Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիա
Национальная Академия Наук Армении
National Academy of Sciences of Armenia

Հայաստանի Կենսաբանական Հանդես
Биологический Журнал Армении
Biological Journal of Armenia

•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи• •Experimental and theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 3 (62), 2010

ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ ДНК С ЛИГАНДАМИ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

П.О. ВАРДЕВАНЯН, А.П. АНТОНЯН

Ереванский государственный университет

В работе обобщены данные по исследованию особенностей комплексообразования ДНК с лигандами, которые связываются с ней различными механизмами, на примере классического интеркалятора бромистого этидия (БЭ) и неинтеркалятора Hoechst 33258. Показано, что БЭ проявляет мультимодальность, так как может связываться с дц-ДНК тремя – интеркаляционным, полуинтеркаляционным и электростатическим, а с оц-ДНК двумя – полуинтеркаляционным и электростатическим механизмами. Сравнение экспериментально полученных значений параметров взаимодействия с теоретически рассчитанными выявило хорошее соответствие. Показано, что Hoechst 33258 также проявляет мультимодальность при связывании с дц-ДНК, которая зависит от условий внешних факторов, в частности от ионной силы раствора.

ДНК – БЭ - Hoechst 33258 – интеркаляция – полуинтеркаляция – мультимодальность

Աշխատանքում ընդհանրացված են ԴՆԹ-ի հետ տարբեր մեխանիզմներով կապվող լիգանդների կոմպլեքսագոյացման առանձնահատկությունների ուսումնասիրությունները՝ դասական ինտերկալյատոր էթիդիում բրոմիդի (ԷԲ) և ոչ ինտերկալյատոր Hoechst 33258-ի օրինակներով: Ցույց է տրվել, որ ԷԲ-ն դրսևորում է բազմաբնույթ փոխազդեցություն, քանի որ եշ-ԴՆԹ-ի հետ կարող է կապվել երեք՝ ինտերկալյացիոն, կիսաինտերկալյացիոն և էլեկտրաստատիկ, իսկ մշ-ԴՆԹ-ի հետ՝ երկու՝ կիսաինտերկալյացիոն և էլեկտրաստատիկ մեխանիզմներով: Փոխազդեցության պարամետրերի փորձարարականորեն ստացված արժեքները տեսականորեն հաշվարկվածների հետ լավ համապատասխանության մեջ են: Ցույց է տրվել, որ Hoechst 33258-ը նույնպես դրսևորում է բազմաբնույթ փոխազդեցություն եշ-ԴՆԹ-ի հետ կապվելիս, ինչը կախված է արտաքին գործոնների պայմաններից, մասնավորապես լուծույթի իոնական ուժից:

ԴՆԹ - ԷԲ - Hoechst 33258 - ինտերկալյացիա - կիսաինտերկալյացիա - բազմաբնույթ լիգանդ

Investigations related to the peculiarities of DNA complexformation with ligands binding by different mechanisms, on examples of classic intercalator ehidium bromide (EtBr), and non-intercalator Hoechst 33258 are generalized in this work. It has been shown that EtBr exhibits multimodality, because it may bind with ds-DNA by three – intercalation, semiintercalation and elecrtostatical, and with ss-DNA by two – semiintercalation and electrostaical mechanisms. The comparison of experimental values of interaction parameters to theoretically calculated ones reveals a good correlation. It has been shown that Hoechst 33258 also exhibits multimodality at the binding with ds-DNA, which depends on conditions of external factors, particularly, on ionic strength of solution.

DNA – EB - Hoechst 33258 – intercalation – semiintercalation – ultimodality

Одной из главных задач биофизики нуклеиновых кислот является выяснение особенностей процессов, связанных с их структурой и функцией, а также определение условий термодинамического равновесия, при которых устанавливается данная структура или происходит процесс с участием ДНК. К таким вопросам относятся как конформационные перестройки в самой ДНК, так и ее взаимодействие с различными низкомолекулярными соединениями – лигандами. Термодинамическое состояние данной структуры ДНК или ДНК-лиганд комплексов определяется величиной свободной энергии системы ΔG - $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, где ΔH, T и ΔS соответственно энтальпия, температура и энтропия системы. С этой точки зрения процессы, происходящие с участием ДНК, обусловлены изменениями этих параметров. Более того, на эти величины оказывают определенное влияние как условия среды, при которых происходят эти процессы, так и присутствие различных молекул, следовательно, определение термодинамических параметров этих процессов позволяют выяснить механизмы, лежащие в основе функционирования нуклеиновых кислот [8, 13, 18, 19, 22, 30, 31].

