

УДК 541.18:544.52

Эволюция частиц оптически активных дисперсий ДНК
М.А. Колыванова^{1,2}, А.В. Шибаетова², М.А. Климович², А.В. Белоусов¹,
И.Н. Сенчихин³, В.А. Кузьмин², В.Н. Морозов^{2,*}

¹*Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России,
Москва, Российская Федерация*

²*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Российская
Федерация*

³*Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва,
Российская Федерация*

**e-mail: morozov.v.n@mail.ru*

Поступила в редакцию 10.04.2026 г.

После доработки 11.06.2026 г.

Принята к публикации 11.06.2026 г.

Аннотация. Проведено сопоставление кинетики формирования характерных сигналов кругового дихроизма холестерических жидкокристаллических дисперсий ДНК с результатами их детального исследования методом конфокальной микроскопии. Экспериментально подтверждены три процесса эволюции дисперсных частиц (в скобках указаны характерные временные интервалы): 1) рост за счет присоединения молекул ДНК (десятки секунд), 2) сопровождающаяся перестройкой холестерических слоев коалесценция (минуты) и, наконец, 3) имеющая пороговую зависимость от концентрации нуклеиновой кислоты агрегация, в результате которой в системе формируются крупные образования нерегулярной формы (часы). Сделано предположение об отсутствии у последних «интегральной» оптической активности.

Ключевые слова: кинетика, ДНК, жидкие кристаллы, дисперсные системы, круговой дихроизм, оптическая активность, конфокальная микроскопия

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФМБА России (тема № 125022502879-3 Разработка радиофармацевтических лекарственных препаратов и совершенствование клинической дозиметрии при проведении фотонной лучевой терапии).

Соблюдение этических стандартов. В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Вклад авторов в публикацию. Концептуализация — КМА (Колыванова М.А.), МВН; методология — КМА (Колыванова М.А.), МВН; формальный анализ — КМА (Колыванова

М.А.), БАВ, МВН; сбор данных — КМА (Колыванова М.А.), ШАВ, КМА (Климович М.А.), БАВ, СИН, КВА, МВН; визуализация — КМА (Колыванова М.А.), ШАВ, МВН; ресурсы — КМА (Колыванова М.А.), СИН, КВА, МВН; написание (подготовка оригинального текста) — КМА (Колыванова М.А.), МВН; написание (редактирование и рецензирование) — КМА (Колыванова М.А.), БАВ, СИН, КВА, МВН; руководство и администрирование — КМА (Колыванова М.А.), МВН.

Благодарности. Микроскопические исследования выполнены на базе центра коллективного пользования ИБХФ РАН «Новые материалы и технологии». Эксперименты по динамическому рассеянию света выполнялись на базе центра коллективного пользования физическими методами исследования ИФХЭ РАН.

Optically Active Dispersions of DNA: Evolution of Particles

M.A. Kolyvanova^{1,2}, A.V. Shibaeva², M.A. Klimovich², A.V. Belousov¹, I.N. Senchikhin³, V.A. Kuzmin², V.N. Morozov^{2,*}

¹A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

²N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

³A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

*e-mail: morozov.v.n@mail.ru

Abstract. The kinetics of formation of characteristic circular dichroism signals of cholesteric liquid-crystalline dispersions of DNA were compared with the results of their detailed study using confocal microscopy. Three processes of the dispersed particles evolution have been experimentally confirmed (characteristic time intervals are given in brackets): 1) growth due to the attachment of DNA molecules (tens of seconds), 2) coalescence accompanied by the rearrangement of cholesteric layers (minutes) and, finally, 3) aggregation, resulting in the generation of large clusters of irregular form, that has a threshold dependence on the concentration of nucleic acid (hours). It has been suggested that the latter lack “integral” optical activity.

Keywords: kinetics, DNA, liquid crystals, dispersed systems, circular dichroism, optical activity, confocal microscopy

Funding. This work was carried out within the framework of the state assignment of the Federal Medical Biological Agency of the Russian Federation (no. 125022502879-3 Development of radiopharmaceutical drugs and improvement of clinical dosimetry for photon radiotherapy).

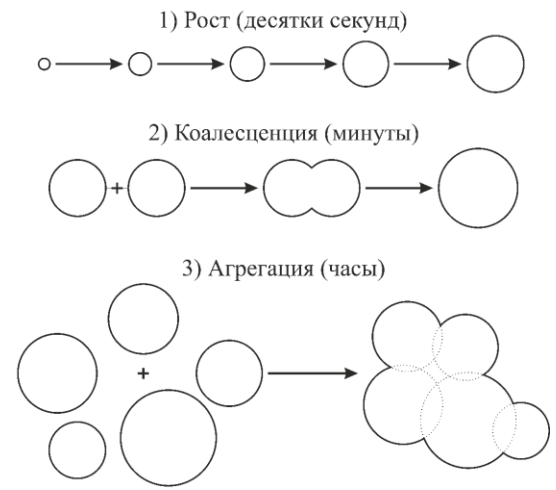
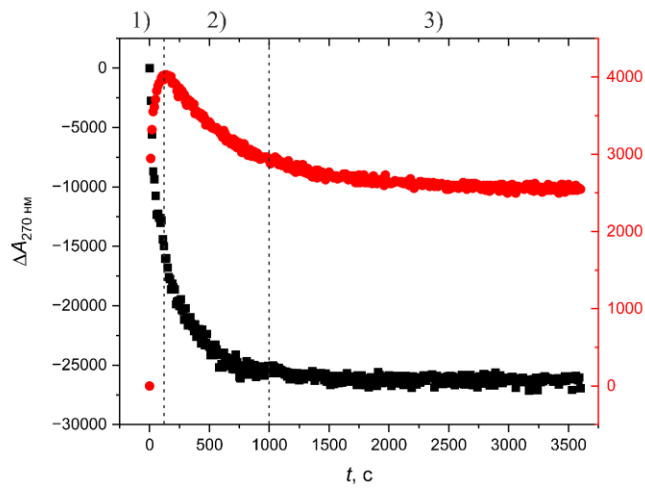
Ethics declarations. This work does not contain any studies involving human and animal subjects.

Conflict of interests. The authors of this article declare that they have no conflict of interest.

Authors contribution. Conceptualization — KMA (Kolyvanova M.A.), MVN; methodology — KMA (Kolyvanova M.A.), MVN; formal analysis — KMA (Kolyvanova M.A.), BAV, MVN; investigation — KMA (Kolyvanova M.A.), SAV, KMA (Klimovich M.A.), BAV, SIN, KVA, MVN; visualization — KMA (Kolyvanova M.A.), SAV, MVN; resources — KMA (Kolyvanova M.A.), SIN, KVA, MVN; writing (original draft preparation) — KMA (Kolyvanova M.A.), MVN; writing (review and editing) — KMA (Kolyvanova M.A.), BAV, SIN, KVA, MVN; supervision, and project administration — KMA (Kolyvanova M.A.), MVN.

Acknowledgements. Microscopic studies were carried out in the Core Facility of the IBCP RAS “New materials and technologies”. Experiments on dynamic light scattering were carried out in the Center for collective use of physical research methods of the IPCE RAS.

