

Е. Б. Морошкина, Д. Н. Осинникова, В. И. Травкина

ВЛИЯНИЕ ИОННОЙ СИЛЫ СРЕДЫ И ПРИРОДЫ ПРОТИВОИОНОВ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МОЛЕКУЛЫ ДНК С ПРОИЗВОДНЫМИ АКТИНОЦИНА И ИЗОХИНОЛИНА*

Санкт-Петербургский государственный университет,
Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

Взаимодействие молекулы ДНК с рядом производных актиноцина и изохинолина изучалось спектральными, калориметрическими и гидродинамическими методами в условиях разной ионной силы среды (μ). Все исследованные соединения образуют обратимые равновесные комплексы с молекулой ДНК. При $\mu = 0,1$ плоские гетероциклические хромофоры соединяются либо интеркалируют в двойную спираль ДНК, либо располагаются в одной из бороздок в зависимости от длины алкильной цепочки, соединяющей хромофор с протонированными группами производных актиноцина. С уменьшением ионной силы наблюдается увеличение сродства всех исследованных соединений к ДНК. К интеркаляционному связыванию добавляется вторичное связывание лиганда, приводящее к образованию интеркалирующих димеров. Производные актиноцина и изохинолина, не интеркалирующие в условиях большой ионной силы, при её уменьшении до 0,001 изменяли способ связывания и вели себя как интеркаляторы, вызывая увеличение контурной длины макромолекулы. Библиогр. 21 назв. Ил. 5. Табл. 3.

Ключевые слова: взаимодействие, ДНК, производные изохинолина, производные актиноцина, калориметрия, спектрофотометрия, вискозиметрия, интеркаляция.

E. B. Moroshkina, D. N. Osinnikova, V. I. Travkina

THE INFLUENCE OF THE IONIC STRENGTH OF THE MEDIUM AND THE NATURE OF COUNTERIONS ON THE INTERACTION OF DNA MOLECULE WITH DERIVATIVES OF ACTINOCIN AND ISOQUINOLINE

St. Petersburg State University,
7–9, Universitetskaya nab., St. Petersburg, 199034, Russian Federation

In this work the interaction of the DNA molecule with derivatives of actinocin and isoquinoline was studied by spectral, calorimetric and hydrodynamic methods under different ionic strength of the medium. All investigated compounds formed reversible equilibrium complexes with the DNA molecule. When $\mu = 0.1$, the flat heterocyclic chromophores of the compounds either intercalated in the DNA double helix or located in one of the grooves, depending on the length of the alkyl chain linking the chromophore with protonated groups of actinocin derivatives. With the decrease of ionic strength there was an increase in affinity of all investigated compounds to DNA and second mode of interaction, leading to the formation of intercalated dimers, added to the intercalation binding. Not intercalating ligands (in a high ionic strength) changed the mode of binding and behaved like intercalators, causing an increase in contour length of the macromolecule, while the ionic strength decreased to 0.001. Refs 21. Figs 5. Tables 3.

Keywords: interaction, DNA, isoquinoline derivatives, actinocin derivatives, calorimetry, spectrophotometry, viscometry, intercalation.

* По материалам IV конференции «Современные проблемы молекулярной биофизики», посвящённой 50-летию специализации «Молекулярная биофизика» на физическом факультете и 105-летию со дня рождения профессора Э. В. Фрисман, 14–15 июня 2016 г., СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, URL: <http://molbioph.niif.spbu.ru/conference>.

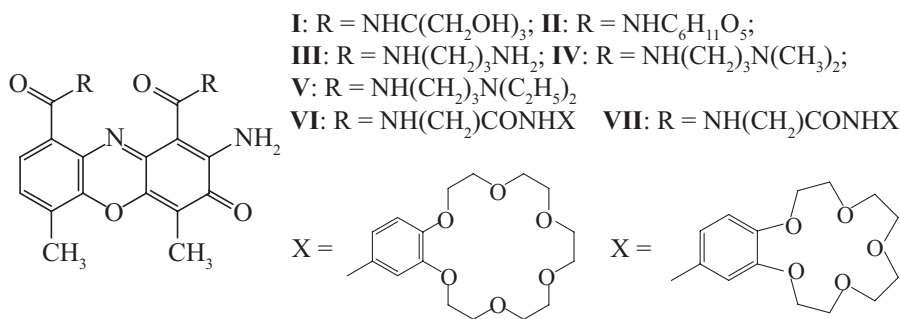
© Санкт-Петербургский государственный университет, 2016

Введение. Известно, что нуклеиновые кислоты являются линейными полиэлектролитами, поскольку в широкой области pH их фосфатные группы имеют отрицательный заряд. В связи с этим при исследовании гидродинамическими методами конформации и размеров молекул нуклеиновых кислот, а также их комплексов с различными биологически активными веществами в растворе следует в первую очередь учитывать такую характеристику среды, как ионная сила μ , которая определяется концентрацией противоионов и влияет на размеры и форму макромолекулярного клубка.

