

УДК 544.353; 544.032.6

**КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЫ ДНК, ВЫЗВАННЫЕ
γ-ОБЛУЧЕНИЕМ В РАСТВОРАХ В ПРИСУТСТВИИ АЛИФАТИЧЕСКИХ СПИРТОВ**

© 2009 С.В. Пастон*, В.В. Замотин

*Санкт-Петербургский государственный университет, физический факультет**Статья поступила 21 июня 2008 г.*

Методами низкоградиентной вискозиметрии и кругового дихроизма изучены конформационные изменения ДНК в водных растворах, содержащих этанол, *изо*- и *н*-пропанол в концентрациях 0—23 вес.%, ионной силы $\mu = 0,003$ М NaCl, подвергнутых действию γ -излучения дозами 0—30 Гр. Характер зависимости удельного объема ($V_{уд}$) ДНК от дозы облучения меняется в зависимости от содержания спирта: существует критическая концентрация ($C_{кр}$), при которой происходит перестройка структуры смешанного растворителя, и при $C_{сп} = 12$ вес.% $< C_{кр}$ $V_{уд}$ ДНК убывает с ростом дозы облучения, а при $C_{сп} = 23$ вес.% $> C_{кр}$ возрастает. В обоих случаях наибольшие значения $V_{уд}$ ДНК наблюдаются в водно-этанольных растворах. Вторичная структура макромолекулы в изучаемых системах соответствует В-форме. Показано, что наблюдаемые конформационные изменения облученной ДНК как при $C_{сп} < C_{кр}$, так и при $C_{сп} > C_{кр}$ не могут объясняться только способностью спиртов перехватывать ОН-радикалы, образующиеся при радиоллизе воды.

Ключевые слова: конформация ДНК, качество растворителя, водно-спиртовые растворы, γ -излучение, ОН-радикалы.

Структура молекулы ДНК в растворе чрезвычайно чувствительна к свойствам растворителя. В стабилизации двойной спирали большую роль играют диполь-дипольные и гидрофобные взаимодействия [1], поэтому понятно, что изменение полярности растворителя может оказывать влияние на конформацию макромолекулы. Снижения полярности растворителя можно достичь, например, используя добавки типа алифатических спиртов, молекулы которых имеют дипольный момент меньший, чем дипольный момент молекулы воды [2]. Действительно, опыт показывает, что введение спиртов в раствор ДНК может радикальным образом изменить ее структуру: при больших концентрациях спирты денатурируют и осаждают ДНК [3], при концентрациях около 70—80 об.% происходит переход во вторичной структуре макромолекулы типа В→С, В→А или С→А в зависимости от природы и концентрации органического компонента и низкомолекулярной соли, вызванный уменьшением степени гидратации двойной спирали [4—6]. Изменения во вторичной структуре ДНК, которые можно наблюдать, исследуя спектры кругового дихроизма (КД), могут возникать и при меньшем содержании спирта при увеличении ионной силы раствора [7, 8]. Присутствие спиртов в растворе уменьшает концентрацию многовалентных катионов, при которых происходит конденсация ДНК [8, 9], причем влияние неэлектролитов не ограничивается снижением диэлектрической проницаемости ϵ раствора, так как число и форма сконденсированных частиц при одном и том же значении ϵ среды, как оказалось, зависят и от природы используемого спирта [9]. Действительно, макроскопический параметр ϵ , используемый для характеристики полярности растворителей, не вполне подходит для измерения микроскопических межмолекулярных взаимодействий — вблизи молекул

* E-mail: svpaston@list.ru

растворенного вещества, структурирующего вокруг себя молекулы растворителя, диэлектрическая проницаемость растворителя может отличаться от ϵ чистого растворителя [10].