В настоящее время взаимодействие биологически активных соединений с ДНК интенсивно изучается для определения специфичности их связывания с определенными участками ДНК, выявления особенностей механизмов этих взаимодействий и для понимания влияния лигандов на функционирование ДНК. Следовательно, данные исследования могут иметь не только теоретическое, но и большое практическое значение, поскольку спектр применения подобных веществ весьма обширен.

Лиганды могут связываться с ДНК различными способами: ковалентным, к примеру - *cis*-DDP (цис-диаминдихлорплатин) [13], или нековалентно, различными механизмами (интеркаляционным, внешним связыванием с одной из бороздок ДНК или электростатическим) [1, 2, 8, 9, 28, 33]. Более того, существует определенный класс лигандов, которые могут связываться с ДНК несколькими способами [18, 19, 30].

Лиганды, связывающиеся с ДНК интеркаляционным механизмом, представляют научный интерес, т.к. этот способ связывания малых молекул с нуклеиновыми кислотами первым был применен для определения биологической активности соединений, содержащих плоские ароматические хромофоры [11, 12, 21]. Указанным способом связываются с ДНК такие лиганды, как БЭ (рис. 1), актиномицин Д (АМД). Некоторые же лиганды, например нетропсин, дистамицин А, Hoechst 33258 (рис. 1), локализуются в одной из бороздок (в основном в малой) ДНК, вдоль главной оси, с высокой предпочтительностью к АТ последовательностям [25-27]. Важно отметить, что при интеркаляции, когда молекула лиганда проникает в плоскость между соседними парами оснований, структура ДНК претерпевает значительные локальные перестройки, тогда как при внешнем связывании лигандов такие изменения в молекуле ДНК незначительны [3, 14].

Несмотря на то что связывающиеся нековалентно с ДНК лиганды подразделяются на интеркаляторы и неинтеркаляторы, исследования последних лет выявили, что большинство из них являются мультимодальными, что нельзя не учитывать при выяснении особенностей их взаимодействия с ДНК. С этой точки зрения моделирование комплексообразования лигандов с различными структурами ДНК на основании данных, полученных на примере таких лигандов, каковыми являются БЭ, Hoechst 33258 и др. весьма значительно [4, 15, 20, 32].

Интеркалирование молекул лиганда реализуется в 3 этапа. Во-первых, структура ДНК претерпевает изменения для создания интеркаляционного места. При этом пары оснований отодвигаются на ван-дер-ваальсовые расстояния, вследствие чего образуется полость, которая подходит интеркаляционному хромофору.

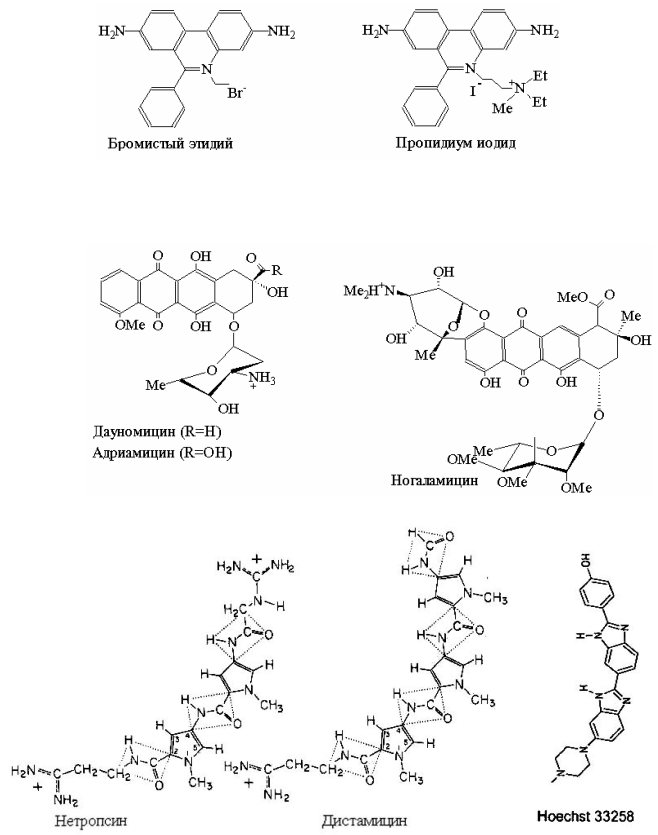

Рис. 1. Структура некоторых лигандов интеркаляторов – БЭ, пропидиум иодид, дауномицин, адриамицин, ногаламицин, и связывающиеся с ДНК внешне – нетропсин, дистамицин, Hoechst 33258.

