

УДК 577.113

¹H ЯМР АНАЛИЗ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ БРОМИСТОГО ЭТИДИЯ С ДЕЗОКСИТЕТРАНУКЛЕОТИДАМИ РАЗЛИЧНОЙ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

Завьялова О.С., Петренко Н.В., Барановский С.Ф.

Севастопольский национальный технический университет

99053, Севастополь, Студгородок

E-mail: root @ sevntu.sebastopol.ua

Проведен сравнительный анализ структурных и термодинамических параметров комплексообразования ароматического красителя бромистого этидия с изомерными само- и несамокомплементарными дезокситетрануклеотидами

5'-d(TpGpCpA) и 5'-d(CpTpGpA) в водном растворе на основе данных одно- и двумерной ЯМР-спектроскопии. Определены пространственные структуры комплексов красителя с d(TG) сайтами рассмотренных тетрамеров.

Введение. Известно, что вторичная структура нативной ДНК представляет собой двухспиральную полимерную молекулу, параметры которой существенно зависят от нуклеотидной последовательности [1]. Однако такие жизненно важные клеточные процессы как репликация и транскрипция происходят при участии одноцепочечных нуклеотидных последовательностей ДНК и РНК. Поэтому при изучении взаимодействия биологически активных веществ с генетическим материалом клетки важно установить закономерности процессов комплексообразования ароматических лигандов как с двухспиральными, так и с одноцепочечными нуклеотидными последовательностями. Ввиду сложности строения полимерных молекул нуклеиновых кислот и наличия большого числа мест связывания лиганда в полимерной цепи установление структурных и термодинамических особенностей их комплексообразования с ароматическими лигандами в растворе представляет собой достаточно трудную задачу. В то же время полученные нами ранее результаты [2,3] свидетельствуют о том, что использование коротких само- и несамокомплементарных олигонуклеотидных последовательностей в качестве модельных систем при изучении связывания лигандов с двухспиральной и одноцепочечной ДНК является достаточно оправданным.

В настоящей работе на основе методов одномерной и двумерной ¹H ЯМР-спектроскопии (500 и 600 МГц) проведен сравнительный анализ взаимодействия бромистого этидия (ЭБ) с изомерными само- и несамокомплементарными дезокситетрарибонуклеозидтрифосфатами 5'-d(TpGpCpA) и 5'-d(CpTpGpA) в водном растворе. Рассматриваемые тетрануклеотиды отличаются последовательностью оснований в цепи и наличием участков с пиримидин-пуриновой (pyr-pur) последовательностью

оснований, к которым ЭБ проявляет специфичность связывания [2,3]. Так, рассматриваемый самокомплементарный дезокситетрануклеотид содержит два участка с пиримидин-пуриновой (*pyr-pur*) последовательностью оснований (d(TG) и d(CA)), а несамокомплементарный 5'-d(CTGA) – один такой участок (d(TG)) в центре последовательности

Предложенная нами ранее [2,3] методика анализа данных ЯМР позволяет определить магнитное экранирование протонов молекул в составе комплексов а также энтальпийные и энтропийные вклады в комплексообразование лигандов как с одноцепочечными так и с двухспиральными олигонуклеотидными последовательностями в условиях динамического равновесия в растворе. Вместе с тем необходимо отметить, что в случае самокомплементарных олигонуклеотидов в растворе преобладают дуплексные структуры, поэтому структурные и термодинамические параметры комплексов лигандов с одноцепочечными нуклеотидными последовательностями определяются с меньшей точностью. В случае же несамокомплементарных олигонуклеотидов в растворе преимущественно находятся одноцепочечные последовательности, что позволяет более точно рассчитать структуры комплексов и термодинамику комплексообразования лигандов с одонитевыми олигонуклеотидами. Следовательно, сравнительный анализ комплексообразования биологически важных ароматических молекул с само- и несамокомплементарными тетрануклеотидами дает возможность произвести независимую оценку структурных и термодинамических характеристик образования комплексов лигандов как с одно-, так и с двухспиральными нуклеотидными последовательностями в условиях сложного динамического равновесия в растворе.

