

Синтез 5'-кон'югатів олігонуклеотидів з інтеркалятором імідазофеназином

І.Я. Дубей^{1*}, Л.В. Дубей¹, Д.М. Федоряк², В.М. Зозуля³

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Акад. Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

² Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України
вул. Мурманська, 1, Київ, 02094, Україна

³ Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України
просп. Леніна, 47, Харків, 61103, Україна

Резюме. Отримано новий кон'югат модельного 15-членного олігонуклеотиду (Tr)₁₄T з інтеркалятором імідазо[4,5-*b*]феназином. Для синтезу модифікованого оліготимідилату використано реакцію N1-карбоксіалкільної похідної імідазофеназину з 5'-аміноалкіл-функціоналізованим олігонуклеотидом у присутності фосфонієвого конденсуючого реагенту ВОР. Вивчено деякі спектральні характеристики міченого олігомеру.

Ключові слова: олігонуклеотидні кон'югати, інтеркалятори, твердофазний синтез, функціоналізація, фосфонієві реагенти.

Вступ. Ключовими проблемами антисенсної технології є стабільність гібридаційних комплексів, ефективність клітинного транспорту олігонуклеотидних реагентів та їх стійкість до дії нуклеаз. Для підвищення ефективності олігонуклеотидів запропоновано широкий спектр методів їх модифікації, що базуються на змінах фосфодієфірного скелета чи структури вуглеводних і гетероциклічних фрагментів олігонуклеотидів або на приєднанні до них груп різної природи [1-6]. Олігонуклеотиди, до яких ковалентно приєднані інші молекули, широко застосовуються в молекулярно-біологічних дослідженнях, медицині й біотехнології як зонди для детекції нуклеїнових кислот (НК), праймери для їх секвенування і полімеразної ланцюгової реакції, антисенсні реагенти тощо. Отримано кон'югати олігонуклеотидів із флуорофорами, пептидами й білками,

ліпофільними молекулами, хімічними нуклеазами та сполуками інших класів.

Для ковалентного зв'язування з олігонуклеотидами часто застосовуються планарні ароматичні й гетероароматичні структури, що за рахунок інтеркаляції здатні стабілізувати гібридаційні комплекси олігонуклеотидів із комплементарними нуклеотидними послідовностями. Крім того, кон'югати інтеркаляторів можна детектувати за власною флуоресценцією приєданого хромофора, яка до того ж часто різко зростає при гібридації кон'югату із НК-мішенню. Спектр інтеркаляторів, які приєднували до олігонуклеотидів, досить широкий і включає акридин, профлавін, етидій, пірен, фенантридин, антрацен, антрахінон, ціаніни, феназин та ін. [7, 8]. Такі групи, як правило, вводять по кінцях послідовності постсинтетично через відповідний лінкер [1-10].

Тетрациклічні системи імідазофеназинового ряду відомі як ефективні інтеркалятори. Раніше був описаний синтез модифікованих олігонуклеотидів, що містять у своєму складі глікозиди імідазофеназину **1** (рис. 1) у різних

* Corresponding author.

Tel.: +38044-5265598

E-mail address: dubey@imbg.org.ua

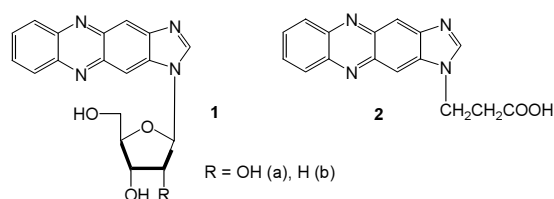


Рис. 1. Структури похідних імідазо[4,5-*b*]феназину.

положеннях [11, 12]. У ряді наших попередніх робіт показано, що залишки цього інтеркалятора, приєднані до олігонуклеотидів, різко підвищують стабільність їх дуплексних та триплексних гібридизаційних комплексів [13–15]. Відповідно до цього модифіковані олігонуклеотиди виявились активними антимікробними препаратами, що ефективно інгібують транскрипцію і трансляцію в молюсків [16–18]. Проте похідні імідазофеназинових нуклеозидів, необхідні для такого варіанта модифікації, отримують складним багатостадійним синтезом. У цій роботі запропоновано новий спрощений варіант синтезу олігонуклеотидів, які містять інтеркалятор у 5'-кінцевому положенні, з використанням раніше запропонованого нами [19] реагенту **2** — похідної інтеркалятора з карбоксилалкільним лінкером.