При этом ДНК раскручивается, увеличивая расстояние между фосфатными группами, что, в свою очередь, приводит к изменению локальной плотности заряда. Во-вторых, происходит перенос интеркалятора из полярной среды в неполярное интеркаляционное пространство. Вследствие этого высвобождается дополнительное количество положительных зарядов из полимера (связанные с ней катионы), если интеркалятор заряжен положительно [12]. Далее интеркалятор внедряется между парами оснований. При этом происходит излом спирали, а также смещение локальных осей над и под участком интеркаляции [7]. При интеркаляции имеют место нековалентные межмолекулярные взаимодействия – водородные, ван-дер- ваальсовые, электростатические, а также стекинг-взаимодействия между ДНК и интеркалятором, которые вносят свой вклад в свободную энергию образования связи [12, 21]. Так, в работах [18, 19, 30] показано, что являющиеся ингибиторами транскрипции БЭ, АМД образуют два типа комплексов с ДНК – «сильный» и «слабый». При этом показано, что энтропия взаимодействия сильным способом претерпевает большие изменения, на основании чего было предположено, что сильный комплекс этих лигандов с ДНК образуется за счет интеркаляции [18, 19, 30]. Если при этом интеркалятор является катионом (например, БЭ), а нуклеиновые кислоты в растворе представляют собой полианионы, то естественным будет предположить, что возможно также электростатическое связывание

между молекулами красителя и фосфатными группами ДНК, которое характеризуется меньшей, по сравнению с интеркаляцией, константой связывания.

На это указывает и тот факт, что увеличение ионной силы раствора приводит к уменьшению константы связывания [18]. Два способа связывания БЭ с ДНК обнаружено различными методами – спектроскопическими (абсорбционным, флуориметрическим, кругового дихроизма, дисперсией оптического вращения, равновесного диализа, тепловой денатурации, дифференциальной импульсной вольтамперометрии и др.) [8, 13, 18, 19, 30, 31], или электрохимическим [23,29], один из которых – «сильный», другой – «слабый». На это указывает и тот факт, что кривые связывания БЭ с ДНК в координатах Скетчарда (зависимость r/C_f от r, где r является соотношением концентраций связанных молекул лиганда и ДНК, C_f – концентрация свободного лиганда в растворе), определяемые уравнением

$$\frac{r}{C_f} = K(1-nr)\left[\frac{1-nr}{1-(n-1)r}\right]^{n-1}, \qquad (1)$$

нелинейные и состоят из двух прямолинейных участков, соответствующих двум способам связывания.