ГРАФИЧЕСКИЙ АБСТРАКТ (Колыванова)



ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что благодаря свойству хиральности для молекул ДНК характерны такие проявления оптической активности как круговой дихроизм (КД) и дисперсия оптического вращения [1, 2]. Интересно, что возникают они не только на первичном и вторичном (к примеру, см. [3]), но и на более высоких уровнях структурной организации (к примеру, при выстраивании пространственной конформации молекулы или при ее укладке с помощью белков). Так, например, специфические КД-сигналы, разительно отличающиеся от наблюдаемых в разбавленных (иначе, молекулярных) растворах ДНК, отмечались для нуклеопротеиновых комплексов [4, 5] и хромосомных структур [6]. Необычной оптической активностью могут обладать и искусственно создаваемые надмолекулярные системы (о многообразии хиральных систем на основе этой нуклеиновой кислоты см. в обзоре [7]). Сюда можно отнести конденсаты, формирующиеся из молекул ДНК в водно-спиртовых смесях [8], а также ее объемные и дисперсные жидкокристаллические фазы [9]. Последние, с одной стороны, являются удобными биофизическими моделями, поскольку, как известно из литературы, признаки жидкокристаллической упаковки ДНК обнаруживалась у целого ряда биологических объектов (к примеру, см. [10–13]), а с другой, они представляют собой многообещающие платформы для биомедицины и сенсорики. К примеру, на их основе можно конструировать носители для внутриклеточной доставки агентов для нейтрон-захватной терапии [14], системы для экспресс-тестирования радиопротекторов [15, 16], датчики для определения биологически активных соединений [17], а также разнообразные химические детекторы ионизирующего излучения [18–21].

Жидкокристаллические системы на основе ДНК можно получать путем создания так называемой конкуренции за растворитель, увеличивая концентрацию самой нуклеиновой кислоты или же добавляя в систему нейтральный несмешивающийся с ней полимер (чаще всего для этого используют полиэтиленгликоль (ПЭГ)). Второй вариант широко известен в

литературе как *psi*-конденсация (также ψ ; акроним от “*Polymer and Salt Induced*” [22]). Данный метод принципиально универсален и применим как для компактизации высокомолекулярной ДНК (к примеру, см. [23–25]), так и для краудинга фрагментов низкой молекулярной массы (обычно от $\approx 3 \times 10^4$ до $\approx 3 \times 10^6$ Да, т. е. от ≈ 50 до ≈ 4600 пар оснований (п. о.) [26]). Именно в последнем случае молекулы нуклеиновой кислоты способны собираться в субмикронные/микронные дисперсные частицы с упорядоченной внутренней структурой, проявляющие в определенных условиях выдающуюся оптическую активность (схема 1). Поскольку «аномалии», возникающие при этом на КД-спектре (подробнее см. ниже), обычно свойственны холестерическим мезофазам ДНК, такие системы получили название ее холестерических жидкокристаллических дисперсий (ХЖКД).

Схема 1. Обобщенное представление образования частицы ХЖКД ДНК в условиях *psi*-конденсации

Scheme 1. Generalized representation of the formation of DNA CLCD particle under *psi*-condensation conditions

Несмотря на большое число работ, посвященных особенностям формирования ХЖКД ДНК, кинетика остается одним из наиболее слабо изученных аспектов этого процесса. Начиная с самых первых экспериментов (см. [22, 27, 28]) ее исследование в значительной мере сводится к разрешенным во времени измерениям оптической активности этих систем (чаще всего — характерных КД-сигналов). Поскольку опубликованные в литературе кинетические кривые их формирования нередко имеют выраженный многокомпонентный характер (к примеру, см. [29–31]), закономерен вопрос: какие именно процессы протекают в растворе после смешения ДНК и ПЭГ? Ранее мы предположили, что КД-спектроскопия позволяет наблюдать три стадии эволюции

дисперсных частиц (важно заметить, что оптическая активность проявляется у них далеко не сразу): интенсивный рост, перестройку холестерических слоев и агрегацию [30]. Однако, что это означает с точки зрения изменения их размера, морфологии и внутреннего строения? Насколько нам известно, ни один из этих процессов ранее не регистрировался *de visu* с помощью методов микроскопии (соответствующие наблюдения ограничивались главным образом уже «созревшими» частицами (к примеру, см. [32])), и тем более не сопоставлялся по своим временным характеристикам с динамикой КД-сигналов.

Таким образом, продолжая систематическое исследование ХЖКД ДНК, настоящая работа призвана пролить свет на особенности формирования оптически активных дисперсных частиц при различной концентрации нуклеиновой кислоты и дать ответ на вопрос о связи кинетических кривых формирования характерных КД-сигналов с реальными процессами их эволюции, а также более подробно рассмотреть механизмы их роста и взаимодействия. Отметим, что изучение частиц ХЖКД ДНК с помощью лазерной сканирующей конфокальной микроскопии в динамике проводится в настоящей работе впервые. Кроме того, для их характеристики здесь нами впервые был апробирован метод динамического рассеяния света (ДРС).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали коммерческие препараты выделенной из молок осетровых/лососевых рыб и деполимеризованной ультразвуком ДНК (Деринат®; $(0.25-0.5) \times 10^6$ Да; Техномедсервис, Россия) и ПЭГ (4000 Да; Sigma, США). Их растворы изготавливали на основе водно-солевого буфера, содержащего 10^{-2} М Na_2HPO_4 и 0.3 М NaCl ($\text{pH} \approx 7.4$), и смешивали с таким расчетом, чтобы содержание ПЭГ в конечной системе составляло 18 масс. % (в качестве исходного использовался его раствор с концентрацией 60

масс. %). Концентрацию ДНК при этом варьировали в диапазоне от 8.44×10^{-6} до 4.22×10^{-4} М. Также в экспериментах использовали коммерческий флуоресцентный краситель SYBR Green I (SG; Lumiprobe, США). Его исходный раствор с концентрацией 7×10^{-4} М готовили в диметилсульфоксиде (ДМСО; Компонент-Реактив, Россия). Концентрацию ДНК и SG определяли спектрофотометрически, используя известные значения коэффициента экстинкции: $\epsilon_{260} = 6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [33] и $\epsilon_{498} = 73000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [34].

