



УДК 547.785.5'55.1'963.32:535.33/34

МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ БИС-БЕНЗИМИДАЗОЛЬНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

© 1995 г. В. С. Сибирцев, А. В. Гарабаджиу*, С. Д. Иванов[#]

Центральный научно-исследовательский рентгено-радиологический институт
Минздравмедпрома РФ, 189646, Санкт-Петербург, Песочный 2, ул. Ленинградская, 70/4;

* Санкт-Петербургский технологический институт

Поступила в редакцию 01.12.93 г. После доработки 02.09.94 г.

Исследованы спектральные свойства ряда внешнесвязывающихся субстратспецифичных бис-бензимидазольных красителей, связанных и не связанных с ДНК. Рассмотрены возможные механизмы изменения флуоресцентных свойств этих красителей в зависимости от их химической структуры. Обсужден вклад вращательной диффузии и донорно-акцепторных взаимодействий при прогнозировании и объяснении флуоресцентных свойств субстратспецифичных красителей.

Ключевые слова: ДНК; красители; бис-бензимидазолы.

В настоящее время для объяснения изменений флуоресцентных свойств внешнесвязывающихся красителей (в частности, ДНК-лигандов) при их специфическом взаимодействии с субстратами выдвинуто два гипотетических механизма. Первая, более разработанная гипотеза исходит из того факта, что интенсивно флуоресцировать могут только достаточно жесткие, плоские сопряженные электронные системы [1, 2]. Если молекула красителя содержит в своем составе способные к активной флуоресценции фрагменты, но не обладает достаточной жесткостью, то, не будучи связанной с субстратом, в водных растворах она будет флуоресцировать слабо из-за высокой вероятности безызлучательных переходов из возбужденного состояния в основное за счет вращательной диффузии флуорофоров. В случае специфического взаимодействия с субстратом происходит переход в более плоское состояние и стабилизация рассматриваемой молекулы, которые исключают ее колебательные движения. Вследствие этого доля радиационных переходов, а соответственно и квантовый выход такой молекулы будут увеличиваться и в пределе будут зависеть только от "возбудимости", которая определяется числом и характером фрагментов, потенциально способных к флуоресценции.

Второй гипотетический механизм наряду с этими характеристиками красителя-лиганда учитывает также его активные (обычно терминаль-

ные) группировки, которые могут влиять на π -электронную систему его молекулы и тем самым подавлять флуоресценцию в несвязанном состоянии. Предполагается [3 - 5], что при взаимодействии с фрагментами ДНК ингибирующее влияние таких группировок на π -электронную систему молекулы красителя ослабляется и он восстанавливает свои флуоресцентные свойства. Подобные терминальные группировки играют, по-видимому, доминирующую роль в изменении флуоресцентных свойств моносоединений, таких, например, как коммерческие флуорофоры DAPI, DAPI и т.п. [3, 5 - 8]. Однако их влияние должно учитываться и в случае бис-соединений, содержащих два "ядра", потенциально способных к собственной активной флуоресценции (например, бензимидазольных [9]), но входящих в единую сопряженную электронную систему. При этом электронодонорные группы должны несколько увеличивать флуоресценцию красителя в несвязанном состоянии, а электроноакцепторные – наоборот, дополнительно его ингибировать.

Таким образом, для нас представляло особый интерес изучение границ условий применимости к различным системам этих двух гипотетических механизмов с целью создания на их основе реалистической модели для объяснения изменений флуоресцентных свойств различных субстратспецифичных красителей в зависимости от их химической структуры. Такая модель могла бы оказаться полезной и при поиске оптимальных структур новых флуоресцентных меток для нуклеиновых кислот и других субстратов.

[#] Автор для переписки.