Для определения числа способов и термодинамических параметров связывания информативным является также метод термо- или pH-индуцированного перехода спираль-клубок комплексов ДНК с лигандами. В частности, на основании термоиндуцированного плавления была разработана теоретическая модель [18] и были получены универсальные уравнения, описывающие многопараметрическую зависимость изменения температуры и ширины интервала плавления спираль-клубок комплексов ДНК с БЭ (и др. интеркаляторов) от концентрации лигандов. С помощью этих уравнений выявлено, что, кроме интеркаляционного и электростатического, с двухцепочечной ДНК эти соединения связываются также другими способами [18, 24]. Более того, экспериментальные исследования по плавлению комплексов при различных ионных силах раствора выявили, что существует по крайней мере два способа «слабого» взаимодействия БЭ с ДНК электростатической природы [18, 30]. В дальнейшем, сопоставлением данных, полученных спектроскопическим (флуоресцентным и абсорбционным) методом, наряду с флуоресцирующим «сильным» (интеркаляционным), был выявлен нефлуоресцирующий «сильный» способ связывания БЭ с ДНК, так как кривые связывания БЭ с ДНК в координатах Скетчарда, полученные на основании спектров флуоресценции и абсорбции комплексов, различаются [31]. Аналогичные данные получены также методом дифференциальной импульсной вольтамперометрии [23]. При наличии только одного способа взаимодействия изотермы адсорбции, полученные флуориметрическим и абсорбционным методами, должны совпадать, когда основным типом связывания является только интеркаляция. Различия же в кривых связывания, полученных флуориметрическим и абсорбционным методами, могут быть обусловлены тем, что кроме интеркаляционного, имеет место также другой способ связывания. Примечательным является тот факт, что термодинамические параметры, рассчитанные теоретически и полученные экспериментально для этого способа, находятся в хорошем соответствии. В работе [33] было показано, что АМД может частично интеркалировать в плоскость между соседними основаниями в одной из нитей ДНК – полуинтеркаляция. При этом термодинамические параметры полуинтеркаляционного комплекса АМД, полученные в работе [33], совпадали с таковыми для комплекса БЭ с ДНК, полученными из сопоставления результатов абсорбционных и флуориметрических исследований. С другой стороны, в работе [18] показано, что термодинамические параметры взаимодействия БЭ и АМД различными способами также находятся в хорошем соответствии. Экспериментальные исследования по взаимодействию БЭ с ДНК выявили, что этот лиганд, как и АМД, с ДНК может связываться тремя способами одновременно – интеркаляционным, полуинтеркаляционным и электростатическим [31].

Важным в изучении взаимодействия лигандов с ДНК является также и тот факт, что не исключается возможность для их связывания с одноцепочечными участками ДНК, так как в процессе реализации генетической информации, при репликации и транскрипции в молекуле ДНК образуются одноцепочечные участки. In vitro гибкая, нативная, флуктуирующая молекула дц-ДНК также содержит одноцепочечные участки. С этой точки зрения интересно отметить, что и теоретические, и экспериментальные исследования по взаимодействию БЭ и АМД с одноцепочечной (оц) ДНК выявили, по крайней мере, еще два способа, несмотря на предпочтительность связывания этих лигандов с двухцепочечными полинуклеотидами [18, 19]. Более того, в работе [6] методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР) показано, что БЭ связывается с одноцепочечной ДНК полуинтеркаляционным способом. В работе же [3] нами получено, по крайней мере, два способа связывания БЭ с оц-полинуклеотидами. С учетом того, что полученные значения констант связывания БЭ с одноцепочечной ДНК отличаются на порядок, один из способов можно считать «сильным», а другой – «слабым» [3, 5]. В работе [18] показана идентичность термодинамических параметров связывания БЭ и АМД с двухцепочечной и одноцепочечной ДНК, исходя из чего можно допустить, что связывание лигандов с одноцепочечными полинуклеотидами также играет важную роль в регуляции биологической активности ДНК [3, 5, 6].

Значения констант и числа мест связывания БЭ с ДНК, полученных теоретически и экспериментально для различных способов, приведены в табл. 1. Как видно, рассчитанные теоретически и определенные экспериментально значения параметров связывания БЭ с ДНК различными способами находятся в хорошем соответствии.

Таблица 1. Значения констант (K) и числа мест (n) связывания БЭ с дц- и оц-ДНК, рассчитанные теоретически и полученные экспериментально.

N	Теория		Эксперимент	
	$K\times10^{-5}$; M^{-1}	n	$K\times10^{-5}$; M^{-1}	n
1	0,25	3	0,5	3
2	1,25	10	1,4	9
3	0,3	5	0,23	3
4	1,4	6,75	1,7	8
5	50	12	19	11

Таким образом, результаты исследований по взаимодействию БЭ с ДНК указывают на то, что этот лиганд в зависимости от концентрации может связываться как с двухцепочечной, так и с одноцепочечной участками ДНК, при этом образуя различные типы комплексов одновременно. Это может иметь важное значение с практической точки зрения, так как многие противоопухолевые препараты являются интеркаляторами, и эти данные могут лечь в основу при скрининге новых лекарственных препаратов.