В частности, при рассмотрении взаимодействий ДНК—растворитель в спиртово-водных растворах оказывается, что весьма существенную роль также играет структура водородных связей в среде. При относительно низкой концентрации спирта (так называемой "критической" концентрации, $C_{кр}$, для этанола 16,5 вес.% или 3,5 моль/л), не зависящей от ионной силы раствора, был обнаружен переход на уровне третичной структуры макромолекулы — кооперативное падение удельного объема ($V_{уд}$), — не затрагивающий ее вторичную структуру и равновесную жесткость [11—13]. Этот переход был изучен для ряда алифатических спиртов и было установлено, что критическая концентрация неэлектролита зависит от длины и степени разветвленности его углеводородной цепочки: $C_{мет\ кр} < C_{эт\ кр} < C_{изо-пр\ кр} < C_{н-пр\ кр} < C_{трет-бут\ кр}$. В пределах погрешности эксперимента $C_{кр}$ совпадает с концентрацией, при которой происходит изменение структуры растворителя, наблюдаемое в исследованиях термодинамических, спектральных и других свойств спиртово-водных смесей [14—20]. Авторы этих работ указывают, что при концентрации спирта $C_{сп} < C_{кр}$ гидрофобные группы спирта располагаются в полостях рыхлой структуры воды, а ОН-группы участвуют в образовании водородных связей с молекулами воды. При этом происходит стабилизация структуры воды, т.е. увеличивается прочность водородных связей между молекулами воды, контактирующими с неполярными группами, вследствие затруднения их вращений. Когда концентрация спирта увеличивается до $C_{кр}$, его гидрофобные группы перестают уместиться в водных полостях и происходит разрушение структуры воды. При $C_{сп} > C_{кр}$ возникает новая структура растворителя, в которой увеличивается число контактов молекул воды с неполярными группами спирта [20]. Авторы [11—13] сделали вывод, что изменение объема ДНК, наблюдаемое при $C_{сп} = C_{кр}$, связано с перестройкой структуры смешанного растворителя. Интересно отметить, что с ростом концентрации соли в растворе величина относительного снижения $V_{уд}$ ДНК при $C_{сп} = C_{кр}$ уменьшается, и при $\mu > 0,1$ М NaCl кооперативный переход исчезает вовсе — объем макромолекулы остается неизменным [11—13]. Само же значение $C_{кр}$ не зависит от концентрации соли.

Известно, что алифатические спирты являются перехватчиками ОН-радикалов и тем самым способны защищать биологические макромолекулы от косвенного действия радиации [21, 22]. Исследование γ -облученных растворов ДНК, содержащих этанол, показало, что зависимость удельного объема облученной макромолекулы от $C_{эт}$ имеет особенность при $C_{эт} = C_{кр}$ [23—25]. Было показано, что в области $C_{эт} < C_{кр}$ с увеличением содержания этанола уменьшается действие радиации на $V_{уд}$ ДНК. Авторы [23—25] предположили, что это связано с радиопротекторными свойствами этанола. В области $C_{эт} > C_{кр}$ наблюдалась инверсия дозовой зависимости $V_{уд}$ ДНК по сравнению с ее поведением в водном и водно-этанольном растворе при $C_{эт} < C_{кр}$ — с ростом дозы облучения объем макромолекулы увеличивался. Таким образом, по-

Т а б л и ц а 1

Полярность использованных в работе растворителей

Растворитель	Дипольный момент молекулы, Д [26]	ϵ ($t = 20$ °С) [27]		
		чистое вещество	водный раствор	
			($C_{сп} = 10$ вес.%)	($C_{сп} = 20$ вес.%)
Вода	1,84	80,37		
Этанол	1,68	24,98	72,35*	67,55**
изо-Пропанол	1,68	18,62	73,11	65,72
н-Пропанол	1,64	20,81	73,52	66,54

* $t = 25$ °С, $C(эт) = 12,1$ вес. %.

** $t = 25$ °С, $C(эт) = 20,8$ вес. %.

нятно, что структурные перестройки в облучаемом водно-спиртовом растворе оказывают существенное влияние на конформацию молекулы ДНК. В настоящей работе предпринято изучение конформационных параметров макромолекулы, γ -облученной в присутствии трех алифатических спиртов — этанола, *изо*- и *н*-пропанола. Использование органических соразтворителей, различающихся полярностью (табл. 1) и скоростью взаимодействия с ОН-радикалами (табл. 2), должно было помочь выявить влияние термодинамического качества растворителя и его радиопротекторных свойств на конформационные изменения молекулы ДНК в процессе γ -облучения.