Поэтому мы провели сравнительное исследование спектральных свойств ряда бис-бензимидазольных красителей:

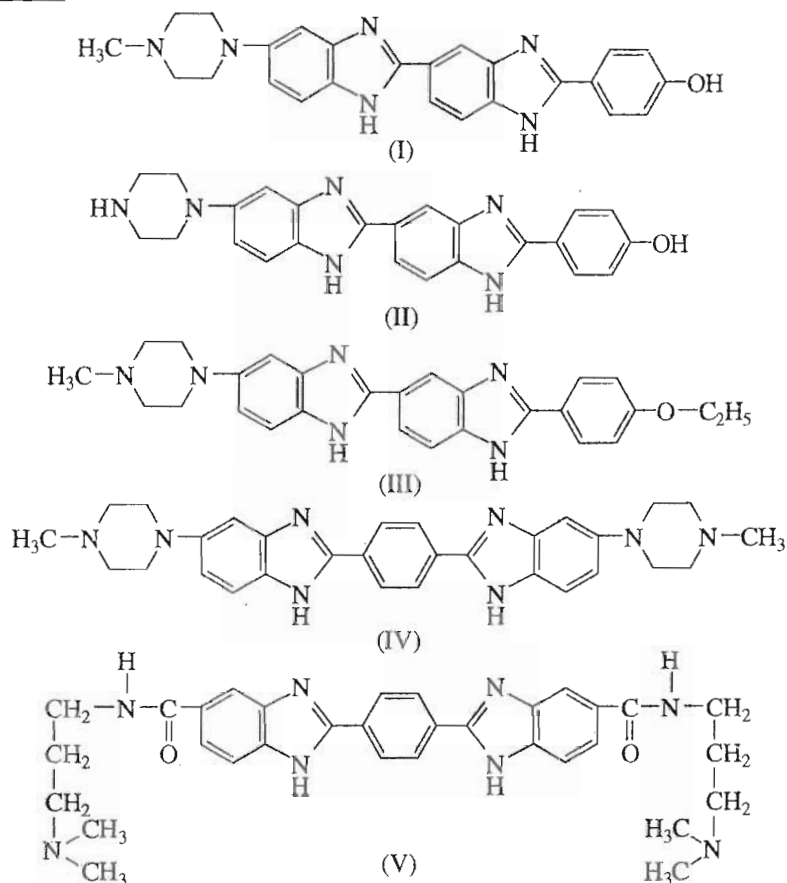
2-[2-(4-гидроксифенил)бензимидазол-5(6)-ил]-5(6)-(4-метилпиперазин-1-ил)бензимидазола (I) (Хехст-33258),

2-[2-(4-гидроксифенил)бензимидазол-5(6)-ил]-5(6)-(пиперазин-1-ил)бензимидазола (II),

2-[2-(4-этоксифенил)бензимидазол-5(6)-ил]-5(6)-(4-метилпиперазин-1-ил)бензимидазола (III) (Хехст-33342),

1,4-бис[5(6)-1-(4-метилпиперазинил)-2-бензимидазолил]бензола (IV),

1,4-бис[5(6)-(3-диметиламинопропилкарбамоил)-2-бензимидазолил]бензола (V).



Максимумы спектров поглощения и флуоресценции и квантовые выходы перечисленных бис-бензимидазолов в присутствии различных количеств ДНК в буферном растворе, а также в 50% растворе сахарозы, в котором, как известно [10], подавляются процессы вращательной диффузии у подобного рода соединений, представлены в таблице*. Приведенные данные показывают, что

* У всех исследованных красителей как в стандартном буфере, так и в 50% растворе сахарозы имелся дополнительный (меньший по экстинкции) пик поглощения в области 260 - 280 нм. У красителя (V) вследствие сложного характера его терминальных заместителей проявлялась также тонкая структура эмиссионных спектров с максимумами при 380, 400, 420 и 450 нм. Объяснение возможных причин возникновения подобной структуры спектров можно найти, в частности, в работе [11], где исследовались бис-бензимидазольные красители с аналогичными терминальными заместителями. В таблице приведены данные только для основных пиков поглощения и флуоресцентной эмиссии исследуемых соединений.

оба обсуждавшихся гипотетических механизма порознь не могут дать достаточно удовлетворительного объяснения изменению флуоресцентных свойств всей совокупности рассматриваемых красителей.

Так, меньший по сравнению с соединением (I) квантовый выход в отсутствие ДНК (ϕ_0) у соединения (IV) можно объяснить менее жесткой связью бензимидазольных ядер из-за расположенного между ними фенильного цикла. А увеличение по сравнению с соединением (IV) значения ϕ_0 у соединения (V), вероятно, связано с тем, что его длинные и разветвленные гидрофильные терминальные радикалы, взаимодействуя с молекулами воды, в определенной степени уменьшают вероятность вращательной диффузии молекулы этого красителя в растворе и, следовательно, стабилизируют его планарное состояние.