Другой класс соединений – это локализующиеся в малом желобке ДНК лиганды, связывание которых осуществляется в два этапа: гидрофобный перенос лиганда из раствора в энергетически более выгодную малую бороздку ДНК и образование нековалентных взаимодействий с ДНК. Ван-дер-ваальсовые взаимодействия и водородные связи – важнейшие факторы образования таких комплексов [11, 12, 21]. Большинство этих лигандов проявляют ярко выраженную специ-фичность к определенным последовательностям ДНК. В этой связи в последнее время большее внимание уделяется таким препаратам, интерес к которым обусловлен тем, что они имеют прикладное значение, в частности, в химиотерапии опухолей. К этим веществам относятся олигопептиды, являющиеся производными лекситропсинов (например, нетропсин, дистамицин и бис-амиды, которые используются в качестве зондов, узнающих определенные последовательности ДНК) [34].

Бис-амидные вещества с умеренным антивирусным и антибактериальным свойствами представляют собой класс лигандов, связывающихся через малый желобок ДНК. Двухкатионные молекулы обратимо связываются с малой бороздой двойной спирали ДНК с умеренным сродством (порядка 1±10 μм), проявляя предпочтение к АТ богатым участкам. При этом обнаружена отчетливая корреляция между сродством и биологической активностью бис-амидов [16, 17].

Среди лигандов неинтеркаляторов, связывающихся с ДНК со специфичностью к АТ последовательностям, определенный интерес представляет H33258. Исследования последних лет о взаимодействии этого лиганда с ДНК выявили несколько способов связывания [4, 32]. В частности, при различных ионных силах раствора нами выявлены важные особенности влияния степени гидратации и эффекта полиэлектролита на сродство этого лиганда к ДНК, учитывая распределение положительного заряда вдоль поверхности молекулы H33258. Нами показано, что при относительно высоких ионных силах раствора (μ>0,004 M Na^+) и высоких концентрациях лиганда наблюдается изменение формы кривой плавления в интервале изменения температуры 50<T<75°C, и обнаружено, что в этих условиях молекулы лиганда диссоциируют в указанном интервале изменения температуры, вследствие электростатической природы слабого способа связывания [4, 32]. С другой стороны, важно то обстоятельство, что изменение ионной силы раствора влияет на величину ширины интервала плавления комплексов ДНК-H33258 в зависимости от r (r=лиганд/ДНК). При ионной силе μ=0.002 M Na^+ ширина интервала плавления комплексов увеличиватся по сравнению с аналогичным параметром чистой ДНК, так как в ходе плавления происходит перераспределение молекул H33258 с денатурированных участков на еще не денатурированные. Увеличение ионной силы приводит к увеличению плотности электроотрицательного заряда и уменьшению степени гидратированности в АТ богатых участках малого желобка ДНК, вследствие чего и специфическое связывание H33258 с ДНК становится более выраженным [4, 32].

Полученные нами данные выявили также, что при ионных силах раствора μ=0.002 M Na^+; μ=0.01 M Na^+ и μ=0.02 M Na^+ кривые зависимости изменения ширины интервала плавления комплексов ДНК-H33258 от концентрации лиганда практически не меняются уже при значениях r≥0.1, что указывает на то, что места связывания ограничены и при указанном значении r происходит их насыщение молекулами лиганда. Особый интерес представляют данные, полученные при μ=0.004 M Na^+, поскольку изменение ширины интервала плавления $\delta(\Delta T/T_m^2)$ комплексов ДНК- H33258 ($\delta(\Delta T/T_m^2)=\Delta T/T_m 2-\Delta T_0/T_0^2$, где ΔT и ΔT_0 – ширины интервала плавления комплексов и чистой ДНК, T_m и T_0 – температуры плавления комплексов и чистой ДНК соответственно увеличивается при низких концентрациях лиганда (r≥0.05), проходит через плато и при значениях r≥0.1 начинает уменьшаться. При значениях же r≥0.2 - $\delta(\Delta T/T_m^2)\approx 0$. Эти данные являются результатом существования нескольких способов связывания H33258, как и в случае с БЭ. Анализ показывает, что H33258 с ДНК взаимодействует сильным способом с ограниченными местами связывания. Из полученных данных обнаружено, что при μ=0.002 M Na^+ специфичность к АТ последовательностям ДНК не проявляется, а при μ≥0.004 M Na^+ этот лиганд связывается только специфически с АТ основаниями. Полученные нами данные находятся в хорошем соответствии с результатами работ [11, 12, 15, 20, 21], где показано, что специфическое узнавание АТ последовательностей молекулами лиганда в малом желобке ДНК обусловлено электростатическими, ван-дер-ваальсовыми и водородными взаимодействиями. На существование различных способов связывания H33258 с ДНК указывают результаты Скетчард анализа кривых адсорбции (нелинейные кривые связывания), с помощью которых были определены значения констант (K) и число мест (n)