Материалы и методы исследования. В работе использованы образцы красителя бромистого этидия фирмы “Sigma” (США). Образцы дезокситетрануклеозидтрифосфатов 5'-d(TpGpCpA), 5'-d(CpTpGpA) синтезированы компанией “Oswel DNA Service” (Великобритания). Концентрацию красителя определяли спектрофотометрически – для бромистого этидия коэффициент экстинкции $\epsilon = 5860 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ($\lambda = 480 \text{ nm}$). Одномерные и двумерные (2D-TOCSY, 2D-COSY и 2D-NOESY) ^1H ЯМР спектры измеряли на импульсных спектрометрах “JEOL GSX 500” (500 МГц) и “Bruker AMX” (600 МГц). Места посадки ЭБ на дезокситетрануклеотиды определяли путем анализа межмолекулярных кросс-пиков в 2D-NOESY спектрах. Условия проведения двумерных ЯМР экспериментов аналогичны приведенным в [2,3]. Химические сдвиги в спектрах определялись относительно ДСС (2,2-диметил-2-силапентан-5-сульфоуксусной кислоты), в качестве внутреннего стандарта использовали ТМА (бромид тетраметиламмония). Стабилизацию температуры в процессе измерений осуществляли с точностью $\pm 0.2 \text{ K}$.

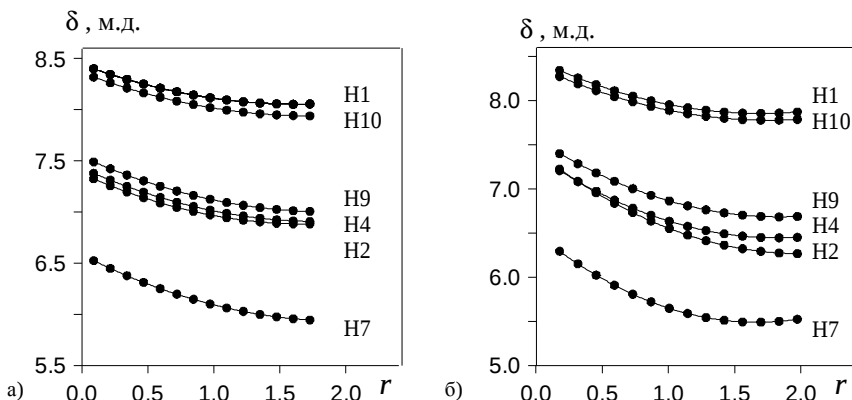


Рисунок 1 – Зависимости химических сдвигов протонов ЭБ от отношения исходных концентраций тетрауклеотида 5'-d(CpTpGrA) и красителя $r = N_0/D_0$

а) при $D_0 = 1.15 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $T = 298$ К; б) при $D_0 = 1,003 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $T = 303$ К

Результаты исследования и их обсуждение. Предварительно выполненные отнесения сигналов всех необменивающихся протонов в спектрах растворов тетрауклеотидов и красителя на основе двумерных гомоядерных TOCSY-, COSY- и NOESY-экспериментов позволили отождествить спектры смешанных растворов и выявить возможные связи ядер молекул красителя и тетрамеров. Так в 2D-NOE спектре бромистого этидия с комплементарным тетрауклеотидом 5'-d(TpGrCpA) отчетливо видны межмолекулярные кросс-пики достаточно высокой интенсивности между орто-протонами красителя и протонами H1' дезоксирибозы цитозина (H1'(C)) и тимина (H1'(T)) тетрауклеотида, а также кросс-пик H9-H1'(T). Это предполагает встраивание красителя в d(TG) и d(CA)-сайты тетрамера со стороны малой канавки двухспирального дуплекса, где располагаются протоны H1' дезоксирибозы. В то же время в 2D-NOE – спектре ЭБ с несамокомплементарным тетрауклеотидом 5'-d(CpTpGrA) межмолекулярные кросс-пики между протонами лиганда и дезокситетрауклеотида не наблюдаются. Отсутствие, а точнее пренебрежимо малая интенсивность этих кросс-пигов может быть обусловлена как относительно большими расстояниями между протонами красителя и некомплементарного тетрауклеотида в месте связывания лиганда, так и сложным динамическим равновесием взаимодействующих молекул и их комплексов, приводящим к относительно малому процентному содержанию любого типа комплекса, образующегося в растворе.