Матеріали і методи. В роботі використано безводний 1-оксибензотриазол (НОВТ), бензотриазол-1-ілокситріс(диметиламіно)фосфоній гексафторфосфат (ВОР) і 1,1'-карбонілдіімідазол (Aldrich, США), тріс(гідроксиметил)-амінометан, акриламід і метилен-біс-акриламід для електрофорезу (Sigma, США). Інші реагенти й розчинники виробництва «Макрохім» (Україна). Ацетонітрил переганяли над P_2O_5 та гідридом кальцію, діоксан і *N*-метилморфолін — над NaOH, диметилформамід — у вакуумі. Тонкошарову хроматографію (ТШХ) здійснювали на пластинках Kieselgel 60F₂₅₄ (Merck, Німеччина) в системі хлороформ-метанол 9:1. Спектри поглинання записували на спектрофотометрі Specord M40 (Karl Zeiss Jena, Німеччина). Високоєфективну обернено-фазову рідинну хроматографію (ВЕРХ) олігонуклеотидів проводили на хроматографі Agilent 1100 Series system (Agilent Technologies, США) на колонці Hypersil BDS C18 (3 μ m, 4,6x50 мм, ThermoHypersil, США) в градієнті 0–40 % CH_3CN у 50 мМ триетиламоніацетатному буфері (рН 7,5) за

швидкості потоку 1 мл/хв. Теоретичні коефіцієнти екстинкції олігонуклеотидів за 260 нм обчислювали, як описано в роботі [20]. 3-(*N*1-Імідазо[4,5-*b*]феназил)пропіонову кислоту **2** синтезували за методом [19].

5'-Аміногексил-модифікований пентадекатимідилат **3.** Синтез олігонуклеотиду (Tr)₁₄T проводили стандартним твердофазним фосфітамідним методом на синтезаторі Cyclone Plus (Milligen/Bioscience, США) в масштабі 0,25 мкмоль із використанням реагентів цієї ж фірми. Після завершення нарощування послідовності на 5'-кінець олігонуклеотиду, приєданого до полімерного носія, вводили аміноалкільну групу карбонілдіімідазолідним методом [21]. Детритильований полімер обробляли 1 мл 0,3 М розчину карбонілдіімідазолу в сухому діоксані протягом 45 хв, промивали діоксаном (5x1 мл), а далі витримували в 1 мл 0,2 М розчину гексаметилендіаміну в суміші діоксан-вода 9:1 (45 хв). Полімер промивали діоксаном (3x1 мл), метанолом (3x1 мл) та ефіром (3x1 мл). Олігонуклеотид, що містить аліфатичну аміногрупу, відщеплювали від полімеру за допомогою обробки носія концентрованим аміаком (ніч за кімнатної температури), знесолювали за допомогою гель-фільтрації на колонці PD-10 (Pharmacia, Швеція) та виділяли препаративним гель-електрофорезом в 20%-му поліакриламідному гелі. Обчислений для олігомеру (Tr)₁₄T за методом [20] теоретичний коефіцієнт екстинкції $\epsilon_{260} = 1,22 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Синтез 5'-імідазофеназин-модифікованого олігонуклеотиду **4.** Реагент **2** інкубували з ВОР (5 екв.), НОВТ (5 екв.) і *N*-метилморфоліном (10 екв.) у сухому ДМФ 45 хв за 40 °С. Процес активації контролювали за допомогою ТШХ. До розчину 5'-аміноалкільованого (Tr)₁₄T (4,8 A₂₆₀, 40 нмоль) у 200 мкл 0,1 М натрій-карбонатного буфера (рН 8,5) додавали активований імідазофеназиновий реагент (10 екв., 0,4 мкмоль у 100 мкл ДМФ). Реакційну суміш інкубували 2 год за 40 °С. Перебіг реакції контролювали за допомогою аналітичної обернено-фазової хроматографії. Суміш розбавляли водою (300 мкл) і виділяли олігонуклеотидний матеріал гель-фільтрацією на колонці PD-10. Кон'югат **4** виділяли електрофорезом у 20%-му поліакриламідному гелі. Після елюції з гелю продукт знесолили на колонці PD-10. Вихід