связывания [4, 32]. Учитывая, что H33258 с ДНК взаимодействует, по крайней мере, двумя способами, из кривых связывания были получены значения K и n для двух способов (табл.2). Значение K_s, полученное при ионной силе раствора μ=0.002 M Na^+, указывает на то, что H33258 с ДНК связывается неспецифически, сильным способом. Однако, как видно из табл. 2, значение K_s, соответствующее сильному способу связывания, уменьшается при повышении ионной силы раствора от 2 мМ Na^+ до 4 мМ Na^+. Учитывая особенности взаимодействия H33258 с ДНК при ионной силе 4 мМ Na^+, можно предположить, что молекулы лиганда с ДНК связываются двумя силь-ными способами одновременно, которые, по всей вероятности, конкурируют между собой. Дальнейшее повышение ионной силы раствора приводит к значительному увеличению величины K_s, что является следствием проявления ярко выраженного специфического взаимодействия молекул лиганда с АТ последовательностями ДНК (при 20 мМ Na^+ значение константы связывания наибольшее). Получены также значения n для этих двух способов связывания H33258 с ДНК (табл.2).

Таблица 2. Экспериментальные значения K и n, полученные для комплексов H33258 с ДНК при различных ионных силах раствора

Ионная сила M Na^+	$K_s \cdot 10^{-6}$ M^{-1}	$K_w \cdot 10^{-5}$ M^{-1}	n_s	n_w
0.002	7,9±0,30	0,80±0,03	14	3
0.004	0.62±0,05	0,14±0,05	8	3
0.01	6,25±0,20	0,67±0,02	11	3
0.02	450,00±20,00	10,30±2,00	17	4

K_s и K_w - значения констант сильного и слабого способов связывания соответственно, n_s и n_w - значения числа пар оснований, соответствующих одному месту сильного и слабого способов связывания соответственно.

Как видно из приведенных данных, значения n_s уменьшается при увеличении ионной силы раствора от 2 до 4мМ Na^+, а при дальнейшем повышении ионной силы раствора значения n_s увеличиваются. При μ=20 мМ Na^+ значения n_s наибольшее, так как в этих условиях число мест связывания H33258 на ДНК сильным способом очень ограничено по сравнению с n_s, полученных при более низких ионных силах. Из табл.2 видно, что значения n_w практически одинаковы в интервале изменения ионной силы раствора 2≤μ≤20 мМ Na^+. Это указывает на то, что при высоких концентрациях слабый способ связывания H33258 с ДНК происходит одним и тем же механизмом независимо от ионной силы раствора.

Из полученных данных можно заключить, что:

1. классический интеркалятор БЭ и желобково связывающийся лиганд Hoechst 33258 с ДНК могут связываться несколькими способами;
2. проявление того или иного способа связывания Hoechst 33258 с ДНК чувствительно к ионной силе раствора, в то время как в случае с БЭ мультимодальность при взаимодействии с ДНК не зависит от условий среды;
3. специфичность Hoechst 33258 к АТ последовательностям ДНК проявляется при высоких ионных силах раствора.

Проведенные исследования открывают широкие возможности для скрининга биологически активных соединений. Выявление механизмов, лежащих в основе специфического связывания малых молекул с данной конформацией или с определенными последовательностями ДНК, необходимо для понимания влияния