Тот же механизм можно в принципе привлечь и для объяснения более чем двукратного изменения нулевого квантового выхода (Φ_0) в ряду соединений (I) - (III). Так, возможно, что наличие объемной метильной группы у пиперазинового заместителя соединения (I) способно в некоторой степени уменьшить для его молекулы вероятность вращательной диффузии по сравнению с соединением (II), а присутствие дополнительной О-этильной группы у терминального фенильного заместителя соединения (III) способно уменьшить эту вероятность в еще большей степени.

Вместе с тем флуоресценция рассматриваемых здесь красителей должна определяться, во-первых, главным образом взаимодействием двух бензимидазольных фрагментов молекулы. У соединений (I) - (III) они связаны между собой более жестко, чем у соединений (IV) и (V), вследствие наличия у последних промежуточного фениленового мостика. Соответственно можно предположить, что и вращательная диффузия у двух последних соединений должна быть менее подвержена влиянию терминальных заместителей. Во-вторых, влияние метильного и этильного терминальных заместителей на вращательную диффузию бензимидазольных фрагментов в соединениях (I) - (III) может быть ослаблено и тем, что связь между ними носит лишь опосредованный характер. В-третьих, объемность и гидрофобный характер этих терминальных заместителей затрудняет стабилизацию молекул красителей за счет образования водородных связей с молекулами воды N-атома пиперазиновой либо O-атома этоксиальной группы. Отсюда вытекает неоднозначность в толковании изменений, которые вносят терминальные заместители в жесткость планарной структуры рассматриваемых молекул.

Более адекватным нам представляется рассмотрение полученных данных с точки зрения различной донорно-акцепторной активности терминальных заместителей. Так, соединение (III), терминальные группы которого имеют наибольшую в рассматриваемом ряду электронодонорную активность, проявляет и большую флуоресценцию в растворе в несвязанном состоянии. Соединение (I), гидроксильная группа которого является более слабым донором электронов, чем этокси группа соединения (III), имеет и меньший по сравнению с ним нулевой квантовый выход. А соединение (II), пиперазиновая терминальная группа которого с точки зрения ее электронодонорной активности по отношению к ядру молекулы в свою очередь слабее метилпиперазиновой группы соединения (I), имеет соответственно еще меньший Φ_0 .

Следует отметить, что при оценке относительной донорно-акцепторной активности терминальных заместителей мы использовали хорошо

Изменение спектральных свойств исследуемых флуоресцентных красителей в зависимости от состава среды и присутствия в ней ДНК

Краситель	(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)
$\lambda_0^{\text{полгл}}$ *	345	345	350	360	327
$\lambda_0^{\text{фл}}$	497	495	500	553	400
$\Phi_0 \times 10^{2**}$	4.3	3.2	6.8	2.1	26.7
$\lambda_c^{\text{полгл}}$	352	350	354	368	340
$\lambda_c^{\text{фл}}$	474	474	475	516	400
Φ_c/Φ_0	7.0	6.9	6.4	8.4	2.0
$\lambda_{\text{max}}^{\text{полгл}}$	353	350	355	370	346
$\lambda_{\text{max}}^{\text{фл}}$	455	455	455	500	400
Φ_{max}/Φ_0	41.6	39.6	39.1	38.8	13.8
E^{***}	85.2	84.7	85.8	80.4	92.2
R^{***}	14.8	15.3	14.2	19.6	7.8
E/R	5.76	5.54	6.04	4.10	11.8

* $\lambda^{\text{полгл}}$ и $\lambda^{\text{фл}}$ (нм) – максимумы поглощения и флуоресценции исследуемых красителей; индексами 0, c и max обозначены соответствующие величины, измеренные в стандартном буфере, в 50% растворе сахарозы в стандартном буфере и в буфере при максимальном соотношении концентраций ДНК и красителя.

