

Исследование взаимодействия производных феназина с ДНК методом поляризованной флюоресценции

Ю. П. Благой, В. Н. Зозуля, И. М. Волошин, В. Л. Макитрук¹,
А. С. Шаламай¹, А. С. Щербакова

Физико-технический институт низких температур им. Б. И. Веркина НАН Украины,
310164, Харьков, ул. Академика Проскуры, 19

¹ Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины,
252143, Киев, ул. Академика Заболотного, 150

Методами поляризованной флюоресценции и абсорбционной спектроскопии изучено взаимодействие с ДНК шести производных феназина, относящихся к гликозидам и четвертичным солям. Исследованы спектрально-флюоресцентные свойства свободных красителей и их комплексов с ДНК. Показано, что основным типом связывания феназинов с нейтральной формой хромофора является интеркаляция молекул красителя между плоскостями оснований двойной спирали ДНК. Для катионных красителей помимо интеркаляционного механизма существенный вклад в комплексобразование вносит кооперативное электростатическое взаимодействие с фосфатными группами, проявляющееся за счет сильных гидрофобных эффектов как при низкой ($\mu = 0,002$), так и умеренной ($\mu = 0,1$) ионных силах. При анализе процесса связывания использовали уравнения МакГи и ван Хиппела, модифицированные для учета энергии кулоновского отталкивания между адсорбированными молекулами красителя. Подобная модификация позволяет с хорошей точностью описать экспериментальные изотермы связывания.

Введение. Феназиновые производные относятся к классу соединений, взаимодействующих с нуклеиновыми кислотами путем интеркаляции. Было показано [1—5], что интеркалирующие полициклические гетероциклы, будучи ковалентно присоединенными к антисмысловым олигонуклеотидам, существенно увеличивают эффективность комплементарно адресованной гибридизации. Особенностью феназиновых производных является относительная простота химии их присоединения к нуклеотидным последовательностям, что обуславливает перспективность их использования для модификации антисмысловых олигонуклеотидов. Для выяснения влияния молекулы присоединенного гетероцикла на формирование дуплекса необходимо располагать данными об особенностях и силах взаимодействия данного лиганда с нуклеиновыми кислотами. В настоящей работе мы провели исследова-

ние связывания с ДНК шести производных феназина (рис. 1), относящихся к двум классам соединений: гликозидам и четвертичным солям. Способ встраивания этих соединений в олигонуклеотидную последовательность различен: первые встраиваются, замещая какое-либо основание, а вторые ковалентно присоединяются к фосфатной группе через полиметиленовую цепь [2]. Целью работы являлось изучение влияния эффектов гидрофобных заместителей и заряда хромофора на механизм связывания феназинов с ДНК. Исследования проведены с использованием методов поляризованной флюоресценции и абсорбционной спектроскопии.

Материалы и методы. Шесть производных феназина: N1- β -D-рибофуранозид имидазо(4, 5-d)-феназина (F1), N1- β -D-рибофуранозид 2-метилимидазо(4, 5-d)-феназина (F2), N5-этил- β -пирилодино(4, 5-d)-феназиния перхлорат (F3), 3-(1-про-

лил)-N5-этил-феназиния перхлорат (F4), 3-(1-аланил)-N5-этил-феназиния гидросульфат (F5), 3-(4-окси-*n*-бутиламино)-N5-этил-феназиния этилсульфат (F6) (рис. 1) синтезированы в Институте молекулярной биологии и генетики НАН Украины. Гликозидные феназины получены конденсацией силилированного гетероцикла с перацилрибофуранозой в присутствии соответствующих катализаторов, а четвертичные соли феназинов синтезированы методом окислительного аминирования [6].

Использовали натриевую соль высокополимерной ДНК из эритроцитов цыплят фирмы «Reanal» (Венгрия). Растворителем служил 1 мМ Na-какодилатный буфер, рН 7, содержащий 0,5 мМ Na₂EDTA в деионизованной дистиллированной воде. Исследования проводили в растворах при низкой и умеренной ионных силах, а именно: $\mu = 0,002$ (буфер) и $\mu = 0,1$ (буфер с добавлением NaCl).

Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре SPECORD UV VIS (Јена, ФРГ). Интенсивность и поляризацию флуоресценции измеряли на лабораторном спектрофлуориметре с регистрацией по методу счета фотонов. Установка и методика измерений описаны ранее [7].