На рисунке 1,а приведены экспериментальные концентрационные зависимости химических сдвигов протонов ЭБ в смешанном растворе с несамокомплементарным тетрауклеотидом 5'-(CpTpGrA). Качественный

анализ кривых свидетельствует о несколько различном характере изменения химических сдвигов протонов красителя в растворе с несамокомплементарными и самокомплементарными дезокситетрануклеотидами в аналогичных экспериментальных условиях. В случае комплексообразования красителя с самокомплементарным дезокситетрануклеотидом который при низких температурах с большей вероятностью образует в растворе дуплексные структуры [3, 4], наблюдается существенное уменьшение наклона концентрационных зависимостей при отношении исходных концентраций дуплекса и лиганда $r = N_2/D_0 \geq 1$, что предполагает формирование преимущественно комплекса 1:2 одной молекулы красителя с двумя нитями тетрануклеотида. Однако для ЭБ этидия с несамокомплементарными тетрануклеотидами эксперимент свидетельствует о монотонном уменьшении химических сдвигов красителя при увеличении концентрации тетрануклеотида в растворе во всем исследованном диапазоне концентраций (рисунок 1,а). Последнее, по-видимому, объясняется тем, что комплексы ЭБ с одноцепочечным несамокомплементарным дезокситетрануклеотидом обладают существенно большими степенями свободы в сравнении с комплексами красителя с двухспиральными последовательностями самокомплементарных тетрануклеотидов

Учитывая особенности процессов комплексообразования молекул для количественного анализа взаимодействия красителя с самокомплементарными и несамокомплементарными дезокситетрануклеотидами были рассмотрены следующие схемы образования молекулярных ассоциатов в растворе [2,3]:

Схема 1

ЭБ + самокомплементарный тетрануклеотид 5'-d(TrGpCpA)

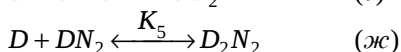
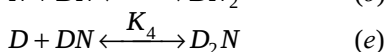
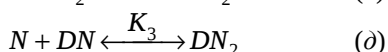
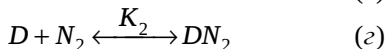
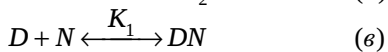
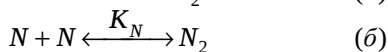
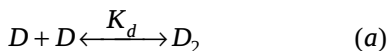
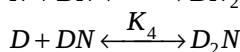
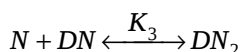
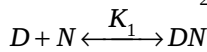
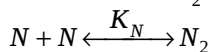
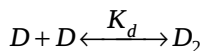


Схема 2

ЭБ + несамокомплементарный тетрануклеотид 5'-d(CpTpGpA)



Нужно отметить, что равновесные константы самоассоциации несамокомплементарных тетрануклеотидов существенно меньше величины

K_N для самокомплементарных дезокситетрануклеотидов [3]. Оценки показывают, что в этом случае можно пренебречь реакцией образования комплекса 1:2 (1 ϵ) путем непосредственного связывания красителя (D) с несамокомплементарным тетрануклеотидным дуплексом (N_2), которая является определяющей при связывании бромистого этидия с самокомплементарными дезокситетрануклеотидами. Вклад реакции образования 2:2 (1 κ) комплекса для несамокомплементарного олигонуклеотида в суммарное равновесие в растворе также пренебрежимо мал и в дальнейших расчетах не учитывался.