Т а б л и ц а 2

Константы скорости реакций исследованных спиртов с ОН-радикалами

Спирт	$k_{OH\cdot}$, $dm^3 \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$	Литература
Этанол	$1,8 \cdot 10^9$	[28]
<i>изо</i> -Пропанол	$2,0 \cdot 10^9$	[22]
<i>н</i> -Пропанол	$2,7 \cdot 10^9$	[22]

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали ДНК фирмы Serva из тимуса теленка молекулярной массы 12 МДа. Молекулярную массу ДНК определяли по значению характеристической вязкости $[\eta]$ в растворе 0,15 М NaCl [29]. Концентрацию ДНК в растворе c определяли по методу Спирина [30]. Оптическое поглощение растворов ДНК измеряли на спектрофотометре СФ-26 (Россия). Круговой дихроизм изучали на дихрографе Mark IV (Франция). Для всех исследованных систем оценивали молярный коэффициент экстинкции $E_{260}(P)$. Использовали растворы, для которых величина $E_{260}(P)$ соответствовала нативному состоянию ДНК ($E_{260}(P) < 6900$). Этиловый спирт предварительно перегоняли. Спектры УФ поглощения перегнанного этанола свидетельствовали об отсутствии примесей, поглощающих в интересующей нас области (200—300 нм). Содержание спирта в использованных для приготовления растворов реактивах (*изо*-пропанол и *н*-пропанол марки "х. ч." не перегоняли) определяли по их плотности (измеряли пикнометрически) по справочным данным для плотностей спиртово-водных растворов [26]. Спиртово-водные растворы ДНК готовили, как описано в [23]. Относительная погрешность приготовления заданной концентрации спирта в растворах — 5 %. Концентрация электролита во всех исследуемых растворах — 0,003 М NaCl.

Растворы ДНК подвергали воздействию γ -излучения ^{60}Co в аэробных условиях на установке "Исследователь" в Петербургском институте ядерной физики им. Б.П. Константинова. Мощность дозы составляла 20 Гр/мин. Концентрация ДНК в облучаемых растворах составляла $c = 0,01$ г/дл.

Вискозиметрия. Относительную вязкость η_r растворов ДНК различной концентрации измеряли в модифицированном низкоградиентном магнитном ротационном вискозиметре [31] при разных значениях градиента скорости потока g и экстраполировали к $g = 0$. Значение характеристической вязкости находили экстраполяцией по формуле

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{(\eta_r - 1)_{g \rightarrow 0}}{c} \right).$$

Характеристическая вязкость ДНК пропорциональна удельному объему макромолекулы в растворе ($V_{уд}$). Согласно формуле Флори [32], величина $[\eta]$ связана с параметрами полимера:

$$[\eta] = \Phi \frac{(\overline{h_0^2})^{3/2}}{M} \alpha^3 = \Phi \frac{(LA)^{3/2}}{M} \alpha^3, \tag{1}$$

где $(\overline{h_0^2})^{3/2}$ — среднеквадратичное расстояние между концами невозмущенной цепи; α — коэффициент линейного набухания макромолекулы в хорошем растворителе; Φ — коэффициент Флори; L — гидродинамическая длина макромолекулы; A — длина статистического сегмента, M — молекулярная масса ДНК. Таким образом, величина $[\eta]$ определяется как близкими

взаимодействиями в цепи ДНК, т.е. жесткостью макромолекулы A , так и дальними взаимодействиями α — ее набуханием в хорошем растворителе. Коэффициент линейного набухания α молекулы полиэлектролита, находящейся в растворе, имеет две составляющие: $\alpha = \alpha_{el} + \alpha_t$, α_{el} определяется электростатическим расталкиванием далеких по цепи звеньев и характерно только для полиэлектролитов; α_t — определяется термодинамическим сродством полимера и растворителя и проявляется как для полиэлектролитов, так и для незаряженных полимеров [33].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе изучали гидродинамические и спектральные параметры молекулы ДНК в растворах, содержащих различные концентрации этанола, *изо*- и *н*-пропанола в интервале 0—23 вес.%, подвергнутых действию γ -излучения в дозах 0—30 Гр. Полученная нами зависимость характеристической вязкости необлученной ДНК молекулярной массы 12 МДа от концентрации неэлектролита показана на рис. 1. Видно, что падение $[\eta]$ ДНК при достижении критической концентрации спирта тем больше, чем более гидрофобный спирт присутствует в растворе. Отметим, что для вычисления $[\eta]$ ДНК используется экстраполяция экспериментальной зависимости приведенной вязкости $\left(\frac{(\eta_r - 1)_{g \rightarrow 0}}{c}\right) = f(c)$ к $c = 0$. Для получения растворов разной

концентрации ДНК мы использовали растворитель, имеющий ту же концентрацию спирта и электролита NaCl. На рис. 2 приведены примеры полученных зависимостей. Их линейный характер в области малых c свидетельствует об изоионности разбавления и дает возможность корректно определить $[\eta]$ ДНК.