Все измерения проводили в кварцевых кюветах при температуре 24 ± 2 °С. Раствор красителя титровали ДНК, поддерживая постоянной концентрацию феназина $C = 20$ мкМ.

Результаты и обсуждение. Спектры поглощения и флуоресценции свободных феназинов в водных растворах показаны на рис. 2. Производные

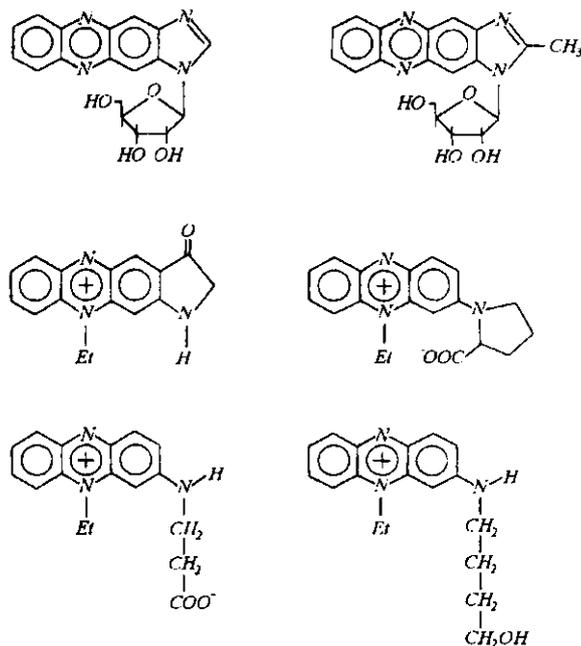


Рис. 1. Молекулярная структура производных феназина

Таблица 1
Оптические свойства производных феназина и их комплексов с ДНК

Система	Поглощение		Флуоресценция		
	λ_{max} , нм	ϵ_{max} , М ⁻¹ см ⁻¹	λ_{max} , нм	I/I ₀	ρ
F1	384	22400	543	1	0,004
F1-ДНК	389	14300	539	0,08	0,035
F2	387	23300	546	1	0,003
F2-ДНК	391	16310	542	0,08	—
F3	517	15200	617	1	0,095
F3-ДНК	531	10868	613	0,12	0,44
F4	545	16200	630	1	0,09
F4-ДНК	550	15066	626	0,12	0,42
F5	520	15009	615	1	0,08
F5-ДНК	533	12307	611	0,15	—
F6	520	12600	615	1	0,08
F6-ДНК	533	9400	611	0,14	0,42

* Параметры длинноволновых полос поглощения.

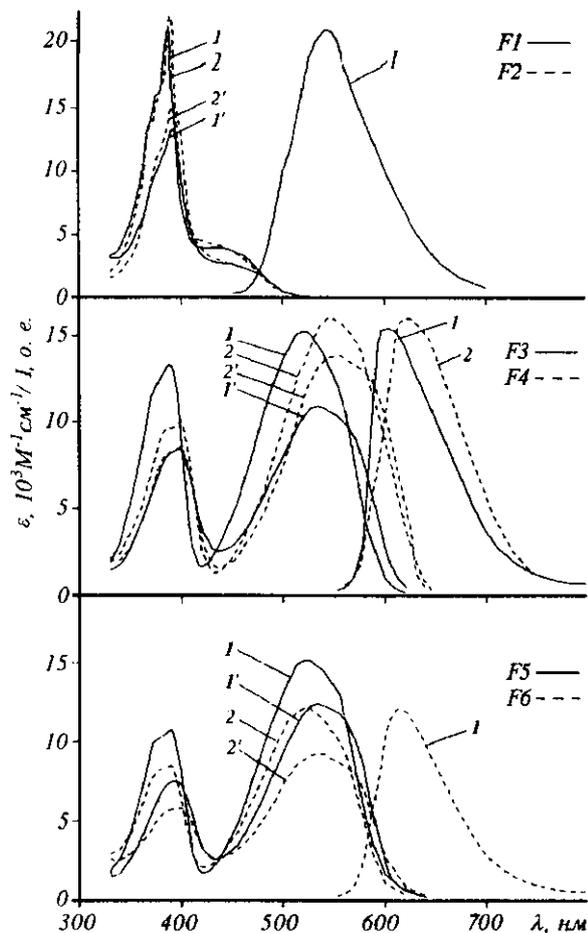


Рис. 2. Спектры поглощения и флуоресценции свободных (1, 2) и связанных с ДНК (1', 2') производных феназина с нейтральной (F1, F2) и катионной (F3, F4, F5, F6) формами хромофора в 1 мМ Na-какодилатном буфере, рН 7, 0,5 мМ EDTA