Согласно теории [1] характеристическая вязкость гибких полиионов пропорциональна $1/\sqrt{\mu}$. Именно такая зависимость наблюдается для денатурированных, т. е. лишённых вторичной спиральной структуры, молекул ДНК и РНК [2]. Аналогичная зависимость наблюдается и для двуспиральной ДНК, но в ограниченной области ионных сил [3]. В случае нативной РНК зависимость имеет S-образный вид [2] и свидетельствует об изменении не только объёма, но и формы макромолекулы при уменьшении ионной силы среды. В случае нативной ДНК отклонение от прямолинейности начинается при ионной силе менее 0,002 [4]. Исследования зависимости оптической анизотропии термодинамического сегмента макромолекулы от ионной силы среды [4] показали, что отклонение обусловлено изменениями в термодинамической жёсткости макромолекулы. Отклонения от прямолинейности наблюдались также при аналогичных исследованиях дезоксирибонуклеопротеинов [5], что послужило одним из косвенных доказательств наличия третичной суперспиральной структуры у ДНК в этих комплексах.

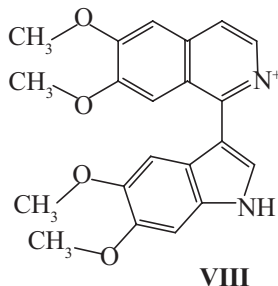
Таким образом, изучение зависимости от ионной силы гидродинамических и оптических параметров молекулы нуклеиновой кислоты является инструментом для обнаружения изменений в структуре ДНК в процессе её взаимодействия с различными биологически активными соединениями.

В настоящей статье представлены результаты исследования взаимодействия молекулы ДНК с рядом производных актиноцина и изохинолина, являющихся аналогами биологически активных соединений, в растворе при разных значениях ионной силы.



Экспериментальная часть. Использовали ДНК из тимуса телёнка фирмы «Sigma» (США) молекулярной массы $M = 10^7$ Да. Концентрацию ДНК в растворе определяли спектрофотометрически по методу, описанному в работе [6]. Производные актиноцина, аналоги противоопухолевого антибиотика актиномицина D (соединения **I–VII**), были синтезированы в Технологическом институте [7]. Производное изохинолина (соединение **VIII**), аналога биологически активного алкалоида папаверина, было синтезировано в НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека [8] и любезно предоставлено Д. В. Криворотовым. В качестве растворителя использовали водные растворы NaCl и KCl различной ионной силы, pH = 6,0 ÷ 6,5. Комплексы готовили прямым смешением

растворов ДНК и соединений соответствующих концентраций. Плохо растворимые в воде краунсодержащие производные актиноцина предварительно растворяли в этиловом спирте [9].



Стехиометрию комплексов, определяемую как количество связанного лиганда, приходящегося на пару азотистых оснований ДНК (r), получали из данных спектрофотометрического титрования (СФТ), используя модель с исключёнными местами связывания [10]. Спектры поглощения растворов регистрировали на спектрофотометре «Specord UV-Vis» и «Shimadzu UV-1800», а спектры кругового дихроизма — на дихрографе MarkV.

Энтальпию взаимодействия и термодинамические параметры связывания производного изохинолина определяли также методом изотермического калориметрического титрования (ИКТ) на микрокалориметре TA Instruments Nano ITC 2G ресурсного центра СПбГУ «Термогравиметрические и калориметрические методы исследования» [11]. Расчёт термодинамических параметров связывания в этом случае проводился с использованием модели с независимыми местами связывания [12].

Определение структуры комплекса и способа связывания соединений с ДНК проводили с помощью методов вискозиметрии и ДЛП на основании анализа изменений $[\eta]$ и оптической анизотропии макромолекулы ($\alpha_1 - \alpha_2$) при образовании комплекса по методу, описанному ранее [13, 14]. Для определения $[\eta]$ проводили измерение зависимости относительной вязкости растворов η от $C_{\text{ДНК}}$ в растворе с помощью магнитного ротационного вискозиметра [15]:

$$[\eta] = \lim_{\substack{g \rightarrow 0 \\ C_{\text{ДНК}} \rightarrow 0}} \frac{\eta - 1}{C_{\text{ДНК}}},$$

где g — градиент скорости.

Для определения изменения величины ($\alpha_1 - \alpha_2$) при образовании комплекса использовали соотношение Петерлина [16], пропорциональное оптической анизотропии статистического сегмента макромолекулы:

$$\frac{\Delta n}{g(\eta - \eta_0)} \sim \alpha_1 - \alpha_2,$$

где Δn — величина двойного лучепреломления; η_0 — вязкость растворителя.