Спектры поглощения записывали на спектрофотометре UV-3101 PC (Shimadzu, Япония). Кривые гибели возбужденного состояния SG регистрировали методом коррелированного по времени счета единичных фотонов с помощью флуориметра FluoTime 300 (PicoQuant, Германия). Спектральные и кинетические измерения КД проводили при комнатной температуре пользуясь дихрографом СКД-2М, изготовленным в лаборатории лазерно-спектрального приборостроения Института спектроскопии РАН [35]. Спектры КД представляли в виде зависимости разницы поглощения лево- и правополяризованного света $\Delta A = A_L - A_R$ от длины волны λ . Для проведения экспериментов в стационарных условиях полученные после смешения растворов ДНК и ПЭГ образцы интенсивно перемешивали и выдерживали при комнатной температуре не менее 1.5 ч. Для проведения кинетических экспериментов соответствующие растворы послойно вносили в кювету, а затем энергично перемешивали и помещали в кюветное отделение прибора для измерений (такой подход позволил сократить «мертвое время» до 2–3 с). Кинетику формирования характерных для ХЖКД ДНК КД-сигналов регистрировали на длинах волн 270 и 350 нм. В каждом случае записывалось не менее трех кинетических кривых, по которым проводилось усреднение и вычисление характерных времен $\tau_{\text{КД},i}$. Данные обрабатывали с помощью уравнения

$$\Delta A(t) = \sum_{i=1}^n \Delta A_i e^{-\frac{t}{\tau_{\text{КД},i}}} \quad (1)$$

Частицы ХЖКД ДНК визуализировали в лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Leica TCS SP5 (Leica Microsystem, Германия). Для этого к 1 мл предварительно приготовленного или, в случае кинетического эксперимента, находящегося в стадии «созревания» образца ХЖКД ДНК добавляли 2 мкл исходного раствора SG. Затем 20 мкл полученной дисперсии помещали тонким слоем между предметным и покровным стеклами (Menzel-Gläser, Германия). Краситель возбуждали аргоновым лазером на длине волны 488 нм, а его флуоресценцию регистрировали в диапазоне 500–600 нм. Анализ размеров для частиц сферической формы (будем также далее называть их «классическими») проводили вручную с помощью программы ImageJ (National Institutes of Health, США). Размер выборки в каждом случае составлял не менее 300 объектов (агрегаты нерегулярной формы не учитывали). Также оценивали состав каждого образца – относительное содержание в нем частиц обоих упомянутых видов.

Размеры частиц ХЖКД ДНК также оценивали методом ДРС с помощью анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания) с длиной волны лазера 633 нм. Измерения проводили под углом 173° при 25°C , а экспериментальные данные усредняли по пяти последовательным циклам измерений, каждый из которых включал 10–15 «прогонов». Анализ результатов выполнялся с помощью программного обеспечения Zetasizer Software 8.02. Коэффициент динамической вязкости водно-солевого раствора, содержащего 18 масс. % ПЭГ, был измерен при 25°C с помощью вибрационного вискозиметра SV-10 (A&D, Япония). Его величина составляла 6.99 сПз.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлено сопоставление спектров КД водно-солевого раствора ДНК и ХЖКД ДНК, содержащей 18 масс. % ПЭГ. В заданных условиях сигнал молекулярно-

организованной системы в области поглощения азотистых оснований (будем далее называть его основным) — высокоинтенсивная отрицательная полоса с минимумом вблизи 274 нм — более чем в 34 раза превосходит по амплитуде сигнал изотропной системы (ср. кривые 1 и 2). Это связано с разной природой этих сигналов. Как известно, КД-спектр ДНК отражает свойства и взаимодействия нуклеотидов (к примеру, см. [36]), тогда как у ХЖКД ДНК его вид обусловлен специфической внутренней организацией частиц. Согласно существующим представлениям молекулы нуклеиновой кислоты в них располагаются в параллельных слоях, повернутых друг относительно друга на некоторый угол и образующих типичную для холестерических мезофаз спиральную закрутку [37]. К слову, в литературе амплифицированные полосы на КД-спектрах мезофаз ДНК часто называют «аномальными» [38], а сигналы холестерических жидких кристаллов — «структурными» [39]. Еще одной особенностью КД-спектра ХЖКД ДНК является длинноволновый «хвост» вне области поглощения азотистых оснований (см. кривую 3). Данный сигнал называют «кажущимся», а обусловлен он способностью крупных оптически активных частиц (важно заметить, что у небольших частиц этот эффект не наблюдается вовсе или же выражен очень слабо) преимущественно рассеивать право- или левополяризованный свет [38, 40]. Однако несмотря на то, что этот сигнал может быть весьма информативным, в экспериментальных работах его зачастую вычитают, приводя, таким образом, спектр к нулю (см. [28, 31]). Это, как показывает практика, не оказывает существенного влияния на интерпретацию результатов. Заметим здесь, что изменение структуры молекул ДНК может существенно искажать «кажущийся» КД-сигнал. Так, например, он может принципиально отсутствовать у ЖКД ДНК с положительной ориентацией основной полосы (согласно нашим предположениям, ее инверсия происходит именно из-за изменения структуры молекул нуклеиновой кислоты (см. [31])).

Рис. 1. КД-спектры изотропного раствора ДНК (1) и ХЖКД ДНК с 18 масс. % ПЭГ (2 — приведенный к нулю, 3 — без зануления). Концентрация нуклеиновой кислоты равна

$$1.26 \times 10^{-4} \text{ М}$$

Fig. 1. CD spectra of isotropic DNA solution (1) and DNA CLCD with 18 wt % of PEG (2 — corrected to zero, 3 — without correction). The nucleic acid concentration is $1.26 \times 10^{-4} \text{ M}$

При заданном содержании ПЭГ увеличение концентрации ДНК в системе приводит к росту интенсивности как основного, так и «кажущегося» КД-сигналов (рис. 2а). И если в первом случае рост характеризуется небольшим ослаблением (кривая 1 на рис. 2б; отклонение от линейного тренда становится явно выраженным при $[\text{ДНК}] \geq 2.00 \times 10^{-4} \text{ М}$, вплоть же до этой величины вид зависимости близок к линейному, что хорошо согласуется с данными нашей недавней работы [30]), то во втором случае его линейность сохраняется во всем исследованном диапазоне концентраций ДНК (кривая 3). Для основного КД-сигнала также наблюдается батохромное смещение положения пика с 262 до 278 нм (кривая 2). Данная зависимость имеет ступенчатый характер, а наиболее резкие скачки наблюдаются на ее начальном этапе. Отметим, что природа подобных смещений (они могут иметь место не только при варьировании условий приготовления ХЖКД ДНК, но и при действии на них различных внешних факторов (к примеру, см. [18, 31, 41])) пока не имеет общепринятых объяснений.