Наблюдаемое поведение $V_{уд}$ необлученной ДНК в спиртово-водных растворах (см. рис. 1) хорошо согласуется с полученными ранее результатами для образцов ДНК большей молекулярной массы ($M = 28$ МДа) [11—13]. В этих работах показано, что равновесная жесткость макромолекулы не претерпевает изменений в диапазоне концентраций данных соразтворителей 0—23 вес.%. Таким образом, согласно формуле Флори (1) падение $[\eta]$ ДНК обусловлено только изменением объемных эффектов в цепи макромолекулы (коэффициента α), т.е. скачкообразным изменением взаимодействия полимер—растворитель. Понятно поэтому, что наблюдаемые объемные эффекты нельзя объяснить изменением диэлектрической проницаемости среды — ϵ спиртово-водной смеси уменьшается монотонно и плавно с ростом концентрации спирта. Независимость $C_{кр}$ для всех исследованных в работах [11—13] органических соразтворителей от

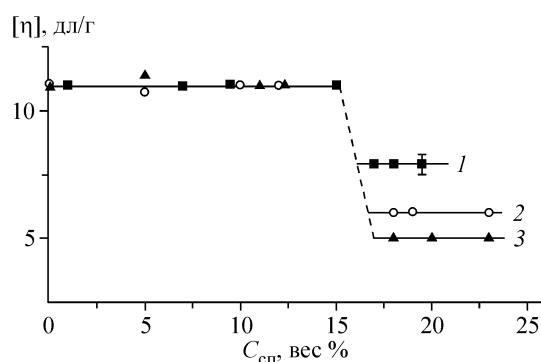


Рис. 1. Зависимость характеристической вязкости ДНК от концентрации алифатических спиртов в растворе: 1 — этанол, 2 — *изо*-пропанол, 3 — *н*-пропанол ($\mu = 0,003$ М NaCl)

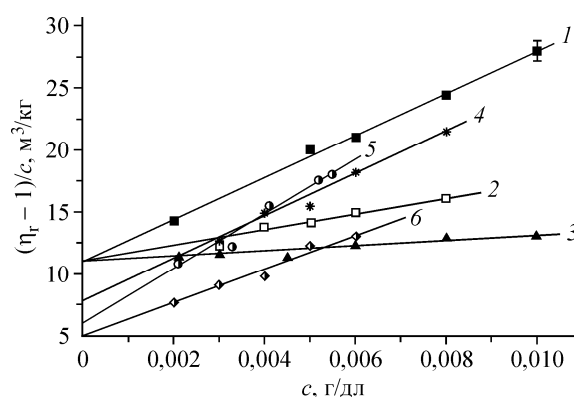


Рис. 2. Зависимость приведенной вязкости растворов ДНК от концентрации ДНК в растворах с различным содержанием спиртов: 1 — $C_{сп} = 0$, 2 — $C_{сп} = 10$ вес.%, 3 — $C_{изо} = 10$ вес.%, 4 — $C_{сп} = 18$ вес.%, 5 — $C_{изо-пр} = 18$ вес.%, 6 — $C_{н-пр} = 18$ вес.%

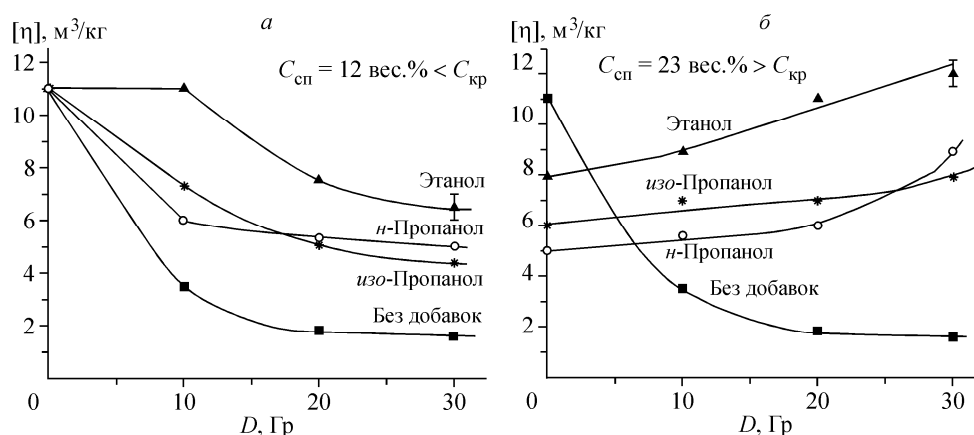


Рис. 3. Дозовые зависимости характеристической вязкости ДНК, облученной в водно-спиртовых растворах