Величину Δn измеряли в титановом динамооптиметре с помощью экспериментальной оптической установки со слюдяным полутеневым компенсатором [17].

Результаты и их обсуждение. Результаты определения термодинамических параметров связывания исследованных соединений с ДНК представлены в табл. 1.

Термодинамические параметры связывания

Соединение	μ	$K_{св.} \cdot 10^{-5}, M^{-1}$	n
I	0,1	$0,35 \pm 0,03$	0,07
	0,001	$1,0 \pm 0,1$	0,2
II	0,1	$0,40 \pm 0,05$	0,08
	0,001	$0,80 \pm 0,06$	0,1
III	0,1	$5,5 \pm 0,5$	0,40
	0,001	> 100	0,4
IV	0,1	$5,5 \pm 0,5$	0,40
	0,001	> 100	0,5
V	0,1	$5,5 \pm 0,5$	0,40
	0,001	> 100	0,5
VIII	0,1	$0,10 \pm 0,02$	0,11
	0,001	1300 ± 200	0,4

Поскольку многие лиганды в условиях нейтральных pH оказываются протонированными, то естественно ожидать значительного увеличения сродства этих соединений к ДНК, т. е. константы связывания. Действительно, в ряду производных актиноцина, в амидных группах которых содержатся протонированные диалкиламино-группировки (соед. III–V), при уменьшении ионной силы раствора на два порядка константа связывания этих соединений увеличивается более чем на два порядка. В последнем случае методом СФТ она не определяется, и можно указать только нижнюю границу этой величины. Похожий эффект наблюдается и для других протонированных лигандов. У производного изохинолина (соед. VIII) константа связывания возрастает на четыре порядка в том же диапазоне ионных сил. В этом случае константа связывания при 0,001 была измерена методом ИКТ.

Неожиданным оказалось, что заметное возрастание константы связывания наблюдается и в случае непротонированных лигандов (соед. I, II). Константа связывания этих соединений с ДНК увеличивается в несколько раз при уменьшении μ в том же диапазоне. Можно предположить, что при значительном набухании макромолекулярного клубка при увеличении термодинамической жёсткости макромолекулы места связывания на двойной спирали ДНК становятся более доступными.

Наряду с увеличением константы связывания у соединений, обладающих плоским гетероциклическим хромофором и положительным зарядом, наблюдается появление вторичного связывания, которое приводит к образованию связанных димеров. Появление димеров прежде всего сказывается на спектральных характеристиках лиганда. Кривые СФТ приобретают характерный вид с двумя изобестическими точками (рис. 1). Благодаря высокому сродству протонированного лиганда в этой области μ свободный лиганд появляется в системе только тогда, когда все места связывания заняты. Это приводит к появлению второй изобестической точки в области соотношений лиганд/ДНК, соответствующей переходу от мономерного к димерному связыванию. Параллельно наблюдается изменение в спектрах индуцированного кругового дихроизма (ИКД) (рис. 2, 3). При появлении связанных димеров при $r > 0,5$ возникает бифазный спектр ИКД экситонного вида, свидетельствующий о сильном взаимодействии молекул лиганда на поверхности ДНК. А с появлением димерного связывания значительные изменения наблюдаются и в термограммах изотермического калориметрического титрования (ИКТ). Термограммы производных изохинолина, связывание которых

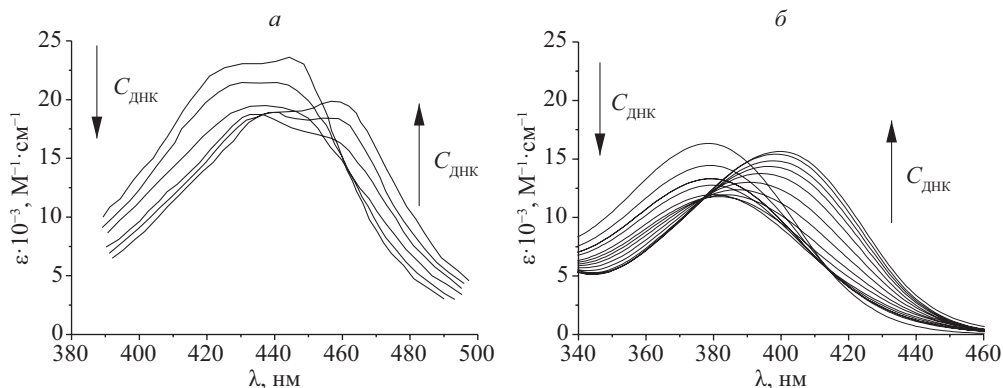


Рис. 1. СФТ при $\mu = 0,001$:

a — **IV**, $C_{\text{лиг.}} = 10^{-5}\text{M}$, $C_{\text{ДНК}} = 0 \div 10^{-3}\text{M}$; *б* — **VIII**, $C_{\text{лиг.}} = 4,2 \cdot 10^{-5}\text{M}$, $C_{\text{ДНК}} = 0 \div 4,6 \cdot 10^{-4}\text{M}$