очищеного кон'югату становив 2,1 A_{266} (~30 %, якщо прийняти для 4 $\epsilon_{266} = 1,94 \times 10^5$ — див. Результати й обговорення). УФ-спектр: λ_{\max} 266, 386 нм, $A_{266}/A_{386} = 9,1$.

Результати й обговорення. Ковалентне приєднання інтеркаляторів до олігонуклеотидів значно підвищує стабільність комплексів модифікованих олігомерів з комплементарними полінуклеотидними послідовностями, часто покращує транспорт олігонуклеотидів у клітину та стійкість олігонуклеотидних реагентів до дії клітинних нуклеаз. Класичними інтеркаляторами є катіонні феназинієві похідні. N-(2-гідроксиетил)феназинієві групи вводили в олігонуклеотиди шляхом окислювального амінування барвника аміногрупою попередньо введеного в олігомер аміноалкільного лінкера. Такий інтеркалятор різко підвищує стійкість комплементарних комплексів олігонуклеотид-мішень [22, 23].

Нейтральна похідна феназину — імідазо[4,5-*b*]феназин — подібна за структурою до тетрациклічних хромофорів глікозидних інтеркаляторів адриаміцину й дауноміцину. На основі спектрально-флуоресцентних досліджень встановлено, що похідні імідазофеназину взаємодіють із нуклеїновими кислотами за механізмом інтеркаляції, стабілізуючи полінуклеотидні дуплекси [24, 25].

У роботах А.С. Шаламая та ін. запропоновано оригінальний підхід до синтезу мічених олігонуклеотидів — уведення в олігомери N1-рибозиду імідазо[4,5-*b*]феназину **1** [11, 12]. В отриманих модифікованих олігонуклеотидах хромофор заміщує основу в потрібному положенні нуклеотидної послідовності, зв'язуючись із вуглеводним залишком глікозидним зв'язком. Стратегія синтезу включає одержання похідної нуклеозиду імідазофеназину, придатної до введення в олігонуклеотид. Відповідний нуклеозид отримують багатостадійним синтезом, ключовим етапом якого є стереоселективна конденсація гетероциклічної основи й захищеної рибози в присутності активатора [26]. Отриманий рибонуклеозид **1a**, що містить як аглікони імідазофеназинову гетероароматичну систему, включали в олігонуклеотидні послідовності. Для синтезу модифікованих олігонуклеотидних послідовностей, що містять аномальний нуклеозид на 3'-кінці, його імобі-

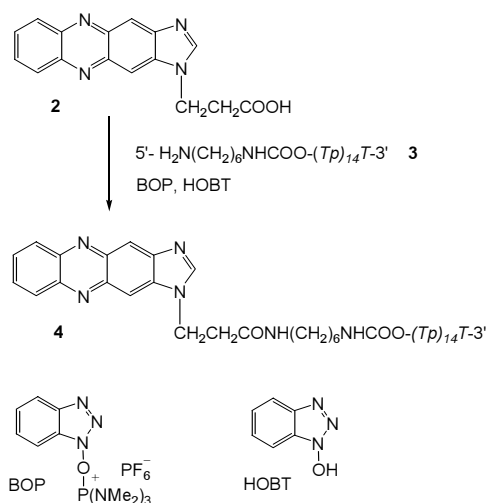
лізують на полімерному носії через 2'(3')-гідроксильну групу. 3'-Фосфорильовані похідні 5'-захищеного дезоксинуклеозиду **1b**, який отримують через селективне 2'-дезоксигенування рибозиду **1a**, можна вводити в олігонуклеотиди в процесі твердофазного синтезу як звичайні Р-компоненти [12].