Протонные химические сдвиги молекул красителей рассчитывались с использованием аддитивной модели на основании закона сохранения массы и закона действующих масс [2,3]. Такую многопараметрическую задачу решали методом последовательного усложнения модели [2]. В таблице 1 приведены параметры комплексообразования ЭБ с рассматриваемыми тетрануклеотидами в водном растворе. Сравнение рассчитанных равновесных констант образования комплексов 1:1, 1:2 и 2:1 бромистого этидия с само- и несамокомплементарным дезокситетрануклеотидами показывает их качественное отличие. Прежде всего обращает на себя внимание тот факт, что константа K_1 образования 1:1 комплекса ЭБ с d(CTGA) существенно больше значения K_3 связывания красителя с димером (образование 1:2 комплекса) несамокомплементарного тетрануклеотида ($K_1 > K_3$). В случае комплексообразования ЭБ с самокомплементарными дезокситетрануклеотидами наблюдается обратная картина, т.е. $K_2 > K_1$ – вероятность связывания красителя с дуплексом заметно выше, чем с одиночной нитью тетрамеров. Численное значение равновесной константы K_1 для реакции комплексообразования ЭБ с несамокомплементарным дезокситетрануклеотидом d(CTGA) оказывается одного порядка с величиной K_1 для самокомплементарного тетрануклеотида d(TGCA). Вместе с тем, сравнительный анализ значений K_1 для исследованных тетрамеров показывает их зависимость от нуклеотидной последовательности. Так, равновесная константа образования 1:1 комплекса бромистого этидия с тетрануклеотидом d(TGCA), содержащим два *pur-pur* сайта, примерно в два раза превышает величину K_1 для тетрамеров d(CTGA) с одним сайтом преимущественного связывания красителя. Этот результат свидетельствует о существовании сиквенс-специфичности при связывании ЭБ с одноцепочечной нуклеотидной последовательностью. Из таблицы 1 видно, что равновесная константа $K_4 < K_1$ как для само-, так и несамокомплементарного дезокситетрануклеотидов, т.е. связывание второй молекулы бромистого этидия с одиночной нитью имеет антикооперативный характер.

Таблица 1 – Значения констант комплексообразования (K_i , л/моль) ЭБ с тетра nukлеотидами в водном растворе, T = 298 K, pD = 7.1

$K_1, 10^3$	$K_2, 10^3$	$K_3, 10^3$	$K_4, 10^3$	$K_5, 10^3$
ЭБ + 5'-d(CpTpGpA)				
17.0 ± 1.5	–	2.9 ± 1.4	3.3 ± 1.7	–
ЭБ + 5'-d(TpGpCpA)				
27.3 ± 5.6	72 ± 9	0.57 ± 0.26	10.2 ± 3.4	141 ± 25

Структуры комплексов. Анализ структур комплексов бромистого этидия с d(TGCA) и d(CTGA) проводили на основании рассчитанных предельных значений протонных химических сдвигов. Величины $\Delta\delta_i = \delta_m - \delta_i$, определяющие индуцированные химические сдвиги протонов красителей в область сильного поля, находятся в пределах (0,39÷1,53) м.д. для рассмотренных типов комплексов при T = 298 K. Это свидетельствует о значительном экранирующем влиянии азотистых оснований на все протоны ЭБ и предполагает встраивание красителя между плоскостями оснований тетра nukлеотидов. Квантово-механические расчеты показывают, что кольцевые токи азотистых оснований нуклеиновых кислот дают основной вклад (~70%) в экранирование ядер соседних молекул в сравнении с локальными диа- и парамагнитными эффектами и поляризуемостью связей [4]. Для расчета химических сдвигов, вызванных кольцевыми токами, обычно применяют модель эквивалентного диполя, в которой действие круговых токов заменяется эквивалентным действием магнитных диполей, помещенных в центр каждого ароматического кольца молекулы [2]. Соответствующим подбором величин магнитных моментов диполей и введением аппроксимирующих соотношений для учета дополнительного экранирования, не связанного с круговыми токами, можно получить достаточно точную оценку общего экранирования ядер азотистыми основаниями. Индуцированные химические сдвиги протонов красителя тогда могут быть рассчитаны следующим образом [2]:

$$\Delta\delta = \sum_j \mu_j f(R, \psi) (1 - 3 \cos^2 \Theta_j) / r_j^3, \quad (2)$$

где μ_j – магнитный момент эквивалентного диполя j-го ароматического кольца азотистого основания; r_j – расстояние от j-го диполя до рассматриваемого протона; Θ_j – угол между направлением поля и вектором r_j ; $f(R, \psi)$ – параметрическое регрессионное соотношение в виде многочлена для аппроксимации квантово-механических кривых экранирования; R, ψ – полярные координаты в системе отсчета, связанной с осью спирали молекулы и плоскостью, в которой располагается хромофор ароматической молекулы красителя.