** Φ_0 , Φ_c и Φ_{max} – относительные квантовые выходы флуоресценции исследуемых красителей в стандартном буфере без ДНК, в 50% растворе сахарозы и при максимальном соотношении концентраций ДНК и красителя.

*** E и R (%) – относительные вклады в флуоресценцию красителей при их специфическом связывании с ДНК донорно-акцепторного взаимодействия заместителей с ароматическим ядром и вращательной диффузии соответственно.

известные данные. Во-первых, атом азота, связанный с ароматической системой одинарной σ -связью, является для нее более сильным донором электронной плотности, чем атом кислорода. Во-вторых, если у таких атомов есть возможность компенсировать отдаваемую электронную плотность за счет своих заместителей (например, углеводородных), то их электронодонорная способность при этом усиливается. В случае, если такие заместители, наоборот, отбирают на себя часть электронной плотности, соответствующая электронодонорная способность атома с неподеленной электронной парой уменьшается. В-третьих, карбоксильная группа – достаточно сильный акцептор электронной плотности, и следующая за ней аминогруппа может лишь несколько уменьшить эту ее способность. Исходя из этого можно построить следующий ряд терминальных заместителей, у которых электронодонорная активность по отношению к ароматическому ядру убывает

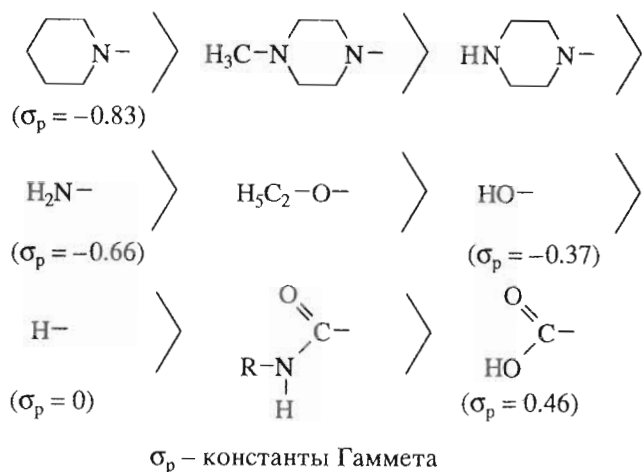


Схема.

слева направо, а электроноакцепторная, напротив, увеличивается при $\sigma_p > 0$.

Однако для красителей (I), (IV) и (V) рассмотрение на основе механизма донорно-акцепторных взаимодействий приводит к результатам, обратным наблюдаемым. Действительно, у красителя (IV) в соответствии с этим механизмом флуоресценция в несвязанном состоянии должна быть выше, чем у красителя (I), у которого взаимодействие бензимидазольных групп, ингибирующее флуоресценцию, не ослабляется промежуточной фениленовой группировкой, как у красителя (IV), а гидроксигруппа является более слабым донором электронной плотности, чем метилпиперазиновая. Нулевой квантовый выход (Φ_0) красителя (V) при этом должен быть ниже, чем у красителя (IV), поскольку диметиламинопропилкарбамоильные заместители являются акцепторами, а метилпиперазиновые – донорами электронной плотности.

Таким образом, из представленных данных видно, что в ряду красителей (I), (IV) и (V) правильно описывает результаты первый механизм. Напротив, в ряду, составленном из красителей (I) - (III), изменение флуоресцентных свойств лучше описывается вторым, донорно-акцепторным механизмом. Кроме того, с точки зрения "чистых" процессов вращательной диффузии не может быть объяснено возрастание квантового выхода от Φ_0 до Φ_{\max} при взаимодействии с ДНК даже для первого из обсуждавшихся рядов красителей ((I), (IV) и (V)).

Аналогичные результаты были получены и при исследовании относительного изменения флуоресценции красителей (I) - (V) в 50% растворе сахарозы, подавляющем вращательную диффузию. Значения максимумов поглощения и эмиссии, а также величины относительного квантового выхода (Φ_c/Φ_0) были промежуточными

между полученными в стандартном буфере в несвязанном состоянии и при насыщении полинуклеотидом. Соотношение вкладов донорно-акцепторного взаимодействия (E) и вращательной диффузии (R) в изменение флуоресценции исследуемых красителей при их специфическом взаимодействии с ДНК менялось аналогично их нулевым квантовым выходам (Φ_0). При этом как само по себе наличие обоих этих вкладов у всех рассматриваемых красителей, так и характер изменения соотношения E/R определенно свидетельствуют о двойственном характере их взаимодействия с ДНК.