Хоча подібні реагенти можна включити в будь-яке положення нуклеотидної послідовності, все ж найчастіше в медико-біологічних дослідженнях використовують 5'-модифіковані олігонуклеотиди. Для приєднання імідазофеназину до 5'-кінця олігомерів можна запропонувати простіший підхід, в якому замість рибозидів використовують певні похідні гетероциклу, що містять реакційноздатні групи, які можуть взаємодіяти з відповідними функціоналізованими олігонуклеотидами. Очевидним варіантом кон'югації могла б бути реакція 5'-аміноалкіл-модифікованого олігомеру з карбоксильною похідною інтеркалятора з утворенням амідного зв'язку. Такі похідні отримати значно простіше від нуклеозидів.

Недавно ми запропонували ряд нових реагентів на основі імідазофеназину, що містять карбоксильну, Н-фосфонатну чи гідроксильну групу на аліфатичному лінкері та можуть використовуватися для введення інтеркалятора в біомолекули [19]. Карбокси-модифікований імідазофеназин **2** може застосовуватися для ковалентного приєднання до аміноалкіл-олігонуклеотидів у присутності карбодімідів чи інших конденсуючих реагентів або ж після перетворення в активований ефір (найчастіше N-гідроксисукцинімідний). Олігонуклеотиди зручно модифікувати цим реагентом через 5'-термінальний аміноалкільний лінкер, хоча аліфатичну аміногрупу для реакції можна ввести в будь-яке положення олігонуклеотиду (3'-кінець, міжнуклеотидні фосфати, гетероциклічні основи та ін.), тому інтеркалятор може бути приєднаний в заданому місці послідовності. Методи функціоналізації олігонуклеотидів аміноалкільними групами добре розроблені [1-5, 9, 10].

У цій роботі реагент **2** застосовували для модифікації модельного 15-членного олігодезоксирибонуклеотиду (Tr)₁₄T. Мічення проведено через попередньо приєднану до 5'-кінця олігомеру аміноалкільну групу. Аміногек-

Схема 1
Постсинтетична 5'-модифікація
пентадекатимідилату імідазофеназином



сильний лінкер вводили твердофазним карбонілдіімідазольним методом [21]: спочатку деблоковану 5'-ОН-групу олігонуклеотиду безпосередньо на полімері активували 1,1'-карбонілдіімідазолом, після чого проводили реакцію проміжного імідазоліду з гексаметилендіаміном. Функціоналізований таким чином оліготимідилат **3** очищали електрофорезом в поліакриламідному гелі, де він мігрує повільніше за немодифікований олігомер. При обернено-фазовій хроматографії аміно-модифіковані олігонуклеотиди також мають більший час утримання.

Реагент **2** взаємодіяв із 5'-аміноалкілюваним $(Tr)_{14}T$, як показано на схемі 1. У реакції конденсації використали фосфонієвий активуючий реагент ВОР у присутності каталізатора 1-оксибензотриазолу (НОВТ). Система

ВОР-НОВТ є ефективним конденсуючим реагентом і широко застосовується в біоорганічній хімії для створення амідного зв'язку, у т.ч. при отриманні олігонуклеотидних кон'югатів і полімерних носіїв для твердофазного синтезу [27-30]. У реакцію з модифікованим олігомером **3** вводили 10-кратний надлишок похідної імідазофеназину. Реакція активованого ліганду з аліфатичною аміногрупою олігонуклеотиду досить швидка (1,5-2 год), і в ній досягається практично кількісна трансформація вихідного амінокомпонента. Хід реакції контролювали за допомогою аналітичної обернено-фазової ВЕРХ. Час утримання кон'югату на колонці вищий порівняно з вихідним олігомером **3** за рахунок гідрофобної гетероциклічної системи імідазофеназину. Профіль ВЕРХ реакційної суміші наведено на рис. 2. Як видно з хроматограми, вихідний аміноалкіл-оліготимідилат (час утримання 4,5 хв, положення вказане стрілкою) через 2 год реакції практично повністю зник у реакційній суміші, переходячи в основний продукт із часом утримання 6,2 хв.