ионной силы раствора свидетельствует, по мнению авторов, о неэлектролитной природе наблюдаемого явления. Иными словами, наблюдаемые объемные эффекты обусловлены изменением α_t , тогда как $\alpha_{\text{ел}}$, чувствительное к изменению экранировки, остается неизменным. Постоянство $[\eta]$ ДНК при $C_{\text{сп}} < C_{\text{кр}}$ может объясняться тем, что в этом интервале концентраций спиртов предположительно отсутствуют контакты ДНК—спирт. Когда при $C_{\text{сп}} > C_{\text{кр}}$ возникает новая структура растворителя, термодинамическое качество растворителя для ДНК скачкообразно ухудшается. Можно предположить, что при $C_{\text{сп}} > C_{\text{кр}}$ возникают контакты ДНК—спирт. Отметим, что в данном случае снижение $[\eta]$ ДНК не связано с ее высаживанием в спиртово-водных растворах, так как авторы [11—13] доказали для образца ДНК $M = 28$ МДа отсутствие высаживания при $C_{\text{сп}} \leq 30$ вес.%. Таким образом, для используемого нами образца ДНК $M = 12$ МДа высаживание еще менее вероятно.

Обратимся к результатам исследования γ -облученных водно-спиртовых растворов ДНК. На рис. 3, а представлены дозовые зависимости $[\eta]$ ДНК при $C_{\text{сп}} = 12$ вес.% $< C_{\text{кр}}$ для всех исследуемых спиртов. В водном растворе удельный объем ДНК резко снижается с ростом дозы облучения, что хорошо согласуется с известными данными [34, 35]. Присутствие спиртов в растворе уменьшает действие радиации на $V_{\text{уд}}$ ДНК, причем наибольший эффект достигается в водно-этанольных растворах. В меньшей степени влияют на действие радиации на $V_{\text{уд}}$ ДНК *н*- и *изо*-пропанола. Следует отметить, что подобное влияние спиртов на объем макромолекулы в облученных растворах не может быть объяснено только тем, что спирты перехватывают ОН-радикалы и таким образом защищают макромолекулу от радиационных повреждений (хотя, безусловно, спирты реагируют с ОН-радикалами, возникающими при радиоллизе воды, и эти процессы должны вносить свой вклад в наблюдаемые нами эффекты). В табл. 2 приведены константы скорости реакций исследуемых спиртов с ОН-радикалами. Видно, что для этанола $k_{\text{ОН}}$ имеет наименьшее значение, т.е. среди исследуемых спиртов он наихудший перехватчик.

При концентрации органического компонента больше критической ($C_{\text{сп}} = 23$ вес.% $> C_{\text{кр}}$) наблюдается инверсия дозовой зависимости $[\eta]$ ДНК по сравнению с характером зависимости при $C_{\text{сп}} < C_{\text{кр}}$ (см. рис. 3, б) — $V_{\text{уд}}$ ДНК растет с увеличением дозы облучения. На наш взгляд, вероятность образования межмолекулярных сшивок (которые могли бы повлечь рост $[\eta]$ ДНК с ростом дозы облучения) в рассматриваемых условиях крайне мала как из-за небольшой концентрации ДНК в облучаемых растворах, так и из-за дополнительной компактизации необлученной макромолекулы при $C_{\text{сп}} > C_{\text{кр}}$ (см. рис. 1). В этой области концентраций так же, как и при $C_{\text{сп}} < C_{\text{кр}}$, наибольшие значения $V_{\text{уд}}$ ДНК наблюдаются в облученных водно-этанольных растворах.