Таким образом, становится очевидным, что оба рассматриваемых механизма изменения флуоресцентных свойств красителей при их специфическом взаимодействии с ДНК имеют границы своей применимости. Для прогноза относительного изменения флуоресцентных свойств субстратспецифических красителей в зависимости от их химической структуры необходимо учитывать два фактора.

Во-первых, следует обращать внимание на стерическое соответствие молекулы красителя субстрату и возможность специфического взаимодействия между ними. Так, краситель (V), длинные и разветвленные терминальные радикалы которого могут препятствовать такому взаимодействию, имеет достаточно низкий относительный квантовый выход в присутствии ДНК (см. таблицу.) Скорее всего, это обусловлено тем, что его молекула не может войти в узкую бороздку ДНК на расстояние, достаточное для образования водородных связей с АТ-парами оснований. Вместе с тем только такой тип взаимодействия, как было показано ранее [4, 7, 12, 13], необходим для сильного специфического типа взаимодействия с полинуклеотидом внешнесвязывающихся флуоресцентных красителей.

Во-вторых, должна быть учтена структура фрагментов красителя, потенциально способных к флуоресценции. В нашем случае одинаковая структура таких фрагментов (два бензимидазольных ядра) приводит к близости величин Φ_{\max}/Φ_0 у красителей (I) - (IV).

При одинаковости структур флуоресцирующих фрагментов в молекулах сравниваемых красителей следует обратить внимание на различия в жесткости и планарности этих молекул. Если такие различия имеются (как, например, у рассматриваемых в настоящей работе красителей (I), (IV) и (V)), то для прогнозирования относительной флуоресценции таких соединений следует в первую очередь привлекать первый механизм. Если же сравниваемые красители имеют примерно равную степень жесткости и планарности (как, например, красители (I) - (III)), рассматриваемые в настоящей работе, или моносоединения,

рассматривавшиеся ранее в работах [3, 5 - 7]), то их флуоресцентные свойства следует прогнозировать в соответствии с механизмом внутримолекулярного донорно-акцепторного взаимодействия. Последний механизм, очевидно, применим не только к жестким плоским электронным системам.

Как уже отмечалось выше, 50% раствор сахарозы подавляет вращательную диффузию рассматриваемых красителей. Результаты исследования красителей в этом растворе свидетельствуют о двойственном характере их взаимодействия с ДНК, которое мало зависит от степени начальной планарности их молекул. Так, при изменении величины ϕ_0 в 12.7 раза у соединений (IV) и (V), обусловленном различной степенью жесткости планарной структуры их молекул, соотношение E/R для них изменяется только в 2.9 раза. Кроме того, относительный вклад донорно-акцепторного взаимодействия (E) в изменение флуоресценции у всех рассматриваемых соединений в 4 - 11 раз превышает вклад вращательной диффузии (R). Эти результаты также свидетельствуют о том, что донорно-акцепторное взаимодействие вносит существенный вклад в механизм изменения флуоресценции красителей, подобных рассматриваемым в настоящей работе, при их специфическом связывании с полинуклеотидами.

Таким образом, если молекула красителя не имеет достаточно жесткой плоской структуры (что, в частности, может иметь место при увеличении длины молекулы или числа осей, вокруг которых возможен поворот друг относительно друга ее отдельных флуоресцирующих фрагментов, как, например, при переходе от моносоединений к бис-соединениям или от красителей (I) - (III) к красителям (IV) - (V)), то в изменении ее флуоресцентных свойств доминирующую роль, по-видимому, играет механизм вращательной диффузии. В случае же, если структура молекулы красителя имеет достаточную жесткость и планарность, в действие вступает донорно-акцепторный механизм. Этот механизм должен учитываться и в том случае, когда молекулы сравниваемых красителей, даже не имея достаточной жесткости, мало различаются по своей способности к вращательной диффузии (как в случае соединений (I) - (III)) или обладают единственным флуоресцирующим фрагментом (как в случае моносоединений, рассматриваемых в работах [3, 5 - 7]).