Для дальнейшего обсуждения важно заметить, что изменение концентрации ДНК, по крайней мере, в исследованных пределах не оказывает существенного влияния на плотность упаковки ее молекул в частицах ХЖКД (ранее в литературе этому не было представлено экспериментальных доказательств). В пользу такого заключения свидетельствует неизменность кривых гибели флуоресценции интегрированного в дисперсные частицы красителя SG и времен жизни его возбужденного состояния (рис. 2в и

2г). Известно, что расстояния между молекулами ДНК в ее объемных холестерических мезофазах могут варьироваться от ≈ 4.9 до ≈ 3.2 нм [42]. В свою очередь, согласно данным работы [43], межмолекулярные расстояния в дисперсных частицах при содержании ПЭГ от 12 до 30 масс. % лежат в диапазоне ≈ 3.8 – 2.4 нм. Таким образом, между связанными с соседними цепочками ДНК молекулами флуорофора, имеющего небольшой стоков сдвиг (для SG его величина составляет примерно 923 см^{-1} [29]), может иметь место перенос энергии по механизму Ферстера. Сближение/отдаление молекул ДНК будет соответственно приводить к увеличению/уменьшению его эффективности (так называемый принцип спектроскопической линейки [44]). Концентрации красителя в проведенном эксперименте были подобраны так, чтобы соотношение $[SG]/[ДНК]$ — 1 молекула на 24 п. о. (размер его сайта связывания составляет 3.4 п. о. [45]) — во всех рассматриваемых случаях оставалось постоянным. В заданных условиях комплекс SG с ДНК в молекулярном растворе характеризуется одним временем жизни ($\tau_{\text{фл}}=5.46$ нс), тогда как в дисперсной системе у него их два ($\langle \tau_{\text{фл}_1} \rangle \approx 4.27$ нс и $\langle \tau_{\text{фл}_2} \rangle \approx 2.44$ нс). При варьировании концентрации нуклеиновой кислоты разброс в величинах $\tau_{\text{фл}_1}$ и $\tau_{\text{фл}_2}$ составляет около 5 и 8% соответственно. Несколько выше (около 20%) его величина для их вкладов в полную амплитуду флуоресценции ($A_{\text{фл}_1}$ и $A_{\text{фл}_2}$). Здесь важно упомянуть, что добавление ДМСО (напомним, что именно в этом растворителе готовили исходный раствор SG) в количестве до 25 мкл на 1 мл ХЖКД ДНК не влияет существенным образом на ее свойства. Так, изменение интенсивности основного КД-сигнала вследствие снижения осмотического давления раствора полимера в этом случае составляет менее 10% (подробнее о разбавлении дисперсных систем с различным содержанием ПЭГ см. в работах [41, 46]).

Отметим, что хотя проведенная оценка межмолекулярных расстояний предоставляет исключительно относительные данные, тем не менее, флуоресцентный метод, являясь более простым, доступным и существенно менее ресурсоемким, представляется для ряда

задач вполне приемлемой альтернативой малоугловому рассеянию рентгеновских лучей. Так, среди прочего он не требует подготовительной процедуры осаждения дисперсных частиц с помощью низкоскоростного центрифугирования при пониженной температуре (см. подробнее в [47]). Кроме того, он позволяет работать с нативными системами, а не с дегидратированными осадками (о роли «насыщения» дисперсных частиц водой можно сделать некоторые выводы, сравнивая результаты определения их размеров с помощью флуоресцентной (см. ниже) и атомно-силовой микроскопии [48]).

Рис. 2. (а) КД-спектры ХЖКД с различным содержанием ДНК: 1 — 8.44×10^{-6} , 2 — 4.22×10^{-5} , 3 — 8.44×10^{-5} , 4 — 1.27×10^{-4} , 5 — 1.69×10^{-4} , 6 — 2.11×10^{-4} , 7 — 2.53×10^{-4} , 8 — 2.95×10^{-4} , 9 — 3.38×10^{-4} , 10 — 3.80×10^{-4} , 11 — 4.22×10^{-4} М. На вставке представлены участки спектров без зануления «кажущегося» сигнала. (б) Зависимости от концентрации ДНК амплитуды (1) и положения пика (2) основного КД-сигнала, а также амплитуды «кажущегося» (3). (в) Время-разрешенные кривые гибели флуоресценции SG (1 — 3.50×10^{-7} , 2 — 1.75×10^{-6} , 3 — 3.50×10^{-6} , 4 — 5.25×10^{-6} , 5 — 7.00×10^{-6} , 6 — 8.75×10^{-6} , 7 — 1.05×10^{-5} , 8 — 1.23×10^{-5} , 9 — 1.40×10^{-5} , 10 — 1.58×10^{-5} , 11 — 1.75×10^{-5} М) в исследуемых дисперсных системах. Кривая для молекулярного раствора нуклеиновой кислоты ([ДНК]= 1.69×10^{-4} М, [SG]= 7.00×10^{-6} М) обозначена как 0. (г) Зависимости от концентрации красителя времен жизни его возбужденного состояния (1 — $\tau_{\text{фл}_1}$, 2 — $\tau_{\text{фл}_2}$) и их вкладов в полную амплитуду флуоресценции (3 — $A_{\text{фл}_1}$, 4 — $A_{\text{фл}_2}$)

Fig. 2. (a) CD spectra of the CLCDs with different content of DNA: 1 — 8.44×10^{-6} , 2 — 4.22×10^{-5} , 3 — 8.44×10^{-5} , 4 — 1.27×10^{-4} , 5 — 1.69×10^{-4} , 6 — 2.11×10^{-4} , 7 — 2.53×10^{-4} , 8 — 2.95×10^{-4} , 9 — 3.38×10^{-4} , 10 — 3.80×10^{-4} , 11 — 4.22×10^{-4} M. Inset shows fragments of the spectra without correction of the “apparent” signal to zero. (б) Dependencies of the amplitude (1) and peak position (2) of the main CD signal, as well as the amplitude of the “apparent” one

(3) on the concentration of DNA. (b) Time-resolved fluorescence decay curves of SG ($1 — 3.50 \times 10^{-7}$, $2 — 1.75 \times 10^{-6}$, $3 — 3.50 \times 10^{-6}$, $4 — 5.25 \times 10^{-6}$, $5 — 7.00 \times 10^{-6}$, $6 — 8.75 \times 10^{-6}$, $7 — 1.05 \times 10^{-5}$, $8 — 1.23 \times 10^{-5}$, $9 — 1.40 \times 10^{-5}$, $10 — 1.58 \times 10^{-5}$, $11 — 1.75 \times 10^{-5}$ M) in the studied dispersed systems. The curve for molecular solution of the nucleic acid ($[DNA] = 1.69 \times 10^{-4}$ M, $[SG] = 7.00 \times 10^{-6}$ M) is designated as 0 . (r) Dependencies of the lifetimes of SG excited state ($1 — \tau_{fl_1}$, $2 — \tau_{fl_2}$) and their contributions to the total fluorescence amplitude ($3 — A_{fl_1}$, $4 — A_{fl_2}$) on the dye concentration

На рис. 3 показаны кинетики формирования основного и «кажущегося» КД-сигналов у ХЖКД, содержащих 18 масс. % ПЭГ и разные концентрации ДНК. Для получения более полной картины о связи кинетических кривых с процессами эволюции дисперсных частиц здесь рассматривается более широкий диапазон ее значений, чем в нашей недавней работе [30]. Отметим, что мы также впервые анализируем динамику «кажущегося» КД-сигнала, поскольку он может предоставлять важную информацию о взаимодействиях частиц. Рассчитанные значения характерных времен ($\tau_{кд_1}$, $\tau_{кд_2}$ и $\tau_{кд_3}$) приведены в табл. 1, а зависимости их обратных значений от содержания нуклеиновой кислоты в системе — на рис. 4 соответственно.