феназина с нейтральной формой хромофора имеют одну интенсивную полосу поглощения в видимой области спектра и широкое длинноволновое плечо, а катионные феназины — две интенсивные полосы поглощения в видимой области спектра. Спектры флуоресценции свободных феназинов неструктурированы.

Нейтральные производные феназинов в водных растворах подвержены сильной димеризации. Это следует из гипохромизма их спектров поглощения и появления новой коротковолновой полосы с максимумом при 370 нм, которая принадлежит димерам красителя (рис. 3). Используя концентрационные зависимости коэффициентов экстинкции, по методике Шварца и др. [8], были определены константы димеризации, составляющие $5000 \pm 1000 \text{ M}^{-1}$ для F1 и $9000 \pm 1000 \text{ M}^{-1}$ для F2. Диме-

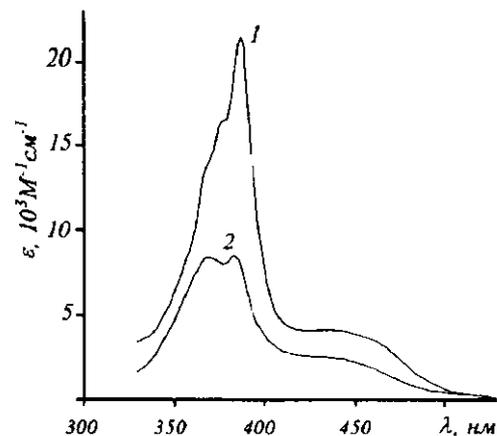


Рис. 3. Гипохромизм спектров поглощения нейтрального производного феназина F1, вызванный димеризацией молекул красителя в растворе: 1 — концентрация красителя 3 мкМ; 2 — 570 мкМ; Na-какодилатный буфер, $\mu = 0,002$

ризация катионных красителей осуществляется в значительно меньшей степени. Их коэффициенты экстинкции практически не меняются до концентраций $\approx 40 \text{ мкМ}$.

Увеличение ионной силы раствора от $\mu = 0,002$ до $\mu = 0,1$ также не вызывает существенных изменений коэффициентов экстинкции для всех изученных производных феназина и констант димеризации для F1 и F2.

Оптические свойства свободных феназинов приведены в табл. 1. Существенное различие степени поляризации флуоресценции наблюдается для нейтральных и катионных производных феназина. Малая степень поляризации для нейтральных феназинов объясняется существенно большей продолжительностью времени жизни возбужденного состояния, чем для катионных форм [9].

Кривые флуоресцентного титрования производных феназина ДНК в виде зависимостей относительной интенсивности I/I_0 (I_0 — интенсивность свечения красителя без ДНК) и поляризации флуоресценции (ρ) от соотношения молярных концентраций ДНК/краситель (P/D) представлены на рис. 4, а и б, для растворов с низкой и умеренной ионными силами соответственно. С увеличением P/D флуоресценция тушится, а степень поляризации увеличивается, что свидетельствует об увеличении доли связанного красителя. При $P/D \rightarrow \infty$ интенсивность и степень поляризации флуоресценции каждой исследованной системы стремятся к своим предельным значениям, характеризующим свечение красителей в комплексах с ДНК. Пара-

