвиг максимума кривой поглощения также не изменяется при наличии ионов  $\text{Mg}^{2+}$ . Это еще раз подтверждает, что ионы  $\text{Cu}^{2+}$  предпочтительнее связываются с основаниями поли-А при этих концентрациях.

Влияние ионов  $\text{Mn}^{2+}$  на конформацию и стабильность поли-А. Добавление небольших количеств  $\text{Mn}^{2+}$  ( $5 \cdot 10^{-5}$  ÷  $2 \cdot 10^{-4}$  М) приводит к незначительному уменьшению величины максимума в УФ-поглощении. В области концентраций  $\text{Mn}^{2+}$  М/Р=2 УФ-поглощение уменьшается, т. е.  $\text{Mn}^{2+}$  взаимодействует с фосфатными группами поли-А. Это взаимодействие приводит к небольшой стабилизации спиральной структуры. С дальнейшим повышением концентрации  $\text{Mn}^{2+}$  наблюдается гипохромный эффект (~5%) в узких пределах концентраций  $\text{Mn}^{2+}$  ( $2 \cdot 10^{-4}$  ÷  $5 \cdot 10^{-4}$ ). Интересно, что для  $\text{Cu}^{2+}$  гипохромный эффект зна-



чительно выше (24%) эффекта  $Mn^{2+}$ . Увеличение поглощения сопровождается сдвигом положения максимума на 4 нм в сторону длинных волн. Это, по всей видимости, говорит о том, что произошло взаимодействие  $Mn^{2+}$  с аденином поли-А, с последующей дестабилизацией спиральных участков, о чем свидетельствует гипохромный эффект.

На рис. 3 (кр. 1) даны относительные изменения  $|\Delta\epsilon_{min}|$  спектров КД поли-А в присутствии ионов  $Mn^{2+}$ . Видно, что вплоть до концентраций  $Mn^{2+}/M/P \leq 2$  наблюдается увеличение анизотропии молекул поли-А ( $|\Delta\epsilon_{min}|$  увеличивается). Это еще раз подтверждает, что при низких концентрациях (до  $1,5 \cdot 10^{-4}$  М) ионы  $Mn^{2+}$  взаимодействуют с фосфатными группами, стабилизируя спиральную структуру поли-А, причем достаточно двух ионов  $Mn^{2+}$  на одну фосфатную группу, чтобы экранировать весь отрицательный заряд фосфора. Дальнейшее увеличение концентрации до  $M/P=6$  приводит к резкому уменьшению анизотропии молекулы поли-А, обусловленному расплетанием спиральных участков ( $\Delta\epsilon_{max}$  и  $|\Delta\epsilon_{min}|$  уменьшаются), происходящим вследствие взаимодействия ионов с аденином. Дальнейший рост концентраций вплоть до  $10^{-3}$  М не меняет существенным образом хода кривой, т. е. при  $M/P=6$  процесс разрушения спиральной структуры достигает насыщения.

Как видно из рис. 3 (кр. 2), предварительная окрашивание фосфатных групп ионами  $Mg^{2+}$  ( $M/P=0,5$ ) приводит к тому, что  $Mn^{2+}$  сразу начинает взаимодействовать с аденином, что сопровождается значительным изменением конформации полученного комплекса. Процесс стабилизации изменений структуры в этом случае начинается с  $M/P=4$ . Это значит, что необходимо минимум четыре иона  $Mn^{2+}$  для того, чтобы полностью разрушить стэкинг-взаимодействия между основаниями и деспирализовать структуру поли-А, тогда как в случае с  $Cu^{2+}$  достаточно одного иона  $Cu^{2+}$  на одно основание. Можно предположить, что для  $Mn^{2+}$  в отличие от  $Cu^{2+}$  на аденине имеется четыре посадочных места. Это предположение поддерживается тем фактом, что на аденине имеются четыре отрицательно заряженные группы. Возможно, что константы связывания этих отрицательно заряженных групп с ионами  $Mn^{2+}$  имеют одинаково высокие значения, тогда как для  $Cu^{2+}$  константа связывания с одной из них сильно превалирует над остальными.

Ереванский государственный университет,  
кафедра молекулярной физики и биофизики

Поступило 12.VIII 1980 г.

ԵՐԿՎԱԼԵՆՏ ՄԵՏԱՂՆԵՐԻ ԻՈՆՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ  
ՊՈԼԻՌԻԲԵՏԱԳԵՆԻԼԱՅԻՆ ԹԹՎԻ ՄՈԼԵԿՈՒԼԻ  
ԿՈՆՖՈՐՄԱՑԻՈՆ ՎԻՃԱԿԻ ՎՐԱ

Պ. Պ. ՅԱՍԵՄ, Վ. Մ. ԱՍԼԱՆՅԱՆ, ՅԱ. Ս. ԲԱԲԱՅԱՆ, Ե. Բ. ԴԱԼՅԱՆ

Օպտիկական շրջանային դիսրոիզմի և գերմանուշիշակագույն սպեկտրոֆոտոմետրայի մեթոդներով ուսումնասիրվել են հրկվալենտ մետաղների իոնների  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  և  $Mn^{2+}$  փոխադրեցուցյունը պոլիադենիլային թթվի