Итак, в «нулевой» временной точке при внесении в систему ПЭГ кинетически независимыми единицами являются отдельные молекулы ДНК. Сначала они собираются в оптически неактивные зародышевые частицы (субсекундный процесс, который можно наблюдать с помощью метода остановленной струи [29]), присоединяющие все новые и новые молекулы и за счет этого постепенно увеличивающиеся в размере так, что начиная с некоторого момента, на КД-спектре системы начинают проявляться характерные сигналы. Их интенсивный рост занимает в зависимости от концентрации ДНК от десятков до сотен

секунд, а величина $1/\tau_{\text{КД}_1}$ поначалу возрастает линейно, однако вблизи 2.11×10^{-4} М выходит на плато (рис. 4а).

После фазы интенсивного роста кинетические кривые для «кажущегося» КД-сигнала претерпевают перегиб, который обостряется по мере увеличения концентрации ДНК. Иными словами, его интенсивность начинает снижаться, тогда как интенсивность основного КД-сигнала продолжает, пусть и медленнее, но расти. При низком содержании ДНК в системе экстремум графика близок к изгибу соответствующей кинетической кривой для основного сигнала, однако по мере его увеличения начинают усиливаться расхождения (рис. 3в и 3г). Отталкиваясь от природы «кажущегося» КД-сигнала такое поведение можно объяснить снижением числа дисперсных частиц в результате их постепенной коалесценции. Это заметно более медленный процесс (от нескольких минут до нескольких часов), важное место в котором должна занимать перестройка холестерических слоев во вновь образующихся частицах. Зависимость от концентрации ДНК соответствующей ему величины $1/\tau_{\text{КД}_2}$ строго линейна (рис. 4б).

Разберемся теперь в природе третьего процесса. Видно, что по мере увеличения концентрации ДНК характер кинетических кривых меняется. Так, кривые 1 и 2 на рис. 3а хорошо описываются в рамках двухэкспоненциальной модели, в то время как кривые 3–б (то есть, начиная с $[\text{ДНК}] = 1.69 \times 10^{-4}$ М) имеют трехэкспоненциальный вид. Аналогичным образом обстоит дело с время-разрешенными зависимостями амплитуды «кажущегося» КД-сигнала (рис. 3б): при концентрации ДНК менее 1.27×10^{-4} М область после перегиба кривой описывается одной экспонентой, а начиная с этого значения — уже двумя. Отметим, что в обоих случаях оценка результатов фитинга проводилась с учетом информационных критериев Акаике и Шварца (AIC и SC; см. табл. S1 и S2). Иными словами, величина $1/\tau_{\text{КД}_3}$ характеризует некий пороговый процесс, отсутствующий при небольшом содержании нуклеиновой кислоты (отклонение в определении его критической концентрации от данных

нашей недавней работы не превышает 20% [30]). Таким процессом, на наш взгляд, может являться формирование агрегатов. Важно подчеркнуть качественную разницу между коалесценцией с образованием «классических» сферических частиц и агрегацией с формированием крупных образований нерегулярной формы. Последние, к слову, часто наблюдаются при высоких (≥ 24 масс. %) концентрациях ПЭГ [31, 41, 46, 49]. Здесь нельзя не упомянуть об отсутствии в литературе информации о влиянии концентрации ПЭГ и/или его молекулярной массы на кинетику формирования частиц ХЖКД ДНК, а также на динамику изменения их морфологии (соответствующие исследования станут предметом наших будущих работ). Отметим также, что только для величины $1/\tau_{\text{КД}_3}$ наблюдается несогласованность в значениях, определенных на основе анализа кинетических кривых для основного и «кажущегося» КД-сигналов. Отождествить их в некоторой мере позволяет специфический ход зависимостей от концентрации ДНК (рис. 4в). В то же время это может свидетельствовать о различной «чувствительности» основного и «кажущегося» КД-сигналов к агрегации дисперсных частиц. Действительно, сопоставление данных из табл. S1 и S2 полностью подтверждает высказанное выше предположение о том, что последний намного более информативен в части изучения их взаимодействий.

Рис. 3. (а, б) Характерные время-разрешенные кривые формирования основного (а) и «кажущегося» (б) КД-сигналов, зарегистрированные на длинах волны 270 и 350 нм соответственно. Номера кривых соответствуют следующему содержанию ДНК в системе: 1 — 8.44×10^{-6} , 2 — 4.22×10^{-5} , 3 — 8.44×10^{-5} , 4 — 1.69×10^{-4} , 5 — 2.53×10^{-4} , 6 — 3.38×10^{-4} , 7 — 4.22×10^{-4} М. (в, г) Сопоставление кинетических кривых формирования основного (1) и «кажущегося» (2) КД-сигналов для ХЖКД, содержащих (в) 4.22×10^{-5} и (г) 4.22×10^{-4} М

ДНК

Fig. 3. (а, б) Characteristic time-resolved curves of the formation of the main (а) and “apparent” (б) CD signals, recorded at the wavelengths of 270 and 350 nm, respectively. The curve numbers correspond to the following DNA content in the system: 1 — 8.44×10^{-6} , 2 — 4.22×10^{-5} , 3 — 8.44×10^{-5} , 4 — 1.69×10^{-4} , 5 — 2.53×10^{-4} , 6 — 3.38×10^{-4} , 7 — 4.22×10^{-4} M. (в, г) Comparison of the kinetic curves of the main (1) and “apparent” (2) CD signals formation for the CLCDs containing (в) 4.22×10^{-5} and (г) 4.22×10^{-4} M of DNA

Таблица 1. Характерные времена процессов эволюции дисперсных частиц, рассчитанные для систем с различным содержанием ДНК по кинетическим кривым формирования основного ($\lambda=270$ нм) и «кажущегося» ($\lambda=350$ нм) КД-сигналов

Table 1. Characteristic times of the evolution processes of the dispersed particles, calculated for the systems with different contents of DNA using kinetic curves for the formation of the main ($\lambda=270$ nm) and “apparent” ($\lambda=350$ nm) CD signals

[ДНК], М	$\lambda=270$ нм			$\lambda=350$ нм		
	$\tau_{\text{КД}_1}$, с	$\tau_{\text{КД}_2}$, с	$\tau_{\text{КД}_3}$, с	$\tau_{\text{КД}_1}$, с	$\tau_{\text{КД}_2}$, с	$\tau_{\text{КД}_3}$, с
8.44×10^{-6}	268.82	41841.00	—	1436.78	14749.26	—
4.22×10^{-5}	61.61	2590.67	—	105.26	11843.32	—
8.44×10^{-5}	47.90	1654.81	—	63.29	9009.01	—
1.27×10^{-4}	33.70	1966.07	—	54.95	1582.28	162866.40
1.69×10^{-4}	26.07	1322.51	4651.14	35.34	1219.51	78125.00
2.11×10^{-4}	24.88	840.34	8190.14	27.40	1004.02	84745.76
2.53×10^{-4}	24.07	714.29	6464.12	29.41	970.87	271002.70
2.95×10^{-4}	26.04	757.58	7299.27	25.91	943.40	165016.50
3.38×10^{-4}	24.10	598.80	4807.69	24.45	862.07	51546.39
3.80×10^{-4}	24.75	507.61	4854.37	26.25	704.23	96153.85
4.22×10^{-4}	25.25	440.53	7074.31	30.03	584.80	137551.60