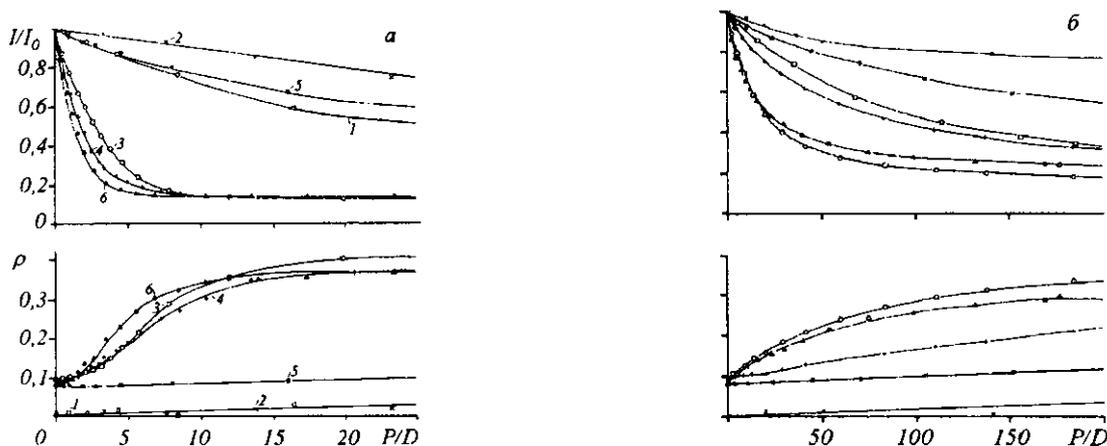


Рис. 4. Изменение интенсивности I/I_0 и степени поляризации флюоресценции ρ производных феназина при титровании ДНК (длина волны возбуждающего излучения для нейтральных феназинов равна 450, для катионных — 530 нм; I_0 — интенсивность флюоресценции свободного красителя): 1 — F1; 2 — F2; 3 — F3; 4 — F4; 5 — F5; 6 — F6; $\mu = 0,002$ (а) и 0,1 (б); $C = 20$ мкМ

метры этого свечения для всех комплексов были определены графической экстраполяцией зависимости I/I_0 и ρ от D/P к $D/P = 0$ (не показано). Эти данные приведены в табл. 1, из которой видно, что различие в электронной структуре нейтральных и катионных форм хромофоров не сопровождается существенным отличием степени тушения флюоресценции.

При связывании феназинов с ДНК их спектры поглощения проявляют гипохромизм и сдвигаются в длинноволновую сторону, а спектры флюоресценции — в коротковолновую (см. рис. 2, табл. 1), что типично для интеркаляции красителей.

Используя данные флюоресцентного титрования и параметры флюоресценции комплексов (см. табл. 1), были рассчитаны доли свободного и связанного красителя по формулам, приведенным в работе [10]. Данные о связывании представлены на рис. 5 в координатах Скэтчарда для всех исследованных систем при двух значениях μ . Нейтральные феназины F1 и F2 слабо связываются с ДНК, вследствие чего получены лишь малые значения степени заполнения мест связывания, r (числа молекул связанного красителя, приходящихся на одну пару оснований ДНК). Прямолинейность изотерм связывания свидетельствует об одном типе взаимодействия, в данном случае — интеркаляции (рис. 5, а и б). Значения кажущихся констант связывания нейтральных феназинов были определены по точкам пересечения экспериментальных кривых Скэтчарда с осью r/C_0 и приведены в табл. 2. Для F1 наблюдается более эффективное связывание, чем для F2. Это объясняется тем, что

димеризация F2, обусловленная наличием гидрофобной метильной группы, сильнее и в связи с этим эффективнее конкурирует с процессом связывания.

Форма кривых Скэтчарда для катионных производных F3 — F6 при низкой ионной силе (рис. 5, б), несомненно, свидетельствует о наличии двух типов связывания: интеркаляции и внешнего электростатического взаимодействия. Последнее имеет кооперативный характер (выпуклость изотерм) в результате стэкинга хромофоров адсорбированного красителя.

При анализе данных о комплексообразовании удобно воспользоваться существующими модельными уравнениями связывания, учитывающими внутреннее и внешнее присоединение молекул красителя к ДНК, например, широко распространенными уравнениями МакГи и ван Хиппела [11]. К сожалению, в этих уравнениях не учитывается кулоновское отталкивание между заряженными присоединенными молекулами, которое может привести к добавочному эффекту антикооперативности связывания. В связи с этим уравнения дают искаженную форму изотермы, особенно в части внешнего присоединения. Простым и точным может быть учет энергии кулоновского отталкивания катионов в этом случае в рамках модели «двух состояний» — связанных и свободных ионов. Применение такой модели дает удовлетворительное описание влияния ионов металлов на физико-химические свойства нуклеиновых кислот в растворе [12, 13]. По-видимому, нет ограничений для использования этой модели в случае органических катионов. В простей-