различных агентов на клеточный метаболизм и для синтеза новых, более селективно направленных соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Борисова О.Ф., Щелкина А.А., Карапетян А.Т., Суровая А.Н.* Гетерогенность мест сильного связывания бромистого этидия на ДНК. Флуоресцирующие и нефлуоресцирующие комплексы. Мол. биология, *32*, с. 855-862, 1998.
2. *Бабаян Ю.С., Казарян Р.С., Согомонян Л.Р., Аветисян М.Г., Снгрян А.Е., Гарибян Д.В.* Исследование взаимодействия противоопухолевых соединений митоксантрона аметантрона с ДНК по характеру изменения спектров КД. Биофизика, *43*, вып. 3, с. 422-426, 1998.
3. *Вардеванян П.О., Антонян А.П., Манукян Г.А., Карапетян А.Т., Щелкина А.К., Борисова О.Ф.* Связывание бромистого этидия с нативным и денатурированным poly(dA)poly(dT). Мол. биология, 34, с. 310-315, 2000.
4. *Вардеванян П.О., Антонян А.П., Парсаданян М.А., Пирумян К.В., Бояджян З.Р., Карапетян А.Т.* Влияние ионной силы на взаимодействие Hoechst 33258 с ДНК. Вестник МАНЭБ, 10, 5, вып. 2, с. 145-150, 2005.
5. *Вардеванян П.О., Антонян А.П., Парсаданян М.А., Давтян А.Г., Карапетян А.Т.* Связывание БЭ с одноцепочечной ДНК. Биофизика, *48*, вып. 4, с. 644-647, 2003.
6. *Веселков А.Н., Барановский С.Ф., Дымант Л.Н., Петренко Н.В., Веселков Д.А., Такер А., Дэвис Д.Б.* Комплексообразование бромистого этидия с одноцепочечным некомплементарным дезокситетрануклеотидом 5'-d(ApApGpC). Мол. биология, *31*, 2, с. 263-273, 1997.
7. *Кантор Ч., Шиммел П.* Биофизическая химия. *3*, М.:Мир. 534 с., 1985.
8. Молекулярные основы действия антибиотиков. Под редакцией действительного члена АМН ССР *Г.Ф. Гаузе*. "Мир", М., 1975.
9. *Тищенко Е.И., Карапетян А.Т., Борисова О.Ф.* Гетерогенные комплексы бромистого этидия и их роль в стабилизации $(dA)_n$-$(dT)_n$-структур. Мол. биология. *30*, с. 1370-1377, 1996.
10. *Borisova O.F., Golova Yu.B., Gottich B.P., Zibrov A.S., Il'icheva I.A., Lysov Ju.P., Mamayeva O.K., Chernov B.P., Chernyi A.A., Shchyolkina A.K., Floretiev V.L.* Parallel double-stranded helixes and the tertiary structure of nucleic acids. J. Biomol. Struct. Dyn., *8*, pp. 1187-1210. 1991.
11. *Chaires J.B.* Dissecting the free energy of drug binding to DNA. Anti-Cancer drug. Des., 11, pp. 569-580, 1996.
12. *Chaires J.B.* Energetics of drug-DNA interactions. Biopolymers, *44*, 201-215, 1998.
13. *Dalyan Y.B., Haroutiunian T.S., Haroutiunian S.G., Vardevanyan P.O.* Melting of Complexes of DNA-cis-DDP in Acidic Environment. Experimental and Molecular Medicine, *35*, pp. 534-537, 2003.
14. Doung T.H., Zakrzewska K. Influence of drug binding on DNA flexibility: A normal mode analyses. J.Biomol. Struct. Dyn., *14*, 6, p. 691-701, 1997.
15. *Ismail M.A., Rodger P.M., Rodger A.* Drug self-assembly on DNA: sequence effects with trans-bis-(4-N-methylpyridiniumyl)diphenyl porphyrin and Hoechst 33258 //*J. Biomol. Struct. Dyn. 11*. p. 335-348, 2000.
16. *Jenkins T.C., Lane A.N.* AT selectivity and DNA minor groove binding by bis(amidine) ligands: molecular modeling, NMR and structural studies of the interactions of propamidine and pentamidine with $d(CGCAAATTTGCG)_2$. Biochim. Biophys. Acta, *1350*, p. 189-204, 1997.
17. *Jenkins T.C., Neidle S., Brown D.G., Lane A.N.* NMR and molecular modelling studies of the interaction of berenil and pentamidine with $d(CGCAAATTTGCG)_2$. Eur. J. Biochem., *213*, p. 1175-1184, 1993.
18. *Karapetian A.T., Mehrabian N.M., Terzikian G.A., Vardevanian P.O., Antonian A.P., Borisova O.F., Frank-Kamenetskii M.D.* Theoretical treatment of Melting of Complexes of DNA With Ligands Having Several Types of Binding Sites on Helical and Single-stranded DNA. J. Biomol. Struct. Dyn., *14*, pp. 275-283, 1996.