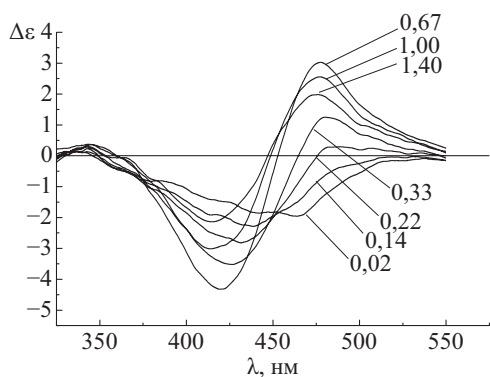


Рис. 2. СПТ при $\mu = 0,001$ для **IV**:

$C_{\text{лиг.}} = 10^{-5}\text{M}$, $C_{\text{ДНК}} = 0 \div 10^{-3}\text{M}$, цифры у кривых — r

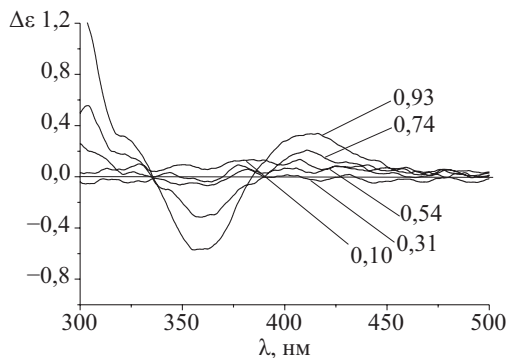


Рис. 3. СПТ при $\mu = 0,001$ для **VIII**:

$C_{\text{лиг.}} = 0 \div 2 \cdot 10^{-5}\text{M}$, $C_{\text{ДНК}} = 2 \cdot 10^{-5}\text{M}$, цифры у кривых — r

происходит только мономерным способом, демонстрируют монотонное изменение количества тепла, выделяющегося в процессе ИКТ [18]. При наличии вторичного связывания термограмма имеет более сложный вид (рис. 4, кривая 1). Появление вторичного способа связывания с образованием димеров приводит к резкому увеличению выделяемой теплоты.

Спектральные и калориметрические методы позволяют различать мономерное и димерное связывание, но не позволяют сделать определённые выводы о способе связывания лиганда с двойной спиралью ДНК. Структуру комплекса и способ связывания

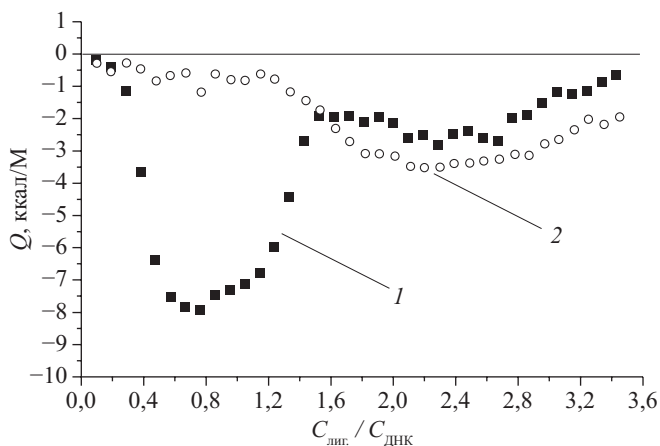


Рис. 4. СКТ VIII при $\mu = 0,001$ (кривая 1) и $\mu = 0,003$ (кривая 2)

можно определить, только исследовав изменения в оптических и гидродинамических характеристиках макромолекулы. На рис. 5 приведены различные варианты изменения характеристической вязкости и оптической анизотропии ДНК при её взаимодействии с различными соединениями.

Увеличение характеристической вязкости может происходить в результате увеличения контурной длины и/или термодинамической жёсткости, а увеличение оптической анизотропии — в результате увеличения термодинамической жёсткости и/или средней анизотропии мономерного звена.