Кон'югат **4** виділяли за допомогою препаративного гель-електрофорезу. Вихід очищеного продукту становив близько 30 % у розрахунку на введений у реакцію амінований оліготимідилат. Продукти, що містять хромофор імідазофеназину, легко виявляються в гелі при його довгохвильовому УФ-опромінуванні (365 нм) у вигляді смуг з яскравою жовтою флуоресценцією. Відмітимо, що інтенсивна флуоресценція цього інтеркалятора робить його зручною репортерною групою для детекції НК і вивчення процесів комплексоутворення.

В електронному спектрі поглинання кон'ю-

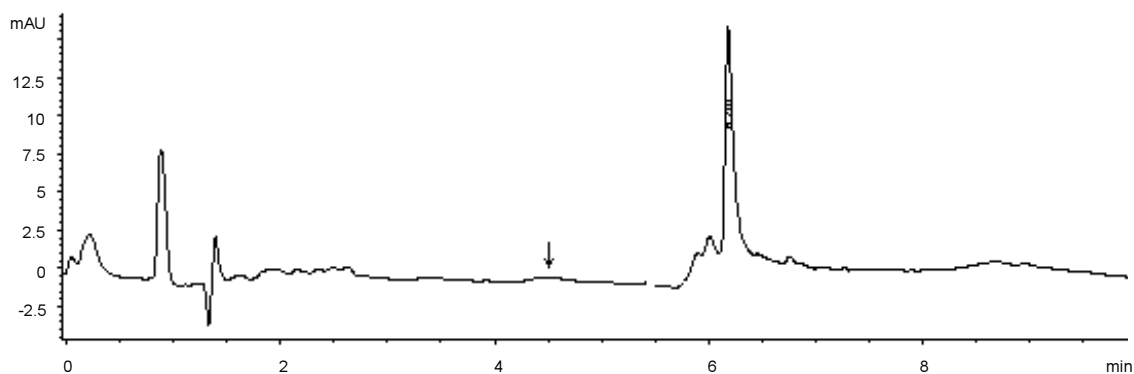


Рис. 2. Профіль обернено-фазової ВЕРХ реакційної суміші, отриманої при синтезі олігонуклеотидного кон'югату імідазофеназину через 2 год реакції (детекція за 260 нм). Положення вихідного аміноалкіл-олігомеру **3** вказане стрілкою.

гату (рис. 3) поряд зі смугою УФ-поглинання за 250–270 нм спостерігається смуга адсорбції у видимій ділянці (370–400 нм). Спектр є суперпозицією спектрів поглинання оліготимідилату й імідазофеназину. В УФ-області смуги поглинання інтеркалятора (для вільного барвника $\lambda_{\max}=264$ нм) і гетероциклічних основ оліготимідилату ($\lambda_{\max}=266$ нм) практично збігаються. Поглинання імідазофеназинового хромофора у видимій ділянці спектра, де олігонуклеотид не поглинає, має одну відносно широку смугу з максимумом за 386 нм.

При ковалентному приєднанні імідазофеназину до 5'-кінця оліготимідилату спостерігається невеликий червоний зсув у видимій області (приблизно на 1 нм), як і у випадку глікозиду інтеркалятора [13]. При цьому співвідношення інтенсивностей поглинання модифікованої послідовності в ультрафіолетовій і видимій областях знаходиться в хорошій відповідності з величиною, розрахованою за коефіцієнтами екстинкції фрагментів інтеркалятора й оліготимідилату. Приймавши для N1-заміщеного $\epsilon_{264}=6,5 \times 10^4$ [26] і величину довгохвильового поглинання $\epsilon_{385}=2,2 \times 10^4$ для цього інтеркалятора в складі олігонуклеотидів [14], а для оліготимідилату використавши коефіцієнт екстинкції $8600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (на моль нуклеотида) за 266 нм [31], тобто $\epsilon_{266}=1,29 \times 10^5$ для 15-членного олігомеру, отримаємо співвідношення інтенсивностей в максимумах поглинання в ультрафіолетовій і видимій областях близько 8,8, що дуже добре узгоджується з експериментальним значенням $A_{266}/A_{386}=9,1$ і тим самим