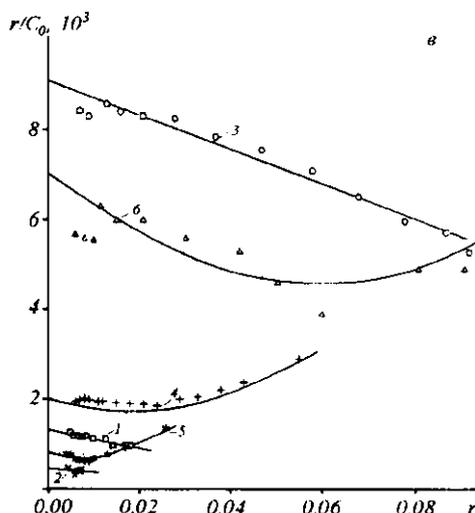
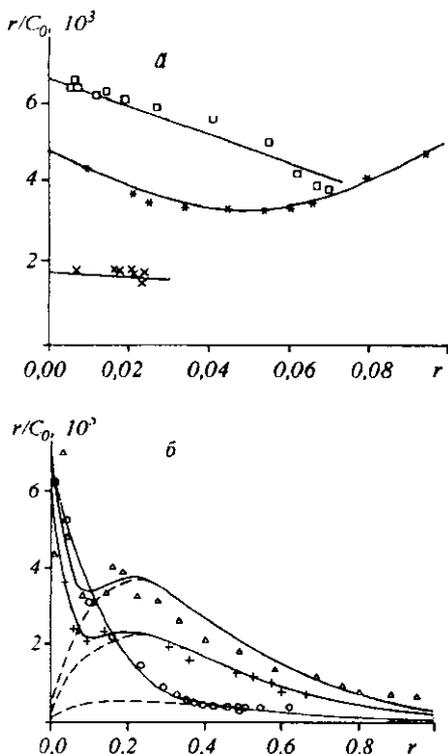


Рис. 5. Изотермы связывания производных феназина с ДНК при $\mu = 0,002$ (а, б) и $\mu = 0,1$ (в), pH 7. Обозначения кривых, как на рис. 4 (теоретическая кривая Скэтчарда — сплошная линия, вклад внешнего кооперативного связывания в кривую Скэтчарда — пунктирная линия)

шем приближении данной модели можно предположить, что энергия отталкивания связанных с ДНК катионов пропорциональна степени заполнения мест связывания на полимере, $r = \nu/N$, где ν — число связанных ионов; N — число мест связывания. Такая зависимость получается, в частности, при прямом расчете кулоновской энергии ионов, равномерно расположенных вдоль цепи полимера. Это дает дополнительный вклад в величину свободной энергии системы, определяемый формулой

$$\Delta G/RT = \alpha r, \quad (1)$$

где α — эмпирический коэффициент, близкий к 6 для одновалентных ионов металлов и к 12 для двухвалентных ионов металлов [12]. Следует заметить при этом, что характер кулоновского отталкивания принципиально отличается своим дальним действием от гидрофобного стопочного (стэкинг) взаимодействия, и поэтому энергия отталкивания не может быть учтена параметром кооперативности (w), зависящим от свободной энергии связывания ближайших соседей в стопке. С учетом этого можно модифицировать уравнения МакГи и ван Хиппела при наличии двух типов связывания введением дополнительных множителей типа $\exp\{-\alpha(r_1 + r_2)\}$ для констант связывания K_1 (интеркаляция)

и K_2 (внешнее связывание). Модифицированные таким образом уравнения имеют вид:

$$\begin{aligned} r_1/C_0 &= K_1 \cdot \exp\{-\alpha_1(r_1+r_2)\} \times \\ &\times (1-n_1r_1)^{n_1} \cdot (1-n_1r_1+r_1)^{(1-n_1)}; \\ r_2/C_0 &= K_2 \cdot \exp\{-\alpha_2(r_1+r_2)\} \cdot (1-n_2r_2) \times \\ &\times \left[\frac{(2w-1)(1-n_2r_2) + r_2 - R}{2(w-1)(1-n_2r_2)} \right]^{(n_2-1)} \times \\ &\times \left[\frac{1 - (n_2+1)r_2 + R}{2(1-n_2r_2)} \right]^2, \end{aligned} \quad (2)$$

где $R = (4wr_2 \cdot (1-n_2r_2) + (1-(n_2+1)r_2)^2)^{1/2}$; w — параметр кооперативности; C_0 — концентрация свободного красителя; K_1 и K_2 — кажущиеся константы связывания; α_1 и α_2 — эмпирические коэффициенты, учитывающие кулоновское отталкивание хромофоров; n_1 и n_2 — размеры мест связывания для процессов интеркаляции и кооперативного связывания соответственно.