Параллельное исследование обоих параметров позволяет сопоставить эти зависимости с различными типами связывания. Впервые это было сделано при исследовании

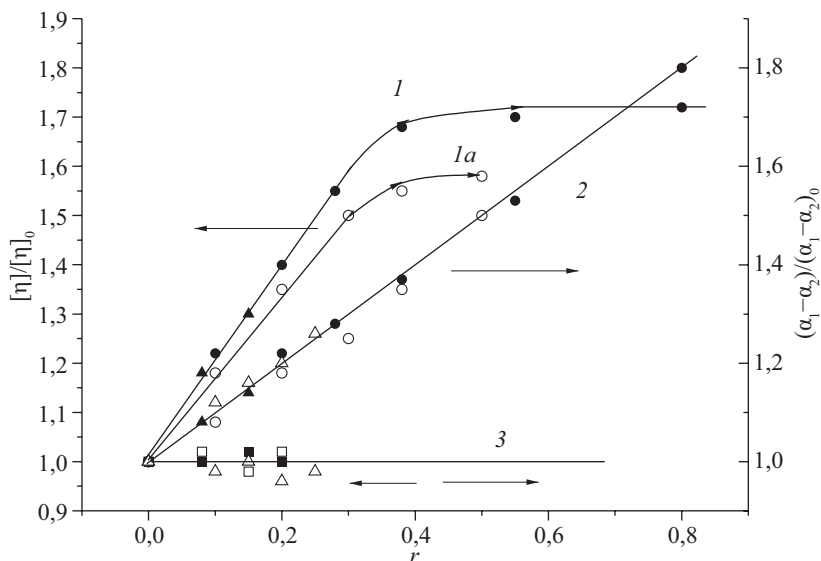


Рис. 5. Зависимости $[\eta]$ и $(\alpha_1 - \alpha_2)$ от r для разных типов связывания лигандов с ДНК: кривые 1, 2 — интеркаляция, 1а-3 — неполная интеркаляция, 3 — бороздочное связывание

классических интеркаляторов акридинового ряда в работе [13]. Классическая интеркаляция соответствует зависимостям 1 и 2 — параллельный рост характеристической вязкости и оптической анизотропии, вызванный возрастанием контурной длины и термодинамической жёсткости. В некоторых случаях возрастание характеристической вязкости не столь значительно. При этом отсутствуют изменения в оптической анизотропии макромолекулы, т. е. наблюдается сочетание зависимостей 1а–3. Достаточно условно такой тип связывания можно назвать используемым в литературе термином «частичная интеркаляция» или интеркаляция без изменения термодинамической жёсткости. Классическое бороздочное связывание не вызывает изменений в гидродинамических и оптических параметрах ДНК — зависимости 3. В области вторичного димерного связывания ($r > 0,5$) изменение характеристической вязкости отсутствует, а оптическая анизотропия возрастает пропорционально количеству связанного лиганда в результате увеличения средней анизотропии мономерного звена. Использование этого подхода для характеристики способа связывания лиганда в некоторых случаях позволило нам обнаружить изменение способа связывания лиганда при изменении ионной силы раствора. Такое поведение наблюдалось в случае комплексов ДНК с феносафранином [19] и метиленовым синим [20]. Интеркаляция этих соединений имела место только в условиях малой ионной силы. При увеличении μ интеркаляционный тип связывания переходит в бороздочный. Аналогичное изменение способа связывания лиганда при изменении ионной силы раствора наблюдается в случае комплексов ДНК с соединением VIII. Гидродинамические и оптические характеристики растворов ДНК и её комплексов с производным изохинолина при различных ионных силах среды приведены в табл. 2.

Таблица 2

Гидродинамические и оптические параметры комплекса ДНК с соединением VIII при $r = 0,2$

μ	$[\eta]_{\text{компл.}}/[\eta]_{\text{ДНК}}$	$(\alpha_1 - \alpha_2)_{\text{компл.}}/(\alpha_1 - \alpha_2)_{\text{ДНК}}$	Тип связывания
0,001	$1,3 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$	Интеркаляция
0,003	$0,8 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$	Бороздочное

При $\mu = 0,001$ изменение характеристической вязкости и оптической анизотропии комплекса соответствует зависимостям 1а–3, т. е. имеет место частичная интеркаляция лиганда в двойную спираль ДНК. Но уже при $\mu = 0,003$ изменения в характеристической вязкости при изменении количества связанного лиганда отсутствуют, что позволяет предположить бороздочное связывание.

На изменение способа связывания указывает различие в результатах ИКТ. При $\mu = 0,003$ (см. рис. 4, кривая 2) в большом диапазоне значений r связывание лиганда не вызывает заметного выделения тепла, что свидетельствует о незначительной энтальпии связывания. Следовательно, в этих условиях связывание носит в основном энтропийный характер, что соответствует бороздочному связыванию.

Зависимость параметров и способа связывания с ДНК от ионных условий среды наблюдается также у производных актиноцина, содержащих в амидных группах краунгруппировки (соед. VI, VII). В этом случае важную роль играет природа противоиона. Использовались два вида противоионов — Na^+ и K^+ . Результаты определения параметров и способа связывания при $\mu = 0,001$ приведены в табл. 3.