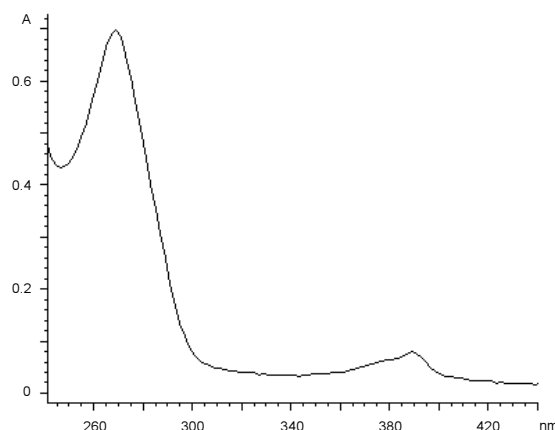


Рис. 3. Спектр поглинання очищеного імідазофеназинового кон'югату **4** (0,05 М триетиламонійбікарбонатний буфер, рН 7,5).

підтверджує чистоту продукту. Спектрально-флуоресцентні властивості отриманого кон'югату **4** та його взаємодія з нуклеїновими кислотами зараз детально вивчаються і будуть предметом наступних публікацій.

Отже, у цій роботі описано синтез нового типу кон'югатів олігонуклеотидів з інтеркалятором імідазо[4,5-*b*]феназином. Карбоксиалкільна похідна імідазофеназину є досить легкодоступним реагентом, на відміну від нуклеозидів і нуклеотидів на основі цього гетероциклу. Постсинтетичне мічення олігонуклеотидів таким реагентом проходить швидко і з високою ефективністю.

Роботу виконано за підтримки УНТЦ (грант № 3172).

Надійшла в редакцію 18.12.2006 р.

Synthesis of oligonucleotide 5'-conjugates with imidazophenazine intercalating agent

I.Ya Dubey¹, L.V. Dubey¹, D.M. Fedoryak², V.M. Zozulya²

¹ Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine
150 Zabolotny Str., Kyiv, 03143, Ukraine

² Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, NAS of Ukraine
1 Murmanska Str., Kyiv, 02094, Ukraine

³ B.I. Verkin Institute for Low Temperature Physics & Engineering, NAS of Ukraine
47 Lenin ave., Kharkiv, 61103, Ukraine

Summary. New conjugate of the model 15-mer oligonucleotide (Tp)₁₄T with imidazo[4,5-*b*]phenazine intercalating agent was obtained. Reaction of N1-carboxyalkyl derivative of imidazophenazine with 5'-aminoalkyl-functionalized oligonucleotide in the presence of phosphonium coupling reagent BOP was used for the synthesis of modified oligothymidylate. Some spectral characteristics of the labeled oligomer were studied.

Keywords: oligonucleotide conjugates, intercalating agents, solid phase synthesis, functionalization, phosphonium reagents.