19. *Karapetian A.T., Mehrabian N.M., Terzikian G.A., Antonian A.P., Vardevanian P.O., Frank-Kamenetskii M.D.* Theoretical and Experimental Study of Conformational Transitions of Complexes of DNA With Ligands Having Several Types of Binding Sites on Different Forms of DNA. Structure, Motion, Interaction and Expression of Biological Macromolecules. N.Y., Adenine press, pp. 259-265, 1998.
20. *Kakkar R, Grover S.R.* Theoretical study of molecular recognition by Hoechst 33258 Derivatives. J. Biomol. Struct. & Dynam., *23*, 1, p. 37-47, 2005.
21. *Lane A.N., Jenkins T.C.* Thermodynamics of nucleic acids and their interactions with ligands. Quart. Rev. Biophys., *33*, pp. 255-306, 2000.
22. *Marky L.A., Breslauer K.J.* Origins of netropsin binding affinity and specificity: correlations of thermodynamic and structural data. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *84*, pp. 4359-4363, 1987.
23. *Minasyan S.H., Tavadyan L.A., Antonyan A.P., Davtyan H.G., Parsadanyan M.A., Vardevanyan P.O.* Different Pulse Voltammetric Studies of Ethidium Bromide Binding to DNA. Bioelectrochemistry, *68*, p. 48-55, 2006.
24. *Monaco R.R.* A Novel Major Groove Binding Site in B form DNA for Ethidium Cation. J. Biomol. Struct. Dyn, *25*, 2, p. 119-125, 2007.
25. *Neidle S.* Crystallographic insights into DNA minor groove recognition by drugs. Biopolymers, *44*, pp. 105-121, 1997.
26. *Parkinson J.A., Barber J., Douglas K.T., Rosamond J., Sharples D.* Minor-Groove Recognition of the Self-Complementary Duplex d(CGCGAATTCGCG)$_2$ by Hoechst 33258: A High-Field NMR Study. Biochemistry, *29*, pp. 10181-10190, 1990.
27. *Parkinson J.A., Ebrahimi S.E., McKie J.H., Douglas K.T.* Molecular Design of DNA-Directed Ligands with Specific Interactions: Solution NMR Studies of the Interaction of a m-Hydroxy Analogue of Hoechst 33258 with d(CGCGAATTCGCG)$_2$. Biochemistry, *33*, pp. 8442-8452, 1994.
28. *Shchyolkina A.K., Timofeev E.N., Borisova O.F., Il'cheva I.A., Minyat E.E., Khomyakova E.B., Florentiev V.L.* The R-form of DNA does exist. FEBS Lett., *339*, pp. 113-118, 1994.
29. *Tang T.-C. and Huang H.-J.* Electrochemivcal Studies of the Intercalation of Ethidium Bromide to DNA, Electroanalysis, *11*, pp. 1185-1190, 1999.
30. *Vardevanian P.O., Antonian A.P., Manukyan G.A., Karapetian A.T.* Study of Ethidium Bromide Interaction Peculiarities With DNA. Experimental and Molecular Medicine, *33*, pp. 205-208, 2001.
31. *Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Davtyan H.G., Karapetyan A.T.* The Binding of ethidium bromide with DNA: Interaction with single- and double-stranded structures. Exp. and Mol. Medicine, *35*, 6, p. 527-533, 2003.
32. *Vardevanyan P.O, Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Pirumyan K.V., Muradyan A.M., Karapetian A.T.* Influence of ionic strength on Hoechst 33258 binding with DNA. J.Biomol. Struct. Dyn., *25*, 6, p. 641-646, 2008.
33. *Wadkins R.M., Jares-Erijman A.E., Klement R., Rudiger A., Jovin T.M.* Actinomicin D Binding to Single-stranded DNA: Sequence specificity and hemi-intercalation model from fluorescence and ^{1}H NMR spectroscopy. J. Mol. Biol., *262*, pp. 53-68, 1996.
34. *Zimmer Ch., Wahnert U.* Non-intercalating DNA-binding ligands: specifity of the interaction and their use as tools in biophysical, biochemical and biological investigations of the genetic material. In Prog. Biophys. Mol. Biol., *47*, p.31-112, 1986.

Поступила 04.06.2010.