Рис. 4. Зависимости величин $1/\tau_{\text{КД}_1}$ (а), $1/\tau_{\text{КД}_2}$ (б) и $1/\tau_{\text{КД}_3}$ (в), рассчитанных по кинетическим кривым формирования основного (1; $\lambda=270$ нм) и «кажущегося» (2; $\lambda=350$ нм) КД-сигналов, от концентрации ДНК

Fig. 4. Dependencies of the values of $1/\tau_{\text{КД}_1}$ (a), $1/\tau_{\text{КД}_2}$ (б) and $1/\tau_{\text{КД}_3}$ (в) calculated from the kinetic curves of the main (1; $\lambda=270$ nm) and “apparent” (2; $\lambda=350$ nm) CD signals formation on the concentration of DNA

Сопоставим теперь данные спектральных измерений с результатами детального исследования ХЖКД с различным содержанием ДНК с помощью конфокальной микроскопии. В качестве примера на рис. 5 показаны микрофотографии проб предварительно приготовленных и окрашенных красителем SG дисперсных систем, а также соответствующие им гистограммы распределения частиц по размеру (анализировали только «классические» частицы сферической формы). Видно, что с ростом концентрации ДНК распределение смещается вправо. Так, если при $[\text{ДНК}]=4.22 \times 10^{-5}$ М значительная доля частиц имеет размер меньше 1 мкм, то в системе, содержащей на порядок больше нуклеиновой кислоты, таких не было зарегистрировано вовсе (ср. рис. 5б в 5е). Верхняя граница распределения при этом возрастает с ≈ 1.70 до ≈ 4.19 мкм, а средний размер «классических» сферических частиц ($\langle d \rangle$) увеличивается с ≈ 0.82 до ≈ 2.20 мкм (его зависимость от концентрации ДНК приведена на рис. 6а). Это позволяет предположить, что на начальной стадии из-за дисперсных взаимодействий кинетически независимым молекулам нуклеиновой кислоты легче присоединиться к уже имеющейся частице, чем сформировать новый зародыш. Таким образом, при заданном содержании ПЭГ увеличение $[\text{ДНК}]$ выше определенного предела не должно приводить к существенному росту числа зародышевых частиц. Вместе с тем растет и количество агрегатов. При наименьшей исследованной концентрации ДНК более 98% дисперсных частиц имеют сферическую

форму, тогда как при $[ДНК]=2.11 \times 10^{-4}$ М таковых в системе насчитывается уже около 89%, в свою очередь при наибольшем ее содержании основную часть (почти 64%) представляют крупные агрегаты нерегулярной формы. Соответствующие зависимости относительного числа «классических» сферических частиц и агрегатов от содержания ДНК в системе показаны на рис. 6б. Видно, что область возникновения третьего процесса (выделена серым цветом) точно совпадает с ростом числа агрегатов.

Рис. 5. Микрофотографии образцов ХЖКД, приготовленных с использованием различных концентраций ДНК ((а) 4.22×10^{-5} , (в) 2.11×10^{-4} , (д) 4.22×10^{-4} М), и соответствующие им распределения «классических» частиц по размеру (б), (г), (е) (на вставках представлено количественное соотношение частиц разной морфологии: красный — сферические частицы, синий — агрегаты)

Fig. 5. Micrographs of the CLCD samples prepared using different DNA concentrations ((а) 4.22×10^{-5} , (в) 2.11×10^{-4} , (д) 4.22×10^{-4} М) and the corresponding size distributions for the “classic” particles (б), (г), (е) (insets show the quantitative ratio of the particles of different morphology: spherical ones are shown in red, aggregates in blue)

Рис. 6. Зависимости от концентрации ДНК определенного по данным конфокальной микроскопии среднего размера «классических» частиц (а) и состава образца (б) (1 — доля частиц сферической формы, 2 — доля агрегатов). Пунктиром показаны линейные тренды. Серым цветом на правом рисунке обозначена область возникновения третьего процесса.

Ее границы — величины $[ДНК]$ из табл. 1

Fig. 6. Dependencies of the average size of the “classic” particles (а) determined from confocal microscopy data and the sample composition (б) (1 — proportion of spherical particles, 2 — proportion of aggregates) on the concentration of DNA. Linear trends are shown with dotted

lines. The region of occurrence of the third process is indicated in gray in the right figure. Its boundaries are the [DNA] values from Table 1

На рис. 7 для ХЖКД с различным содержанием ДНК приведено сопоставление полученных с помощью ДРС распределений частиц по размерам. Видно, что при концентрации нуклеиновой кислоты, равной 4.22×10^{-5} М, основная объемная фракция частиц имеет размеры от ≈ 0.25 до ≈ 0.95 мкм. Ее увеличение на порядок до 4.22×10^{-4} М приводит к существенному росту гетерогенности: вкупе с «микронными» частицами (от ≈ 0.45 до ≈ 1.70 мкм) в образце проявляются как совсем небольшие (менее 0.30 мкм), так и весьма крупные образования (от 3 мкм и более). Такое поведение системы в целом довольно неплохо согласуется с описанными выше данными конфокальной микроскопии. Важно, однако, отметить, что метод ДРС имеет ряд недостатков, которые не позволяют использовать его в качестве основного для решения задач настоящей работы. Так, например, он плохо применим для исследования полидисперсных систем. Кроме того, верхний предел в определении размера не позволяет в полной мере «рассмотреть» крупные агрегаты, с легкостью идентифицируемые при помощи микроскопа. Таким образом, применительно к ЖКД ДНК данный метод может давать исключительно качественную оценку. Что же касается наблюдаемых расхождений в части мелкой фракции дисперсных частиц (здесь ДРС безусловно обладает преимуществом), то их отчасти можно объяснить ограничением разрешающей способности микроскопа и/или андерсэмплингом.

Рис. 7. Распределения по размерам частиц для ХЖКД, содержащих (1) 4.22×10^{-5} и (2) 4.22×10^{-4} М ДНК, построенные по данным ДРС

Fig. 7. Particle size distributions constructed from DLS data for the CLCDs containing (1) 4.22×10^{-5} М and (2) 4.22×10^{-4} М of DNA