Следовательно, для оценки флуоресцентных свойств субстратспецифичных красителей необходим учет вкладов обоих рассмотренных механизмов. Такой подход в свою очередь позволит более адекватно формулировать требования к химической структуре вновь синтезируемых флуоресцентных меток как на нуклеиновые кислоты, так, возможно, и на другие субстраты.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Коммерческие красители (I) (Хехст-33258) и (III) (Хехст-33342) были получены от фирмы Serva (ФРГ). Соединения (II), (IV) и (V) были синтезированы на кафедре молекулярной биотехнологии Санкт-Петербургского технологического института [14, 15]. В качестве субстрата использовалась ДНК тимуса телят фирмы Serva (ФРГ) (58% АТ-пар; средняя молекулярная масса на один нуклеотид 326 Да, коэффициент молярной экстинкции $\epsilon_{260} 6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), предварительно обработанная для гомогенизации и уменьшения светорассеяния ультразвуком на аппарате УЗДН-2 в течение 15 с при силе тока 0.3 А на резонансной частоте 22 кГц (при этом средняя масса олигонуклеотидных фрагментов молекулы ДНК составила 3500 Да).

Все измерения проводились при постоянной величине концентрации красителя, $C_{\text{крас}} = 6.42 \times 10^{-7} \text{ M}$, и различных значениях концентрации олигонуклеотидов при 20 - 25°C. Вещества анализировались в буфере следующего состава: 0.01 M NaCl, 0.01 M Na_2EDTA и 0.01 M трис (рН 7.4). Наличие достаточно высокой ионной силы могло, естественно, несколько изменить величину ϕ_0 - в частности, за счет разной величины заряда у терминальных групп исследуемых красителей. Раствор сахарозы готовили прибавлением одной весовой доли сахарозы (х. ч.) к одной объемной доле стандартного буфера.

Спектры поглощения исследуемых растворов регистрировали на спектрофотометре Beckman, model 35 (Австрия). Флуоресценцию проб анализировали на спектрофлуориметре Hitachi, model 850 (Япония). При записи спектров на флуориметре устанавливали ширину щелей монохроматоров возбуждения и эмиссии 3 нм, скорость сканирования - 120 нм/мин, время отклика - 2 с, усиление ФЭУ - нормальное. Запись спектров возбуждения проводили при $\lambda_{\text{max}}^{\text{пл}}$, а спектров эмиссии - при $\lambda_{\text{max}}^{\text{возб}}$.

Так как перекрывание спектров поглощения и флуоресценции у исследуемых соединений практически отсутствовало, расчет соотношения квантовых выходов $\phi_{\text{ДНК}}/\phi_0$ и ϕ_c/ϕ_0 осуществляли исходя из максимумов величин поглощения и флуоресценции соединений при соответствующих длинах волн [5, 16, 17], используя формулу

$$\phi_2/\phi_1 = (I_2/A_2)/(I_1/A_1),$$

где I_2, I_1 и A_2, A_1 - величины интенсивности флуоресценции и оптической плотности исследуемого соединения в состояниях 2 и 1. Спектры флуоресценции корректировали с использованием счетчика квантов на основе стандартного спиртового раствора родамина В в соответствии с руководством по эксплуатации к спектрофлуориметру Hitachi, model 850.

Величины ϕ_0 определяли по формуле

$$\phi_0 = (I_0/A_0) \times 10^{-4},$$

где I_0 и A_0 – величины интенсивности флуоресценции и оптической плотности исследуемого соединения в стандартном буфере в отсутствие ДНК. При этом получаемая величина ϕ_0 , очевидно, отличалась от величины собственно нулевого квантового выхода флуоресценции исследуемого красителя на некоторую константу (k), но относительная величина нулевых квантовых выходов ϕ_0^2/ϕ_0^1 для исследуемых соединений сохранялась. Поскольку в настоящей работе прежде всего рассматривались изменения соотношений, а не абсолютные значения ϕ_0 исследуемых соединений, такой подход казался нам правомерным.