Замена ионов Na^+ на ионы K^+ приводит к значительному увеличению константы связывания. При этом бороздочный тип связывания переходит в интеркаляционный. Эти изменения аналогичны наблюдаемым при уменьшении ионной силы среды

для некоторых лигандов. Можно предположить, что ионы калия менее эффективно экранируют фосфатные группы ДНК. И в этих условиях доступнее становятся интеркаляционные сайты. Однако в случае краунсодержащих лигандов причиной различия в способе связывания может служить и изменение конформации лиганда в присутствии противоионов различного размера. Ионы K^+ в отличие от ионов Na^+ ассоциируются краунгруппировками как 1 : 2, образуя внутримолекулярный «сэндвич» [21]. Хромофор при этом может частично интеркалировать в двойную спираль ДНК. При ассоциации ионов Na^+ , меньших по размеру, образуются комплексы 1 : 1. В результате их электростатического расталкивания краунгруппировки могут оказаться по разные стороны хромофора, что приводит к образованию конформации лиганда, неспособной стерически к интеркаляции.

Таблица 3

Термодинамические параметры и способ связывания краунсодержащих производных актиноцина при $\mu = 0,001$

Соединение	NaCl			KCl		
	$K_{св.} \cdot 10^{-5}, M^{-1}$	n	Тип связывания	$K_{св.} \cdot 10^{-5}, M^{-1}$	n	Тип связывания
VI	$8,2 \pm 0,1$	0,4	Бороздочное	> 100	0,4	Интеркаляция
VII	$5,5 \pm 0,1$	0,1	Бороздочное	13 ± 1	0,3	Интеркаляция

Выводы. Зависимость взаимодействия ДНК с различными биологически активными соединениями не сводится к простому увеличению ионных взаимодействий при уменьшении ионной силы среды.

Определённую роль в связывании лигандов с ДНК играет зависимость конформации ДНК от ионной силы среды, а также способность лиганда менять свое состояние в присутствии разной концентрации и состава противоионов.

Часть исследований была выполнена с использованием оборудования ресурсного центра «Термогравиметрические и калориметрические методы исследования» Санкт-Петербургского государственного университета.

Литература

1. Ельяшевич А. М., Птицын О. Б. К теории конфигурационных свойств молекул полиэлектролитов // Докл. АН. СССР. 1964. Т. 156. С. 1154–1155.
2. Фрисман Э. В., Дьякова Е. Б., Шагина Л. В., Рихтер Д. Влияние ионной силы и температуры на конформацию молекул рибосомальной РНК из *E. coli* // Мол. биология. 1971. Т. 5. С. 690–696.
3. Ross P. D., Scruggs R. L. Viscosity study of DNA. II. The effect of simple salt concentration on the viscosity of high molecular weight DNA and application of viscometry to the study of DNA isolated from T4 and T5 bacteriophage mutants // Biopolymers. 1968. Vol. 6. P. 1005–1018.
4. Фрисман Э. В., Дьякова Е. Б., Воробьев В. И. и др. Сравнительное изучение конформации свободной ДНК и комплексированной с гистоном F1 в растворах разной ионной силы // Мол. биология. 1973. Т. 7. С. 111–119.
5. Frisman E. V., Sibileva M. A., D'yakova E. B. et al. Studies of deoxyribonucleoproteins progressively depleted of proteins in solutions of various ionic strengths // Biopolymers. 1974. Vol. 13. P. 863–877.
6. Спирин А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот // Биохимия. 1958. Т. 23. С. 656–662.
7. Глибин Е. Н., Цукерман Б. В., Коршунова З. И., Гинзбург О. Ф. Актиноцил-бис-(8-диметиламинотил)-амин и его дисаминнокислая соль // Журн. орган. химии. 1980. Т. 16. С. 1105–1106.