Рассчитывали экранирование протонов ЭБ в двух различных сайтах самокомплементарного дезокситетрануклеотида d(TGCA) в зависимости от конформационных параметров спирали. Использовали алгоритм преобразований координат атомов нуклеотидных пар и программу, реализующую этот алгоритм, разработанные в ИТЭБ РАН. Последовательность преобразований координат при расчетах индуцированных химических сдвигов протонов красителя отвечала

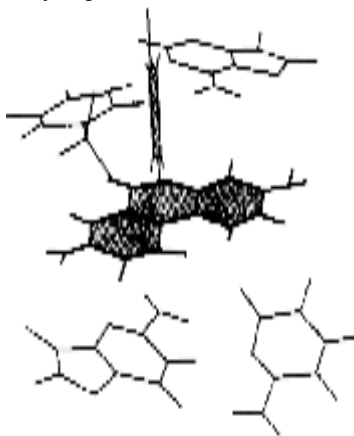


Рисунок 2 - Расчетная структура участка 1:2 комплекса соответствующая интеркаляции ЭБ в 5'-d(TG) сайт двухспирального тетрануклеотида 5'-d(TGCA)

изменению параметров ω (пропеллер), k (излом пары), τ (наклон пары), ρ (крен), D_x (сдвиг), D_y (скольжение), Ω (закручивание) и D_z (поднятие) [2]. Анализ структур интеркалированных комплексов проводился путем минимизации квадратичного функционала невязки значений индуцированных протонных химических сдвигов, полученных из экспериментальных концентрационных зависимостей и рассчитанных по соотношению (1) при вариации параметров спирали. В процессе вычислений параметры изменялись в пределах, соответствующих А- и В-семействам двойной спирали. На рисунке 2 представлена рассчитанная таким образом наиболее вероятная структура участка комплекса 1:2 ЭБ с тетрануклеотидом d(TGCA), отвечающая интеркаляции красителя в 5'-d(T-G)-сайт тетрамера со стороны узкой бороздки дуплекса. Пространственное изображение структуры получено с помощью программы Mathematica 2.0 (Wolfram Res.Ltd). Длины связей и валентные углы в структуре молекулы бромистого этидия, необходимые для проведения расчетов, взяты по данным рентгеноструктурного анализа.

При построении структуры 1:1 комплекса бромистого этидия с несамокомплементарным дезокситетрануклеотидом d(CTGA) была предложена следующая методика. Для

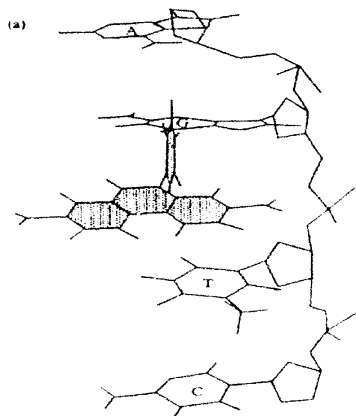


Рисунок 3 - Расчетная структура комплекса 1:1 бромистого этидия с 5'-d(CTGA), соответствующая интеркаляции ЭБ в d(TC) сайт

того, чтобы использовать преобразования координат нуклеотидных пар в двойной спирали, в процессе вычислений для одноцепочечного тетрануклеотида d(CTGA) достраивали вторую нить дуплекса из комплементарных оснований d(GACT). Однако при расчете экранирования протонов красителя учитывали основания только одной нити спирали, а комплементарные основания второй нити исключали из рассмотрения. Экранирование протонов бромистого этидия соседними основаниями в 1:1 комплексах рассчитывали при вариации конформационных параметров спирали. Следует при этом отметить, что экспериментальные исследования [5] свидетельствуют о том, что гомополимеры могут находиться в виде одноцепочечных спиралей. Оценки с использованием суммарных констант спин-спинового взаимодействия для H1' и H2', H2'' протонов дезоксирибозы позволили сделать заключение, что дезоксирибозные остатки тетрануклеотида 5'-d(CpTpGrA) в растворе с бромистым этидием находятся преимущественно в C2'-эндо конформации соответствующей В-форме ДНК. В расчетах полагали, что пиримидин-пуриновый участок (TG-сайт) последовательности d(CTGA) является местом преимущественной посадки красителя в 1:1 комплексе