Эта система нелинейных уравнений с двумя неизвестными r_1 и r_2 решалась методом Ньютона с линейной экстраполяцией начальных значений корней по двум предыдущим. При этом концентрацию свободных молекул C_0 варьировали в пределах от 10^{-9} до 10^{-4} М, а значения параметров K_1 , K_2 , α_1 , α_2 , n_1 , n_2 и w выбирали, исходя из литературных данных об этих величинах для подобных молекул и соответствия результатов расчета экспериментальным изотермам.

Таблица 2
Количественные характеристики связывания производных феназина с ДНК

Система	μ	K_1, M^{-1}	K_2, M^{-1}	α_1	α_2	n_1	n_2	w
F1-ДНК	0,002	$6,8 \cdot 10^3$	—	—	—	—	—	—
F2-ДНК	0,002	$1,8 \cdot 10^3$	—	—	—	—	—	—
F3-ДНК	0,002	$6,6 \cdot 10^5$	10^3	3	5	2	1	$1,1 \cdot 10^3$
F4-ДНК	0,002	$5,8 \cdot 10^5$	10^3	5	5	4	1	$3,0 \cdot 10^3$
F5-ДНК	0,002	$4,7 \cdot 10^3$	18	5	5	3	1	$4,0 \cdot 10^3$
F6-ДНК	0,002	$7,0 \cdot 10^5$	10^3	5	5	3	1	$5,0 \cdot 10^3$
F1-ДНК	0,1	$1,4 \cdot 10^3$	—	—	—	—	—	—
F2-ДНК	0,1	$0,5 \cdot 10^3$	—	—	—	—	—	—
F3-ДНК	0,1	$9,4 \cdot 10^3$	—	—	—	—	—	—
F4-ДНК	0,1	$2,0 \cdot 10^3$	20	5	5	4	1	$3,0 \cdot 10^3$
F5-ДНК	0,1	$0,8 \cdot 10^3$	11	5	5	3	1	$4,0 \cdot 10^3$
F6-ДНК	0,1	$7,0 \cdot 10^3$	20	5	5	3	1	$5,0 \cdot 10^3$

На рис. 5 результаты расчетов (сплошные линии) сравниваются с экспериментальными данными. Как видно, имеется хорошее согласие между теоретически рассчитанными и измеренными изотермами связывания. Возникает, однако, вопрос — не является ли это согласие результатом искусственной подгонки с применением большого числа произвольных параметров в системе уравнений (2). В связи с этим заметим, что все использованные параметры имеют ясный физический смысл и их величина может быть интерпретирована с точки зрения межмолекулярных взаимодействий и сопоставлена со значениями для других молекул-интеркаляторов, например, акридиновых красителей или антрациклинов. В табл. 2 представлены использованные при расчетах значения параметров, которые дают максимально хорошее согласие с экспериментом.

Видно, что наилучшее согласие расчетных значений с данными для всех феназинов наблюдается при $\alpha_1 = \alpha_2 = 5$, т. е. величинах, близких к полученным для ионов одновалентных металлов. Значения K_1 по порядку величин соответствуют результатам для других молекул-интеркаляторов, а константы K_2 , зависящие от энергии электростатического притяжения катионов к фосфатным группам при внешнем связывании молекул, близки к значениям констант для одновалентных ионов металлов при их взаимодействии с ДНК.

Такая же аналогия с ионами металлов, как указывалось, имеется для параметров α_1 и α_2 . Особенно существен для расчетов выбор параметра α_2 . При меньшей величине этого параметра расчет

дает искаженную форму изотерм. Число мест связывания (внутреннего и внешнего) обычно для молекул такого типа. Большое значение для расчетов имеет также выбор параметра кооперативности w , обусловленного гидрофобным взаимодействием между молекулами красителя. По порядку величины этот параметр совпадает со значениями, полученными для антрациклинов при их сорбции на полифосфате [14], и сопоставим с константами димеризации нейтральных феназинов. Возрастание величины w в ряду феназинов F3, F4, F5, F6, вероятно, связано с увеличением их гидрофобности за счет углеводородных заместителей — полиметиленовых цепочек.