Перелік літератури

1. *Uhlmann E., Peyman A.* Antisense oligonucleotides: a new therapeutic principle // *Chem. Rev.* — 1990. — Vol. 90, No. 4. — P. 543-584.
2. *Goodchild J.* Conjugates of oligonucleotides and modified oligonucleotides: a review of their synthesis and properties // *Bioconjugate Chem.* — 1990. — Vol. 1, No. 3. — P. 165-187.
3. *English U., Gauss D.H.* Chemically modified oligonucleotides as probes and inhibitors // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* — 1991. — Vol. 30, No. 6. — P. 613-629.
4. *Protocols for oligonucleotide conjugates: synthesis and analytical techniques* (Ed. by Agrawal S.). *Methods in molecular biology*, Vol. 26. — Humana Press: Totowa, New Jersey. — 1993. — 390 pp.
5. *Synthesis of modified oligonucleotides and conjugates* // *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry* (Ed. by Beaucage S.L., Bergstrom D.E., Glick G.D., Jones R.A.). — John Wiley & Sons: New York. — 2003. — P. 4.0.1-4.9.28.
6. *Da Ros T., Spalluto G., Prato M., Saison-Behmoaras T., Boutorine A., Cacciari B.* Oligonucleotides and oligonucleotide conjugates: a new approach for cancer treatment // *Curr. Med. Chem.* — 2005. — Vol. 12, No. 1. — P. 71-88.
7. *Asseline U., Thuong N.T., Helene C.* Synthesis and properties of oligonucleotides covalently linked to intercalating agents // *New J. Chem.* — 1997. — Vol. 21, No. 1. — P. 5-17.
8. *Дубей І.Я.* Кон'югати олігонуклеотидів з інтеркаляторами: синтез та біологічна активність // *Ukr. Bioorg. Acta.* — 2006. — Т. 4, № 1. — P. 42-59.
9. *Beaucage S.L., Iyer R.P.* The functionalization of oligonucleotides via phosphoramidite derivatives // *Tetrahedron.* — 1993. — Vol. 49, No. 10. — P. 1925-1963.
10. *Коршун В.А., Берлин Ю.А.* Введение нерадиоактивных репортерных групп в синтетические олигонуклеотиды и их детекция // *Биоорг. химия.* — 1994. — Т. 20, № 6. — С. 565-616.
11. *Makitruk V.L., Yarmoluk S.N., Shalamay A.S., Alexeeva I.V.* Oligonucleotides modified with phenazine derivatives // *Nucleic Acids Res. Symp. Ser.* — 1991. — Vol. 24, No. 1. — P. 244.
12. *Макитрук В.Л., Шаламай А.С., Дубей І.Я., Федоряк Д.М.* Синтез та вивчення антисенсових олігонуклеотидів, модифікованих імідазофеназиновими нуклеозидами // *Биополимеры и клетка.* — 1999. — Т. 15, № 5. — С. 367-373.
13. *Зозуля В.М., Благой Ю.П., Дубей І.Я., Федоряк О.Д., Щербаківа А.С., Федоряк Д.М.* Стабілізація дуплексних та триплексних комплексів оліготимідилату ковалентно приєднаним глікозидом імідазофеназину // *Биополимеры и клетка.* — 1998. — Т. 14, № 1. — С. 54-61.
14. *Zozulya V., Shcherbakova A., Dubey I.* Calculating helix-to-coil transitions of duplexes formed by phenazine-conjugated oligonucleotide, using fluorescence melting data // *J. Fluorescence.* — 2000. — Vol. 10, No. 1. — P. 49-53.
15. *Zozulya V., Blagoi Yu., Dubey I., Fedoryak D., Makitruk V., Ryazanova O., Shcherbakova A.* Anchorage of an oligonucleotide hybridization by a tethered phenazine nucleoside analogue // *Biopolymers-Biospectroscopy.* — 2003. — Vol. 72, No. 4. — P. 264-273.
16. *Бабичев В.В., Скрипаль І.Г., Безуглий С.В., Панченко Л.П., Шаламай А.С., Макитрук В.Л., Гончаренко В.С., Шимко Н.Н.* Олигодезоксирибонуклеозиды, комплементарные участкам рибосомального оперона молликутов, как ингибиторы транскрипции in vitro // *Мікробіол. журн.* — 1993. — Т. 55, № 6. — С. 29-35.