На рисунке 3 в качестве примера представлена рассчитанная наиболее вероятная структура комплекса 1:1 бромистого этидия с одноцепочечным дезокситетрануклеотидом d(CTGA), отвечающая встраиванию красителя в d(TG)-сайт тетрамера со стороны ароматического кольца, содержащего протоны H7 и H9. Хромофор красителя в 1:1 комплексе располагается

перпендикулярно оси спирали на равных расстояниях (3,07 Å) от плоскостей оснований верхнего гуанина и нижнего тимина в TG-сайте. В таблице 2 приведены конформационные параметры спирали в частично интеркалированных комплексах бромистого этидия с дезокситетрануклеотидами 5'-d(CTGA) (1:1 комплекс) и в сайте d(TG) интеркаляционного связывания лиганда с 5'-d(TGCA) (1:2 комплекс).

Интересно отметить, что углы закручивания спирали в 1:1 комплексе ЭБ - d(CTGA) и 1:2 - ЭБ с d(TGCA) в пределах погрешности совпадают и их значения согласуются с данными рентгеноструктурного анализа для комплексов ЭБ с дуплексом ДНК. Вместе с тем, обращает на себя внимание существенное уменьшение расстояния между плоскостями азотистых оснований в 1:1-комплексе по сравнению с интеркалированным 1:2-комплексом красителя с тетрануклеотидным дуплексом (таблица 2). Одноцепочечная структура олигонуклеотида в отличие от дуплексной обладает значительно большей конформационной свободой.

Таблица 2 – Конформационные параметры спирали в комплексах ЭБ с дезокситетрануклеотидами 5'-d(CTGA) и 5'-d(TGCA)

	Комплекс 1:1	Комплекс 1:2
--	--------------	--------------

Тетрамер	d(CTGA)	d(TGCA)
Сайт	d(TG)	d(TG)
D_z – rise	0,61 (нм)	0,68 (нм)
Ω – twist	14,2°	14,0°
ω – propel	0,5°	- 4,3°
τ – tilt	0,2°	-3,4°
D_x – shift	-0,05 (нм)	0,04 (нм)
D_y – slide	-0,01 (нм)	0,04 (нм)
ρ – roll	5,5°	7,5°
K – buckle	-1,5°	-5,0°

Термодинамика комплексообразования На рисунке 4 в качестве

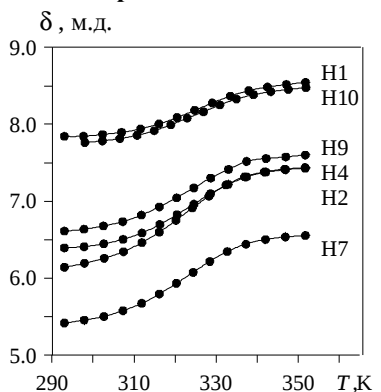


Рисунок 4 – Температурные зависимости химических сдвигов протонов ЭБ в растворе с тетрануклеотидом 5'-d(TrGpCpA), $D_0=1,01 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $N_0=2,02 \cdot 10^{-3}$ моль/л

от вклада молекул ЭБ в составе комплексов тетрануклеотидами

$$\delta_i(T) = f_m(T)\delta_{mi} + f_d(T)\delta_{di} + \sum_{k=1}^N f_k(T)\delta_{ki}, \quad (3)$$

где f_m , f_d и f_k – мольные доли красителя соответственно в мономерной, димерной формах и в составе комплексов тетрамерами (схема 1).

В этой модели влияние температуры на значение δ_i учитывается тем, что мольные доли f_k , однозначно связанные с равновесными константами образования комплексов являются функцией температуры. Определение температурных зависимостей для констант равновесия позволяет найти термодинамические параметры комплексообразования – энтальпию ΔH и энтропию ΔS различных типов комплексов образующихся в растворе. Термодинамические параметры реакций комплексообразования ЭБ с тетрануклеотидами, рассчитанные с использованием формализма Вант-

Гоффа, приведены в таблице 3. Из таблицы видно, что энтальпии реакций ΔH во всех случаях принимают достаточно большие отрицательные значения, что имеет место для процессов агрегации, включающих стэкинг-взаимодействие систем с делокализованными π -электронами.