Относительные вклады в изменение флуоресценции исследуемых соединений при их специфическом взаимодействии с ДНК вращательной диффузии (R , %) и донорно-акцепторного взаимодействия (E , %) определялись следующим образом:

$$R = (\phi_c/\phi_0 - 1)/(\phi_{\max}/\phi_0 - 1) \times 100; \quad E = 100 - R.$$

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Заседателев А.С., Михайлов М.В., Крылов А.С., Гурский Г.В. // Молекуляр. биология. 1981. Т. 15. С. 690 - 705.
2. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. М.: Мир, 1986.
3. Иванов С.Д., Квитко И.Я., Ртищев Н.И., Фомина Е.И., Нагорская Л.П. // Биоорганич. химия. 1989. Т. 15. С. 648 - 655.
4. Колосова О.Ю. Флуоресцентные ДНК-зонды в ряду бензимидазолов: Дис. ... канд. хим. наук. Л.: ЛТИ им. Ленсовета, 1991.
5. Сибирцев В.С., Гарабаджю А.В., Иванов С.Д. // Биоорганич. химия. 1994. Т. 20. С. 650 - 667.
6. Иванов С.Д., Гарабаджю А.В., Сибирцев В.С., Фомина Е.И. // VII конференция по спектроскопии биополимеров. Тез. докл. Харьков, 1991. С. 117 - 119.
7. Barcellona M.L., Favilla R., Berger J. von, Avitahile M., Ragusa N., Masotti L. // Arch. Biochem. Biophys. 1986. V. 250. P. 48 - 53.
8. Otto F., Tsou K.C. // Stain Technol. 1985. V. 60. P. 7 - 11.
9. Baeyens W.R.G., Fattah F.A., Moerloose P. de // Anal. Lett. 1985. V. 18. P. 2143 - 2154.
10. Karuscinski J., Scoczylas B. // Nycl. Acids Res. 1978. V. 5. P. 3775 - 3799.
11. Умецкая В.Н., Рослов А.А., Розанов Ю.М., Гарабаджю А.В. // Молекуляр. биология. 1989. Т. 23. С. 379 - 387.
12. Zimmer C., Wahnert U. // Prog. Molec. Biol. 1986. V. 47. P. 31 - 112.
13. Pjura P.E., Grzeskowiuk K., Dickerson R.E. // J. Mol. Biol. 1987. V. 197. P. 257 - 271.
14. Склярова И.В., Кузнецов В.А., Соколова Н.Ю., Гарабаджю А.В., Гинзбург О.Ф., Добрынин Я.В., Николаева Т.Г., Финько В.Е. // Хим.-фармацевт. журн. 1988. Т. 22. С. 697 - 699.
15. Соколова Н.Ю., Кузнецов В.А., Гарабаджю А.В., Гинзбург О.Ф., Добрынин Я.В., Николаева Т.Г., Финько В.Е., Иванова Т.П. // Хим.-фармацевт. журн. 1990. Т. 24. С. 31 - 33.
16. Иванова С.Д., Гарабаджю А.В., Ртищев Н.И., Фомина Е.И., Колосова О.Ю. // Биоорганич. химия. 1991. Т. 17. С. 1041 - 1047.
17. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265 - 275.

Mechanisms of Variation in Fluorescent Properties of bis-Benzimidazole Dyes

V. S. Sibirtsev*, A. V. Garabadzhiu**, and S. D. Ivanov*¹

* Central Research X-Ray and Radiological Institute, Ministry of Public Health and the Medical Industry, ul. Leningradskaya, 70/4, Pesochnyi 2, St. Petersburg, 189646 Russia

** St. Petersburg Institute of Technology, Zagorodnyi pr. 49, St. Petersburg, 198013 Russia

Abstract – Spectral properties of a series of externally binding substrate-specific bis-benzimidazole dyes that were either bound or not bound to DNA were studied. Feasible mechanisms of variation in fluorescent properties of the dyes under study were considered depending on their chemical structure. Contribution of the rotational diffusion and the donor-acceptor interactions to the prediction and explanation of fluorescent properties of the substrate-specific dyes was discussed.

Key words: DNA, dyes, bis-benzimidazoles.

¹ To whom correspondence should be addressed.