17. *Коробкова Е.С., Панченко Л.П., Шаламай А.С., Скрипаль І.Г.* Способность олигодезоксирибонуклеотидов, комплементарных 3'-концевому участку 16S-рРНК молликутов, подавлять трансляцию на их рибосомах в системе in vitro // *Мікробіол. журн.* — 1995. — Т. 57, № 3. — С. 30-36.
18. *Skripal I.G., Babichev V.V., Panchenko L.P., Yegorov O.V., Korobkova K.S., Dubey I.Y., Fedoryak D.M., Shalamay A.S.* Antisignature oligonucleotides and their analogs as inhibitors of mollicutes — cofactors of HIV // *Мікробіол. журн.* — 1997. — Т. 59, № 2. — С. 3-11.
19. *Дубей І.Я., Федоряк Д.М.* Нові реагенти для модифікації олігонуклеотидів імідазофеназином // *Ukr. Bioorg. Acta.* — 2006. — Т. 4, № 2. — P. 3-9.
20. *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology.* (Ed. By Fasman G.). — CRC Press: Boca Raton, FL. — 1975, 3rd Ed. — Vol. 1. — P. 175.
21. *Wachter L., Jablonski J., Ramachandran K.L.* A simple and efficient procedure for the synthesis of 5'-aminoalkyl oligodeoxyoligonucleotides // *Nucleic Acids Res.* — 1986. — Vol. 14, No. 20. — P. 7985-7994.
22. *Kutyavin I.V., Podyminogin M.A., Bazhina Y.N., Fedorova O.S., Knorre D.G., Levina A.S., Mamayev S.V., Zarytova V.F.* N-(2-Hydroxyethyl)phenazinium derivatives of oligonucleotides as effectors of the sequence-specific modification of nucleic acids with reactive oligonucleotide derivatives // *FEBS Lett.* — 1988. — Vol. 238, No. 1. — P. 35-38.
23. *Lokhov S.G., Podyminogin M.A., Sergeev D.S., Silnikov V.N., Kutyavin I.V., Shishkin G.V., Zarytova V.F.* Synthesis and high stability of complementary complexes of N-(2-hydroxyethyl)phenazinium derivatives of oligonucleotides // *Bioconjugate Chem.* — 1992. — Vol. 3, No. 5. — P. 414-419.
24. *Благой Ю.П., Зозуля В.Н., Волошин І.М., Макитрук В.Л., Шаламай А.С., Щербаківа А.С.* Исследование взаимодействия производных феназина с ДНК методом поляризованной флюоресценции // *Биополимеры и клетка.* — 1997. — Т. 13, № 1. — С. 22-29.
25. *Zozulya V., Blagoi Yu., Lober G., Voloshin I., Winter S., Makitruk V., Shalamay A.* Fluorescence and binding properties of phenazine derivatives in complexes with polynucleotides of various base composition and secondary structure // *Biophys. Chem.* — 1997. — Vol. 65, No. 1. — P. 55-63.
26. *Макитрук В.Л., Шаламай А.С., Кондратюк І.В.* Синтез и изучение рибофуранозидов ряда феназазолов // *Биополимеры и клетка.* — 1997. — Т. 13, № 6. — С. 453-459.
27. *Dubey I., Pratviel G., Meunier B.* Modification of the thiourea linkage of fluorescein-oligonucleotide conjugate to a guanidinium motif during ammonia deprotection // *Bioconjugate Chem.* — 1998. — Vol. 9, No. 5. — P. 627-632.
28. *Pon R.T., Yu S., Sanghvi Y.S.* Rapid esterification of nucleosides to solid-phase supports for oligonucleotide synthesis using uronium and phosphonium coupling reagents // *Bioconjugate Chem.* — 1999. — Vol. 10, No. 6. — P. 1051-1057.
29. *Stetsenko D.A., Gait M.J.* A convenient solid-phase method for synthesis of 3'-conjugates of oligonucleotides // *Bioconjugate Chem.* — 2001. — Vol. 12, No. 4. — P. 576-586.
30. *Dubey L.V., Dubey I.Y.* Onium salts as coupling reagents in the preparation of silica polymer supports for solid phase oligonucleotide synthesis // *Ukr. Bioorg. Acta.* — 2004. — Т. 1, №№ 1-2. — P. 23-28.
31. *Cassani G.R., Bollum F.J.* Oligodeoxythymidylate:polydeoxyadenylate and oligodeoxyadenylate:polydeoxythymidylate interactions // *Biochemistry.* — 1969. — Vol. 8, No. 10. — P. 3928-3936.