На рис. 8 для тех же дисперсных систем представлена динамика изменения морфологии частиц со временем. В этом эксперименте 20 мкл образца с заданным временем выдержки после смешения растворов ДНК и ПЭГ помещали тонким слоем между предметным и покровным стеклами. Из-за пространственных ограничений процессы эволюции частиц при этом сильно замедлялись, что давало возможность получать микрофотографии в условиях близких к стационарным. На них отчетливо виден интенсивный рост частиц в первые минуты после внесения ПЭГ. Наиболее выражен он, в полном согласии с вышеописанными данными, для ХЖКД с максимальным содержанием ДНК. В то же время в образце с наименьшей ее концентрацией и выдержкой в 10 с частицы не обнаруживаются. Однако, если обратиться к рис. 3, становится видна корреляция такого поведения системы с возникновением у нее характерных КД-сигналов: этого времени просто недостаточно для существенного прироста амплитуды ни у основного сигнала, ни у «кажущегося». На некоторых микрофотографиях (к примеру, на рис. 8а-4, 8б-1 и 8б-2, 8в-1) можно заметить коалесценцию дисперсных частиц (ее временной порог также зависит от концентрации нуклеиновой кислоты; для наглядности частицы с признаками слияния или близкие к этому выделены контрастным пунктиром). Визуально отличить коалесценцию от агрегации (в принципе, эти процессы могут идти параллельно) представляется возможным, поскольку агрегаты, как видно из динамики систем с высоким содержанием ДНК (центральная и правая колонки на рис. 8), формируются главным образом из крупных частиц. Кроме того, характерные образования нерегулярной формы обнаруживаются в ХЖКД с 2.11×10^{-4} М ДНК лишь через 90 мин после внесения ПЭГ, а в системе с ее содержанием в 4.22×10^{-4} М — через 10 мин. Таким образом, можно заключить, что результаты микроскопических исследований подтверждают наличие всех трех

предполагаемых процессов эволюции дисперсных частиц, а их временные характеристики хорошо согласуются с определенными выше.

Рис. 8. Динамика изменения морфологии частиц ХЖКД, приготовленных с использованием различных концентраций ДНК: (а) 4.22×10^{-5} М, (б) 2.11×10^{-4} М, (в) 4.22×10^{-4} М. Время выдержки образцов обозначено цифрами: 1 — 10 с, 2 — 2 мин, 3 — 10 мин, 4 — 90 мин. На некоторых микрофотографиях частицы с признаками коалесценции или близкие к ней выделены контрастным пунктиром

Fig. 8. Dynamics of changes in the particle morphology for the CLCDs prepared using different DNA concentrations: (a) 4.22×10^{-5} M, (б) 2.11×10^{-4} M, (в) 4.22×10^{-4} M. The holding time of the samples is indicated by numbers: 1 — 10 s, 2 — 2 min, 3 — 10 min, 4 — 90 min. In some micrographs, particles with signs of coalescence or close to it are highlighted with a contrasting dotted line

Важным представляется вопрос — являются ли агрегаты оптически активными? Согласно известному принципу знакопеременной иерархии хиральных структур образования, формирующиеся из хиральных элементов, могут приобретать собственную хиральность противоположного знака [50]. Именно в соответствии с этим принципом левоориентированные молекулы ДНК собираются в правозакрученные дисперсные частицы и наоборот. Как мы говорили выше, процесс, в рамках которого две или более «классические» частицы сливаются с образованием новой более крупной частицы сферической формы, должен сопровождаться перестройкой холестерических слоев. В свою очередь, слипаясь при образовании агрегатов, подсказку об этом дает их гроздевидная форма, «классические» сферические частицы, по-видимому, не теряют своей

индивидуальной внутренней структуры, оставаясь таким образом независимыми «единицами» оптической активности системы.

Вместе с тем агрегация частиц ХЖКД ДНК представляется нам обратимым процессом. Хорошо известно, что таковым является образование мезофаз ДНК в целом [42]. Поскольку считается, что эти системы относятся к лиотропным жидким кристаллам, переход от упорядоченного состояния к изотропному для них возможен при разбавлении или, применительно к исследуемому случаю, при снижении стабилизирующего дисперсные частицы осмотического давления раствора полимера (некоторые аспекты такого перехода были рассмотрены в наших недавних работах [41, 46]).

Рис. 9. Зависимости амплитуд основного (а) и «кажущегося» (б) КД-сигналов от среднего размера $\langle d \rangle$ «классических» частиц сферической формы, определенного по данным конфокальной микроскопии. Пунктиром на правом рисунке показан линейный тренд

Fig. 9. Dependencies of the amplitudes of the main (a) and “apparent” (б) CD signals on the average size $\langle d \rangle$ of the “classic” spherical particles, determined from confocal microscopy data.

The dotted line in the right figure shows the linear trend

Завершим сопоставление спектральных и микроскопических данных построением зависимостей амплитуд основного и «кажущегося» КД-сигналов от среднего размера «классических» сферических частиц (рис. 9). Как показывает теоретический анализ (см. [51]), по мере его увеличения интенсивность основного КД-сигнала дисперсной системы должна возрастать линейно в том случае, если их внутренняя структура (иными словами, расстояние между соседними молекулами ДНК) не изменяется. Напомним, что о постоянстве последней свидетельствуют данные флуоресцентных измерений (рис. 2в и 2г). Полученная нами экспериментальная зависимость в полном соответствии с теорией имеет

строго линейный вид (рис. 8a). Поскольку величина $\langle d \rangle$ определялась исключительно на основании анализа «классических» частиц сферической формы, ее линейность дает основания заключить, что только они являются «единицами» оптической активности системы, а «интегральная» оптическая активность у агрегатов, по-видимому, отсутствует. В свою очередь, отклонение от линейного вида зависимости амплитуды «кажущегося» КД-сигнала от среднего размера «классических» сферических частиц можно объяснить именно тем, что в проведенном анализе не учитывали агрегаты. Заметим, что отклонение начинает проявляться при приближении величины $\langle d \rangle$ к 1.78 мкм. Это соответствует содержанию ДНК в системе, равному 2.53×10^{-4} М (на агрегаты в этом случае приходится более 11% всех частиц).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для получения более полной картины о связи кинетических кривых формирования характерных КД-сигналов ХЖКД ДНК с процессами эволюции дисперсных частиц в настоящей работе впервые проведено сопоставление спектральных измерений с результатами их детального исследования методом конфокальной микроскопии. Экспериментально подтверждены три предполагаемых процесса (также определены их характерные времена), а именно: рост оптически активных сферических частиц за счет присоединения молекул ДНК, их коалесценция, сопровождающаяся перестройкой холестерических слоев и, наконец, имеющая пороговую зависимость от концентрации нуклеиновой кислоты агрегация, в результате которой формируются крупные гроздевидные образования. Сделано предположение об отсутствии у последних «интегральной» оптической активности. Показано, что обусловленный способностью дисперсных частиц рассеивать поляризованный свет так называемый «кажущийся» КД-сигнал ХЖКД ДНК,