(պուրի-Ա) հետ: Պարզվել է, որ  $Mg^{2+}$ -ի իոնները կապվելով ֆոսֆատային խմբերի հետ, կայունացնում են պուրի-Ա-ի պարուրածև կառուցվածքը: Ընդ որում պուրի-Ա +  $Mg^{2+}$  կոմպլեքսի կայունացումը դիտվում է  $M/P \geq 0,5$  կոնցենտրացիաների դեպքում:

$Cu^{2+}$  -ի իոնները լառավելապես փոխազդում են պուրի-Ա-ի հիմքերի հետ, հանդեցնելով ուժեղ ապակայունացման և պարուրածև կառուցվածքի քանդման: Էֆեկտը հասնում է հագեցման, երբ մեկ հիմքին համապատասխանում է  $Cu^{2+}$  -ի մեկ իոն:

$Mn^{2+}$  -ի ազդեցությունը պուրի-Ա-ի վրա ունի բարդ բնույթ:  $M/P \leq 2$  կոնցենտրացիաների դեպքում դիտվում է պարուրածև կառուցվածքի կայունացում:  $Mn^{2+}$  -ի կոնցենտրացիայի հետագա բարձրացումը մինչև  $M/P = 6$  ուղեկցվում է պարուրի ապակայունացմամբ, որը պայմանավորված է  $Mn^{2+}$  -ի փոխազդեցությամբ պուրի-Ա-ի հիմքերի վրա:

Ապակայունացումը հասնում է հագեցման, երբ մեկ հիմքին համապատասխանում է  $Mn^{2+}$  -ի չորս իոն:

## THE INFLUENCE OF DIVALENT METAL IONS ON CONFORMATIONAL STATE OF POLYRIBOADENILIC ACID MOLECULE

P. P. YASEM, V. M. ASLANIAN, Yu. S. BABAIAN, E. B. DALIAN

The interaction of divalent metal  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Mn^{2+}$  ions with polyadenil acid (Poly-A) has been investigated by CD and UV—absorption methods. It is revealed, that the  $Mg^{2+}$  ions binding with phosphate groups stabilize the helix structure of Poly-A. The effect of Poly-A +  $Mg$  complex stabilization is observed at  $Mg^{2+}$  concentrations  $M/P \geq 0,5$ . Ions of  $Cu^{2+}$  interact mainly with bases of Poly-A, bringing to an intense destabilization and destruction of helix structure (the effect comes to saturation when one  $Cu^{2+}$  ion corresponds to one base). The influence of  $Mn^{2+}$  ions on Poly-A has a complex character. At concentrations  $M/P \leq 2$  a stabilization of helix structure is observed. The further increase of  $Mn^{2+}$  concentration to  $M/P = 6$  is accompanied with helix destabilization, due to  $Mn^{2+}$  interaction with Poly-A bases. The destabilization effect comes to saturation when four  $Mn^{2+}$  ions correspond to one base.

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Благой Ю. П., Сорокин В. А., Валева В. А., Хоменко С. А., Гладченко Г. О. Молекулярная биология, 11, вып. 4, 748, 1977.
2. Brahms J. Nature, 202, 797, 1964.
3. Brahms J., Maurizet J., Michelson A. M. J. Mol. Biol., 15, 497, 1961.
4. Brahms J., Michelson A. M., Van-Holde K. S. J. Mol. Biol., 15, 497, 1966.
5. Bush C. A., Brahms J. J. Chem. Phys., 46, 79, 1967.
6. Bush C. A., Tinoco I. J. Mol. Biol., 23, 601, 1967.
7. Eichhorn G. L., Shin Y. A. J. Amer. Chem. Soc., 90, 21, 7323, 1968.

8. Förster, Bauer E., Schutz H., Berg H., Akimenko M., Minchenkova L. E., Evdokimov Yu. M., Varshavsky Ya. M. *Biopolymers*, 18, 625, 1979.
9. Fresco J. R., Klempeter E. *Ann. N-Y Acad. Sci.*, 81, 730, 1959.
10. Fresco J. R., Alberts B. M., Doty P. *Nature*, 188, 98, 1960.
11. Hanlon S., Chan A., Berman S. *Biochem. Biophys. Acta*, 519, 526, 1978.
12. Holcomb D. N., Tinoco I. *Biopolymers*, 3, 121, 1965.
13. Luzzati V., Mathis A., Masson F., Witz J. J. *Mol. Biol.*, 10, 28, 1964.
14. Lyons J. W., Kotin L. J. *Amer. Chem. Soc.*, 87, 1781, 1965.
15. Mathieson A. R., Olayemi J. Y. *Arch. Biochem. Biophys.*, 169, 237, 1975.
16. Ott G. S., Ziegler E., Bauer W. *Biochemistry*, 14, 3431, 1975.
17. Record M. Th., Jr. *Biopolymers*, 13, 425, 1975.
18. Rich A., Davies D. E., Crick F. H. C., Watson E. D. *J. Mol. Biol.*, 3, 1961.
19. Staler J. P., Mildvan A. S., Loeb L. A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 44, 37, 1971.
20. Shin Y. A. *Biopolymers*, 12, 2459, 1973.
21. Van-Holde K. C., Brahm J., Michelson A. M. *J. Mol. Biol.*, 12, 726, 1965.
22. Vocel S. V., Slepneva I. A., Backer J. M. *Biopolymers*, 14, 2445, 1975.
23. Witz J., Luzzati V. J. *Mol. Biol.*, 11, 620, 1965.
24. Zimmer Ch., Luck G., Trlebel H. *Biopolymers*, 13, 425, 1974.