8. Криворотов Д. В., Морозкина Е. Б., Леонтьева Т. В. Папаверин в синтезе новых лигандов ДНК // Труды VI Московского международного конгресса «Биотехнология: перспективы развития». М., 2011. Ч. 1. С. 70–71.
9. Moroshkina E. B., Kvachadze E. A., Ovchinnikov D. V., Glibin E. N. Effect of the crown group size on the interaction of crown-containing actinocin derivatives with DNA in solution in the presence of Na⁺ or K⁺ ions // *Rus. J. Phys. Chem.* 2005. Vol. 79, suppl. 1. P. S54–S59.
10. McGhee J. D., von Hippel P. H. Theoretical aspects of DNA-protein interactions: co-operative and non-co-operative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice // *J. Mol. Biol.* 1974. Vol. 86. P. 469–489.
11. Velázquez-Campoy A., Ohtaka H., Nezami A. et al. Isothermal titration calorimetry // *Current protocols in cell biology*. 2004. P. 17.8.1–17.8.24.
12. Bvurta N. J., Haq I. Advances in the analysis of isothermal titration calorimetry data for ligand-DNA interactions // *Methods*. 2007. Vol. 42, N 2. P. 162–172.
13. Морозкина Е. Б., Шишов А. К., Кривоцова М. А. и др. Исследование влияния акридиновых красителей на молекулярную структуру ДНК // *Мол. биология*. 1975. Т. 9. С. 836–844.
14. Веселков А. Н., Морозкина Е. Б., Соболева О. И., Фрисман Э. В. Сравнительное исследование взаимодействия ДНК с дауномицином и профлавином в растворе // *Мол. биология*. 1984. Т. 18. С. 481–487.
15. Frisman E. V., Schagina L. V., Vorobiev V. I. A glass rotation viscometer // *Biorheology*. 1965. Vol. 2. P. 189–194.
16. Peterlin A. Viscosity and streaming birefringence in the nonlinear concentration range of macromolecular solutions // *J. Polymer Sci.* 1954. Vol. 12, N 1. P. 45–51.
17. Фрисман Э. В., Цветков В. Н. Динамическое двойное лучепреломление и геометрические размеры макромолекул в растворе // *Журн. эксп. теор. физики*. 1952. Т. 23. С. 690–702.
18. Морозкина Е. Б., Осипникова Д. Н., Травкина В. И. Термодинамика взаимодействия и структура комплексов молекулы ДНК с производными изохинолина, содержащими индольный заместитель // *Вестн. С.-Петербург. ун-та. Сер. 4. Физика. Химия*. 2015. Т. 2 (60), вып. 4. С. 342–351.
19. Морозкина Е. Б., Сафьяникова М. Г. Взаимодействие ДНК с соединениями феназинового ряда // *Биофизика*. 1999. Т. 44. С. 425–429.
20. Tuite E., Norden B. Sequence-specific interactions of methylene blue with polynucleotides and DNA: A spectroscopic study // *J. Am. Chem. Soc.* 1994. Vol. 116. P. 7548–7556.
21. Kimura K., Shono T. Complexation of cationic species by crown ethers // *Cation binding by macrocycles* / eds. Y. Inoue, G. W. Gokel. New York: Marcel Dekker, 1990. P. 429–463.

References

1. El'iashevich A. M., Ptitsyn O. B. К теории конфигурационных свойств молекул полиэлектролитов [To the theory of configuration properties of molecules of polyelectrolytes]. *Dokl. AN SSSR.*, 1964, vol. 156, pp. 1154–1155. (In Russian)
2. Frisman E. V., D'iakova E. B., Shchagina L. V., Rikhter D. Vliianie ionnoi sily i temperatury na konformatsiiu molekul ribosomal'noi RNK iz *E. coli* [Influence of ionic force and temperatures on conformation of molecules of ribosomal RNA of *E. coli*]. *Molek. biologiya [Mol. Biol.]*, 1971, vol. 5, pp. 690–696. (In Russian)
3. Ross P. D., Scuggs R. L. Viscosity study of DNA. II. The effect of simple salt concentration on the viscosity of high molecular weight DNA and application of viscometry to the study of DNA isolated from T4 and T5 bacteriophage mutants. *Biopolymers*, 1968, vol. 6, pp. 1005–1018.
4. Frisman E. V., D'iakova E. B., Vorob'ev V. I. et al. Sravnitel'noe izuchenie konformatsii svobodnoi DNK i kompleksirovannoi s gistonom F1 v rastvorakh raznoi ionnoi sily [Comparative studying of conformation of free DNA and DNA complexed with histone F1 in solutions of different ionic force]. *Molek. biologiya [Mol. Biol.]*, 1973, vol. 7, pp. 111–119. (In Russian)
5. Frisman E. V., Sibileva M. A., D'iakova E. B. et al. Studies of deoxyribonucleoproteins progressively depleted of proteins in solutions of various ionic strengths. *Biopolymers*, 1974, vol. 13, pp. 863–877.
6. Spirin A. S. Spektrofotometricheskoe opredelenie summarnogo kolichestva nukleinovykh kislot [Spectrophotometric determination of total amount of nucleic acids]. *Biokhimiya [Biochemistry]*, 1958, vol. 23, pp. 656–662. (In Russian)
7. Glibin E. H., Tsukerman B. V., Korshunova Z. I., Ginzburg O. F. Aktinotsil-bis-(8-dimetilaminoetil)-amin i ego disaminokislaia sol' [Aktinotsil-bis-(8-dimethylaminoethyl)-amine and its disamino acid salt]. *Zhurn. organ. khimii. [Rus. J. Organ. Chem.]*, 1980, vol. 16, pp. 1105–1106. (In Russian)
8. Krivorotov D. V., Moroshkina E. B., Leont'eva T. V. Papaverin v sinteze novykh ligandov DNK [Papaverine in synthesis of new ligands of DNA]. *Trudy VI Moskovskogo mezhdunarodnogo kongressa*