Тетрануклеотид	Вид химич. реакции	$-\Delta G_{(298\text{ К})}$, кДж/моль	$-\Delta H$, кДж/моль	$-\Delta S_{(298\text{ К})}$, Дж/моль·К
d(TGCA)	$D+N \leftrightarrow DN$	$(25,3 \pm 0,2)$	(121 ± 7)	(321 ± 18)
	$D+DN \leftrightarrow D_2N$	$(22,9 \pm 0,5)$	(114 ± 16)	(306 ± 41)
	$D+N_2 \leftrightarrow DN_2$	$(27,7 \pm 0,2)$	$(80 \pm 6,3)$	(176 ± 27)
d(CTGA)	$D+N \leftrightarrow DN$	$(24,1 \pm 0,2)$	(99 ± 10)	(253 ± 33)
	$D+DN \leftrightarrow D_2N$	$(20,4 \pm 1,1)$	(70 ± 12)	(167 ± 37)
	$D+N_2 \leftrightarrow DN_2$	$(19,4 \pm 2,1)$	(66 ± 5)	(155 ± 26)

Сравнение термодинамических параметров комплексообразования бромистого этидия с одноцепочечным несамокомплементарным дезокситетрануклеотидом 5'-d(CTGA) (1:1 и 2:1 комплексы) показывает их качественное согласие с соответствующими величинами для реакций взаимодействия красителя с мономером самокомплементарного дезокситетрануклеотида 5'-d(TGCA). Вместе с тем, абсолютные значения ΔH связывания ЭБ с одноцепочечными тетрануклеотидами свидетельствуют о зависимости энтальпии комплексообразования молекул от последовательности и состава оснований в нуклеотидной цепи. Так можно сделать заключение, что значение ΔH для реакций комплексообразования ЭБ с одноцепочечной ДНК растет с увеличением числа *pyr-pyr* сайтов и зависит от их локализации в тетрануклеотидной последовательности. Интересно отметить, что энергетические характеристики образования 1:2 комплексов для само- и несамокомплементарных тетрануклеотидов имеют достаточно близкие значения (таблица 3). Следовательно можно предположить, что основной вклад в термодинамику комплексообразования молекул при формировании интеркалированного 1:2 комплекса дают пары нуклеотидов составляющие ближайшее окружение ароматического лиганда.

Проведенные исследования свидетельствуют об эффективности разработанной методики определения термодинамических параметров образования комплексов лиганда как с самокомплементарными, так и с несамокомплементарными олигонуклеотидами в условиях сложного динамического равновесия в растворе.

Работа частично финансировалась Международной программой INTAS (грант INTAS-97-31753).

Библиографический список

1. Berman H.M. Crystal studies of B-DNA: the answers and questions / H.M. Berman // Biopolymers. — 1997. — V. 44. — P. 23–44.
2. Davies D.B. Structural and thermodynamical analysis of molecular complexation by ^1H NMR spectroscopy: intercalation of ethidium bromide with the isomeric deoxytetranucleosidetriphosphates 5'-d(GpCpGpC) and 5'-d(CpGpCpG) in aqueous solution / D.B. Davies, A.N. Veselkov // J. Chem. Soc. Faraday Trans. — 1996. — V. 92. — № 19. — P. 3545–3557.
3. Davies D.B. Structural and thermodynamical analysis of drug binding to single-stranded DNA oligomers / D.B. Davies, S.F. Baranovsky, A.N. Veselkov // J. Chem. Soc. Faraday Trans. — 1997. — V. 93. — P. 1559–1572.
4. Giessner-Prettre C. Quantum mechanical calculations of NMR chemical shifts in nucleic acids / C. Giessner-Prettre, B. Pullman // Quat. Rev. Biophys. — 1987. — V. 20. — P. 113–172.
5. Зенгер В. Принципы структуры организации нуклеиновых кислот / В. Зенгер. — М.: Мир, 1987. — 584 с.

Поступила в редакцию 8.04.2002 г.