Отметим, что спектры КД ДНК, полученные для всех исследованных систем, соответствуют В-форме, хотя и обнаруживают незначительные изменения по сравнению со спектром интактной ДНК в водном растворе. На рис. 4 для примера показаны спектры КД ДНК, облученной в водно-

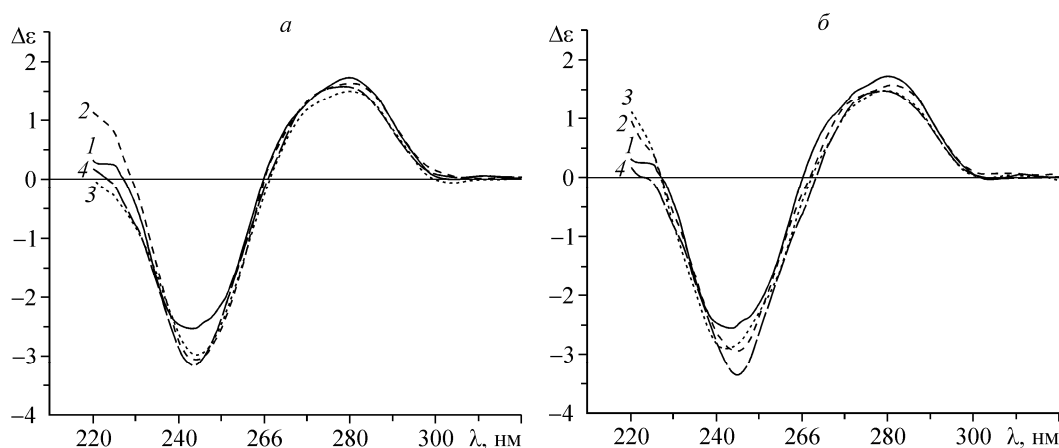


Рис. 4. Спектры КД ДНК при разных дозах облучения.
 а: 1 — $C_{\text{сп}} = 0$, $D = 0$, $C_{\text{изо-пр}} = 12$ вес.%; 2 — $D = 0$; 3 — $D = 10$ Гр; 4 — $D = 30$ Гр; б: 1 — $C_{\text{сп}} = 0$, $D = 0$, $C_{\text{изо-пр}} = 23$ вес.%; 2 — $D = 0$; 3 — $D = 10$ Гр; 4 — $D = 30$ Гр

пропанольных растворах при $C_{\text{изо-пр}} = 12$ вес.% $< C_{\text{кр}}$ и при $C_{\text{изо-пр}} = 23$ вес.% $> C_{\text{кр}}$ соответственно. Спектры КД ДНК, облученной в водно-этанольных растворах ионной силы 0,003 М NaCl при $C_{\text{эт}} < C_{\text{кр}}$ и $C_{\text{эт}} > C_{\text{кр}}$ приведены ранее в работе [25].