Эффективное взаимодействие демонстрируют катионные производные F4 и F6. Их связывание осуществляется как за счет интеркаляции, так и внешнего кооперативного связывания, обусловленного сильным гидрофобным взаимодействием, не зависящим от ионной силы. Именно поэтому изотермы связывания этих производных при $\mu = 0,1$ имеют участки (рис. 5, в), характерные для кооперативного внешнего присоединения к фосфатным группам ДНК. Но при такой ионной силе кажущаяся константа связывания для F4 существенно меньше, чем для F6. Это, видимо, обусловлено жесткостью структуры молекулы ДНК при данной ионной силе, мешающей менее лабильной структуре заместителя F4 интеркалировать в двойную спираль.

Существуют два типа связывания катионного производного F3 при низкой ионной силе, но вклад внешнего кооперативного взаимодействия в изотер-

му связывания F3 меньше, чем у других катионных производных феназина (рис. 5, а). При умеренной ионной силе наблюдается сильный интеркаляционный механизм связывания F3 с ДНК, а вклада второго типа в области достигнутых значений μ выявить не удалось. Кажущаяся константа связывания сравнима с таковыми для других катионных производных при $\mu = 0,002$, а при $\mu = 0,1$ имеет даже более высокое значение.

Среди катионных производных особое место занимает F5. Его связывание характеризуется очень низкими по сравнению с другими катионными производными кажущимися константами связывания. Последние как в случае низких, так и умеренных ионных сил имеют значения, сравнимые по порядку с таковыми для нейтральных феназинов. Очевидно, это обусловлено тем, что отрицательно заряженная в водном растворе карбоксильная группа полиметиленовой цепи способна подходить достаточно близко к хромофору и частично нейтрализовать его заряд.

При этом молекула в целом нейтральна, а структура заместителя становится жестче, что мешает молекуле красителя интеркалировать. Этим объясняется тот факт, что кажущаяся константа связывания F5 имеет даже меньшее значение, чем у нейтрального феназина F1. Изотермы связывания для F5 (см. рис. 5, а и в) показывают, что взаимодействие данного красителя с ДНК осуществляется как по типу интеркаляции, так и за счет внешнего кооперативного присоединения вследствие действия гидрофобных сил.

В результате анализа полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. При взаимодействии производных феназина с ДНК проявляется как внутреннее интеркаляционное связывание, так и внешнее кооперативное присоединение этих красителей к фосфатным группам ДНК.

2. Стабильность комплексов зависит от кулоновского и гидрофобного взаимодействий, соотношение между которыми определяет вид изотерм связывания.

3. Уравнения МакГи и ван Хиппела, модифицированные для учета влияния кулоновского взаимодействия между зарядами на хромофорах присоединенных феназинов, удовлетворительно описывают экспериментальные данные.

Авторы выражают благодарность С. А. Егупову за помощь в математической обработке результатов. Данная работа была частично поддержана Международной Соросовской Программой поддержки образования в области точных наук (ISSEP), грант № 064007.

Ю. П. Благой, В. М. Зозуля, І. М. Волошин, В. Л. Макітрук, А. С. Шаламай, А. С. Щербакіова

Дослідження взаємодії похідних феназину з ДНК методом поляризованої флюоресценції

Резюме

Вивчено взаємодію з ДНК шістьох похідних феназину, які належать до глікозидів та четвертинних солей, методами поляризованої флюоресценції та абсорбційної спектроскопії. Досліджено спектрально-флюоресцентні властивості вільних барвників та їх комплексів з ДНК. Показано, що основним типом зв'язування феназинів з нейтральною формою хромофора є інтеркаляція молекул барвника між площинами основ подвійної спіралі ДНК. Для катионних барвників, крім інтеркаляційного механізму, істотний внесок у комплексоутворення робить кооперативна електростатична взаємодія з фосфатними групами, яка через сильні гідрофобні ефекти виявляється як за низької ($\mu = 0,002$), так і за помірної ($\mu = 0,1$) іонної сили. При аналізі процесу зв'язування використані рівняння МакГі та ван Хіппела, модифіковані з метою врахування енергії кулонівського відштовхування між адсорбованими молекулами барвника. Подібна модифікація дозволяє з хорошою точністю описати експериментальні ізоТЕРМИ зв'язування.