“*Biotekhnologiya: perspektivy razvitiia*” [Proc. VI Moscow int. congress “Biotechnology: prospects of development”]. Moscow, 2011, part 1, pp. 70–71. (In Russian)

9. Moroshkina E. B., Kvachadze E. A., Ovchinnikov D. V., Glibin E. N. Effect of the crown group size on the interaction of crown-containing actinocin derivatives with DNA in solution in the presence of Na⁺ or K⁺ ions. *Rus. J. Phys. Chem.*, 2005, vol. 79, suppl. 1, pp. S54–S59.

10. McGhee J. D., von Hippel P. H. Theoretical aspects of DNA-protein interactions: co-operative and non-co-operative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *J. Mol. Biol.*, 1974, vol. 86, pp. 469–489.

11. Velázquez-Campoy A., Ohtaka H., Nezami A. et al. Isothermal titration calorimetry. *Current protocols in cell biology*, 2004, pp. 17.8.1–17.8.24.

12. Buurma N. J., Haq I. Advances in the analysis of isothermal titration calorimetry data for ligand-DNA interactions. *Methods*, 2007, vol. 42, no. 2, pp. 162–172.

13. Moroshkina E. B., Shishov A. K., Krivtsova M. A. et al. Issledovanie vliianiia akridinovykh krasitelei na molekuliarnuiu strukturu DNK [Influence research of the akridine dyes on molecular structure of DNA]. *Molek. biologiya* [*Mol. Biol.*], 1975, vol. 9, pp. 836–844. (In Russian)

14. Veselkov A. N., Moroshkina E. B., Soboleva O. I., Frisman E. V. Sravnitel'noe issledovanie vzaimodeistviia DNK s daunomitsinom i proflavinom v rastvore [Comparative research of interaction of DNA with daunomitsiny and proflaviny in solution]. *Molek. biologiya* [*Mol. Biol.*], 1984, vol. 18, pp. 481–487. (In Russian)

15. Frisman E. V., Schagina L. V., Vorobiev V. I. A glass rotation viscometer. *Biorheology*, 1965, vol. 2, pp. 189–194.

16. Peterlin A. Viscosity and streaming birefringence in the nonlinear concentration range of macromolecular solutions. *J. Polymer Sci.*, 1954, vol. 12, no. 1, pp. 45–51.

17. Frisman E. V., Tsvetkov V. N. Dinamicheskoe dvoinoe lucheprelomlenie i geometricheskie razmery makromolekul v rastvore [Dynamic birefringence and the geometrical dimensions of the macromolecules in solution]. *Zhurn. eksp. teor. fiziki*, 1952, vol. 23, pp. 690–702. (In Russian)

18. Moroshkina E. B., Osinnikova D. N., Travkina V. I. Termodinamika vzaimodeistviia i struktura kompleksov molekuly DNK s proizvodnymi izokhinolina, sodержashchimi indol'nyi zamestitel' [Thermodynamics of interaction and the structure of the DNA molecule complexes with isoquinoline derivatives containing indole substitute]. *Vestnik St. Petersburg University. Series 4. Physics. Chemistry*, 2015, vol. 2 (60), iss. 4, pp. 342–351. (In Russian)

19. Moroshkina E. B., Saf'iannikova M. G. Vzaimodeistvie DNK s soedineniiami fenazinovogo riada [Interaction of DNA with compounds of a fenazinic series]. *Biofizika* [*Biophysics*], 1999, vol. 44, pp. 425–429. (In Russian)

20. Tuite E., Norden B. Sequence-specific interactions of methylene blue with polynucleotides and DNA: A spectroscopic study. *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, vol. 116, pp. 7548–7556.

21. Kimura K., Shono T. Complexation of cationic species by crown ethers. *Cation binding by macrocycles*. Eds Y. Inoue, G. W. Gokel. New York, Marcel Dekker, 1990, pp. 429–463.

Статья поступила в редакцию 30 июня 2016 г.

Контактная информация

Морошкина Евгения Борисовна — кандидат физико-математических наук, доцент;
e-mail: evmorosh@mail.ru

Осинникова Дарья Николаевна — ассистент; e-mail: osinnikovadasha@yandex.ru
Травкина Вероника Игоревна — аспирантка; e-mail: travkinaveronika@gmail.com

Moroshkina Evgenia — PhD, Associate Professor; e-mail: evmorosh@mail.ru
Osinnikova Daria — Assistant Professor; e-mail: osinnikovadasha@yandex.ru
Travkina Veronika — post graduate; e-mail: travkinaveronika@gmail.com