Резюмируя, можно сделать следующие заключения относительно наблюдаемого поведения $V_{\text{уд}}$ ДНК, γ -облученной в водно-спиртовых растворах. Как в случае $C_{\text{сп}} < C_{\text{кр}}$, так и в случае $C_{\text{сп}} > C_{\text{кр}}$ мы наблюдаем изменение взаимодействия полимер—растворитель под действием облучения. Это может объясняться тем, что γ -облучение модифицирует свойства как ДНК, так и растворителя. Но если при $C_{\text{сп}} < C_{\text{кр}}$ с ростом дозы облучения сродство ДНК к растворителю уменьшается, то при $C_{\text{сп}} > C_{\text{кр}}$, наоборот, — облучение приводит к дополнительному набуханию макромолекулы (на рис. 3, б видно, что объем ДНК, облученной дозой 30 Гр в водно-этанольном растворе с $C_{\text{эт}} = 23$ вес.% сравнялся с объемом интактной макромолекулы в водно-солевом растворе без органических добавок). При этом в обоих случаях наибольшее сродство ДНК проявляет к этанолу — наименее гидрофобному из всех исследованных спиртов. Безусловно, существенную роль в наблюдаемых эффектах играет перестройка структуры спиртоводного растворителя, происходящая при $C_{\text{кр}}$. Способность же спиртов конкурировать с ДНК за ОН-радикалы, судя по всему, не является определяющим фактором в наблюдаемом явлении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. — М.: Мир, 1987.
2. Брандтс Д.Ф. В сб.: Структура и стабильность биологических макромолекул. Пер. с англ. / Под ред. М.В. Волькенштейна. — М.: Мир, 1973.
3. Herskovits T. // Arch. Biochem. Biophys. — 1962. — **97**. — P. 474.
4. Ivanov V.I., Minchenkova L.E., Schyolkina A.K. et al. // Biopolymers. — 1973. — **12**. — P. 89.
5. Malenkov G., Minchenkova L., Minyat E. et al. // FEBS Lett. — 1975. — **51**, N 1. — P. 38.
6. Zimmerman S.B., Pfeiffer B.H. // J. Mol. Biol. — 1979. — **135**. — P. 1023.
7. Huey R., Mohr S.C. // Biopolymers. — 1981. — **20**. — P. 2533.
8. Zheng J., Li Zh., Wu A. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2002. — **299**. — P. 910.
9. Arscott P.G., Ma C., Wenner J.R., Bloomfield V.A. // Biopolymers. — 1995. — **36**. — P. 345.
10. Райхардт К. Растворители и эффекты среды в органической химии. — М.: Мир, 1991.
11. Frisman E.V., Veselkov A.N., Slonitsky S.V. et al. // Biopolymers. — 1974. — **13**. — P. 2169.
12. Frisman E.V., Slonitsky S.V., Veselkov A.N. // Int. J. Quant. Chem. — 1979. — **16**. — P. 847.
13. Веселков А.Н., Фрисман Э.В. // Молек. биол. — 1979. — **13**, N 1. — С. 184.
14. Franks F., Ives D.J.G. // Quart. Rev. (London). — 1966. — **20**. — P. 1.
15. Белоусов В.П., Кочнев И.Н., Сидорова А.И. В сб.: Молекулярная физика и биофизика водных систем. Вып. 2. / Под ред. А.И. Сидоровой. — Л.: ЛГУ, 1974. — С. 3.
16. Вукс М.Ф. Там же. — С. 16.

17. Свищев И.М., Гончаров В.В. // Журн. структур. химии. – 1990. – **31**, № 3. – С. 71.
18. Ланишина Л.В., Дакар Г.М. // Журн. физ. хим. – 1996. – **70**, № 3. – С. 411.
19. Zana R., Eljebari M.J. // J. Phys. Chem. – 1993. – **97**. – P. 11134.
20. Finney J.L., Bowron D.T., Soper A.K. // J. Phys.: Condens. Matter. – 2000. – **12**. – P. A123.
21. Siddiqi M.A., Bothe E. // Rad. Res. – 1987. – **112**. – P. 449.
22. Worm K.H., Klimczak U., Schulte-Frohlinde D. // Int. J. Rad. Biol. – 1993. – **64**, N 5. – P. 485.
23. Фрисман Э.В., Зарубина О.П., Зырянова И.М. и др. // Биофизика. – 1997. – **42**, вып. 1. – С. 117.
24. Пастон С.В., Сушко М.Л., Мельник Б.С. и др. // Там же. – 2002. – **47**, вып. 3. – С. 453.
25. Пастон С.В., Замотин В.В., Зырянова И.М. // Радиационная биология. Радиационная экология. – 2003. – **43**, № 6. – С. 633.
26. Никольский Б.П., Григоров О.Н., Позин М.Е. и др. Справочник химика. Т.1. – М.: Госхимиздат, 1963.
27. Ахадов Я.Ю. Диэлектрические свойства бинарных растворов. – М.: Наука, 1977.
28. Schuessler H., Schmerler-Dremel G., Danzer J. et al. // Int. J. Rad. Biol. – 1992. – **62**, N 5. – P. 517.
29. Eigner J., Doty P. // J. Mol. Biol. – 1965. – **12**. – P. 549.
30. Спиринов А.С. // Биохимия. – 1958. – **23**. – С. 656.
31. Фрисман Э.В., Щагина Л.В., Воробьев В.И. // Коллоидн. журн. – 1965. – **27**. – С. 130.
32. Flory P. Principles of the polymer chemistry. – N. Y.: Cornell Univ. Press, 1953.
33. Цветков В.Н., Эскин В.Е., Френкель С.Я. Структура макромолекул в растворах. – М.: Наука, 1964.
34. Фрисман Э.В., Зарубина О.П. // Докл. АН СССР. – 1988. – **298**, № 2. – С. 491.
35. Frisman E.V., Zarubina O.P. // Biophys. Chem. – 1993. – **46**. – P. 37.