Yu. P. Blagoi, V. N. Zozulya, I. M. Voloshin, V. L. Makitruk, A. S. Shalamay, A. S. Shcherbakova

Investigation of phenazine derivatives interaction with DNA by polarized fluorescence method

Summary

The interaction of six phenazine derivatives belonging to glycosides and quaternary salts with DNA was studied by fluorescence polarized and absorption methods. Fluorescence properties of free dyes and their complexes with DNA were investigated. It was shown that the main type of binding of phenazines with a neutral chromophore is the dye intercalation between base pairs of the DNA double helix. For cationic dyes besides the intercalation the cooperative electrostatic interaction with phosphate groups makes the essential contribution to the complex formation. This interaction is manifested at both low ($\mu = 0.002$) and at moderate ($\mu = 0.1$) ionic strengths because of high hydrophobic effects. The equations of McGhee and von Hippel which were modified to take into account coulombic repulsion between charged molecules binded to DNA and were used for the binding process analysis. Such modification makes it possible to describe experimental binding isotherms.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Asseline U., Delarue M., Lancelot G. et al. Nucleic acid binding molecules with high affinity and base sequence specificity: Intercalating agents covalently linked to oligonucleotides // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1984.—81.—P. 3297—3301.
2. Makitruk V. L., Yarmoluk S. N., Shalamay A. S., Alexeeva I. V. Oligonucleotides modified with phenazine derivatives // Nucl. Acids Res. Symp. ser.—1991.—N 24.—P. 244.
3. Nagai K., Hecht S. M. Site-specific DNA cleavage by antisense oligonucleotides covalently linked to phenazine Di-N-oxide // J. Biol. Chem.—1991.—226.—P. 23994—24002.
4. Likhov S. G., Podyminogin M. A., Sergeev D. S. et al. Synthesis and high stability of complementary complexes of N-(2-hydroxyethyl)phenazinium derivatives of oligonucleotides // Bioconjugate Chem.—1992.—3, N 5.—P. 414—419.

5. Maltseva T. V., Agbak P., Repkova M. N. et al. The solution structure of a 3'-phenazinium (Pzn) tethered DNA-RNA duplex with a dangling adenosine: r(5'-AUUGAA3'):d(5'-TCAATC3'-Pzn) // Nucl. Acids Res.—1994.—22, N 25.—P. 5590—5599.
6. Серебряный С. Б., Юфа П. А. Аминирование алкилфеназиниевых солей // Укр. хим. журн.—1963.—29.—С. 322—329.
7. Зозуля В. Н., Жигалова Н. Н., Федоров В. Ф., Благой Ю. П. Взаимодействие карминомина с ДНК по данным лазерной поляризованной флюоресценции // Молекуляр. биология.—1989.—23, № 2.—С. 605—611.
8. Schwarz G., Klose S., Balthasar W. Cooperative binding to linear biopolymers // Eur. J. Biochem.—1970.—12.—P. 454—460.
9. Zozulya V., Blagoi Yu., Lober G. et al. Fluorescence and binding properties of phenazine derivatives in complexes with polynucleotides of various base composition and secondary structure // Biophys. Chem. (в печати).
10. Deranleau D. A., Binkert Th., Bally P. Estimation of the saturation fraction of bound fluorescent ligands from the intensity and anisotropy of the emission // J. Theor. Biol.—1980.—86.—P. 477—485.
11. 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.—86.—P. 469—489.
12. Clement R. M., Sturm J., Daune M. P. Interaction of metallic cations with DNA. Specific binding of Mg and Mn // Biopolymers.—1973.—12.—P. 405—421.
13. Благой Ю. П., Галкин В. Л., Гладченко Г. О. и др. Металлокомплексы нуклеиновых кислот в растворах.—Ки-ев: Наук. думка, 1991.—272 с.
14. Zozulya V. N., Fyodorov V. F., Blagoi Yu. P. Cooperative binding of daunomycin and carminomycin to inorganic polyphosphate // Stud. biophys.—1990.—137, N 1—2.—P. 17—28.

УДК 577.323

Поступила в редакцию 24.09.96