которым часто пренебрегают в литературе, является весьма информативным в части изучения процессов их взаимодействия. Подтверждены предположения о независимости расстояний между близлежащими молекулами ДНК в образующих дисперсные частицы холестерических слоев от ее концентрации и о линейности зависимости амплитуды основного КД-сигнала системы от размера оптически активных частиц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Luck G., Zimmer C., Snatzke G. et al. Optical rotatory dispersion and circular dichroism of DNA from various sources at alkaline pH. *Eur. J. Biochem.* 1970. Vol. 17. no. 3. Pp. 514–522.
<https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1970.tb01194.x>
2. Tinoco I., Bustamante C., Maestre M.F. The optical activity of nucleic acids and their aggregates. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 1980. Vol. 9. Pp. 107–141.
<https://doi.org/10.1146/annurev.bb.09.060180.000543>
3. Vorlíčková M., Kejnovská I., Bednářová K. et al. Circular dichroism spectroscopy of DNA: from duplexes to quadruplexes. *Chirality.* 2012. Vol. 24. no. 9. Pp. 691–698.
<https://doi.org/10.1002/chir.22064>
4. Haynes M., Garrett R., Gratzner W. Structure of nucleic acid-poly base complexes. *Biochemistry.* 1970. Vol. 9. no. 22. Pp. 4410–4416.
<https://doi.org/10.1021/bi00824a600>
5. Cowman M.K., Fasman G.D. Circular dichroism analysis of mononucleosome DNA conformation. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 1978. Vol. 75. no. 10. Pp. 4759–4763.
<https://doi.org/10.1073/pnas.75.10.4759>
6. Sipski M.L., Wagner T.E. Probing DNA quaternary ordering with circular dichroism spectroscopy: studies of equine sperm chromosomal fibers. *Biopolymers.* 1977. Vol. 16. no. 3. Pp. 573–582.
<https://doi.org/10.1002/bip.1977.360160308>
7. Winogradoff D., Li P.Y., Joshi H. et al. Chiral systems made from DNA. *Adv. Sci.* 2021. Vol. 8. no. 5. P. 2003113.
<https://doi.org/10.1002/advs.202003113>

8. Gray D.M., Edmondson S.P., Lang D. et al. The circular dichroism and X-ray diffraction of DNA condensed from ethanolic solutions. *Nucleic Acids Res.* 1979. Vol. 6. no. 6. Pp. 2089–2107.

<https://doi.org/10.1093/nar/6.6.2089>

9. Евдокимов Ю.М., Скуридин С.Г., Саянов В.И. и др. Множественность "возвратных" холестерических структур в жидкокристаллических дисперсиях ДНК. *Успехи физических наук.* 2021. Т. 191. № 9. С. 999–1015.

<https://doi.org/10.3367/ufnr.2020.09.038843>

10. Earnshaw W.C., Casjens S.R. DNA packaging by the double-stranded DNA bacteriophages. *Cell.* 1980. Vol. 21. no. 2. Pp. 319–331.

[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(80\)90468-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(80)90468-7)

11. Livolant F. Ordered phases of DNA *in vivo* and *in vitro*. *Phys. A: Stat. Mech. Appl.* 1991. Vol. 176. no. 1. Pp. 117–137.

[https://doi.org/10.1016/0378-4371\(91\)90436-g](https://doi.org/10.1016/0378-4371(91)90436-g)

12. Loiko N., Danilova Y., Moiseenko A. et al. Morphological peculiarities of the DNA-protein complexes in starved *Escherichia coli* cells. *PLoS One.* 2020. Vol. 15. no. 10. P. e0231562.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231562>

13. Contessoto V.G., Dudchenko O., Aiden E.L. et al. Interphase chromosomes of the *Aedes aegypti* mosquito are liquid crystalline and can sense mechanical cues. *Nat. Commun.* 2023. Vol. 14. P. 326.

<https://doi.org/10.1038/s41467-023-35909-2>

14. Попенко В.И., Леонова О.Г., Саянов В.И. и др. Динамика проникновения "твердых" наноконструкций на основе комплексов двухцепочечной ДНК с гадолинием в клетки СНО. *Молекулярная биология.* 2013. Т. 47. № 5. С. 853–860.

15. Колыванова М.А., Лифановский Н.С., Никитин Е.А. и др. О новом подходе к изучению и оценке эффективности ДНК-специфичных радиопротекторов. *Химия высоких энергий*. 2024. Т. 58. № 2. С. 107–116.

<https://doi.org/10.31857/s0023119324020042>

16. Nikitin E.A., Ahmedova Z.A., Kolyvanova M.A. et al. Derivatives of sterically hindered phenols and pyridinecarboxylic acids as prospective radioprotectors. *Mendeleev Commun.* 2025. Vol. 35. no. 4. Pp. 433–436.

<https://doi.org/10.71267/mencom.7671>

17. Скуридин С.Г., Верещагин Ф.В., Гусев В.М. и др. Использование частиц холестерической жидкокристаллической дисперсии ДНК в качестве биодатчика для определения наличия и концентрации доксорубина в растворах и плазме крови. *Жидкие кристаллы и их практическое использование*. 2020. Т. 20. № 3. С. 80–91.

<https://doi.org/10.18083/lcappl.2020.3.80>

18. de Groot F.M.H., Gottarelli G., Masiero S. et al. Towards radiation-sensitive quasi-biological display. *Angewandte Chemie*. 1997. Vol. 36. no. 9. Pp. 954–955.

<https://doi.org/10.1002/anie.199709541>

19. Kolyvanova M.A., Klimovich M.A., Shibaeva A.V. et al. Cholesteric liquid-crystalline DNA — a new type of chemical detector of ionizing radiation. *Liq. Cryst.* 2022. Vol. 49. no. 10. Pp. 1359–1366.

<https://doi.org/10.1080/02678292.2022.2032854>

20. Kolyvanova M.A., Klimovich M.A., Belousov A.V. et al. A principal approach to the detection of radiation-induced DNA damage by circular dichroism spectroscopy and its dosimetric application. *Photonics*. 2022. Vol. 9. no. 11. P. 787.

<https://doi.org/10.3390/photonics9110787>

21. Колыванова М.А., Климович М.А., Белоусов А.В. и др. О действии ионизирующего излучения на флуоресцентный краситель в растворе, в комплексе с ДНК и в ее холестерической жидкокристаллической дисперсии. *Химия высоких энергий*. 2025. Т. 59. № 5. С. 322–335.

<https://doi.org/10.31857/s0023119325050044>

22. Jordan C.F., Lerman L.S., Venable J.H. Structure and circular dichroism of DNA in concentrated polymer solutions. *Nat. New Biol.* 1972. Vol. 236. no. 64. Pp. 67–70.

<https://doi.org/10.1038/newbio236067a0>

23. Vasilevskaya V.V., Khokhlov A.R., Matsuzawa Y. et al. Collapse of single DNA molecule in poly(ethylene glycol) solutions. *J. Chem. Phys.* 1995. Vol. 102. no. 16. Pp. 6595–6602.

<https://doi.org/10.1063/1.469375>

24. Ramos J.E.B., de Vries R., Neto J.R. DNA ψ -condensation and reentrant decondensation: effect of the PEG degree of polymerization. *J. Phys. Chem. B.* 2005. Vol. 109. no. 49. Pp. 23661–23665.

<https://doi.org/10.1021/jp0527103>

25. Chao Cheng, Jun-Li Jia, Shi-Yong Ran. Polyethylene glycol and divalent salt-induced DNA reentrant condensation revealed by single molecule measurements. *Soft Matter*. 2015. Vol. 11. no. 19. Pp. 3927–3935.

<https://doi.org/10.1039/c5sm00619h>

26. Евдокимов Ю.М., Саянов В.И., Семенов С.В. и др. *Жидкокристаллические дисперсии и наноконструкции ДНК*. Москва: Радиотехника, 2008.

27. Скуридин С.Г., Лорткипанидзе Г.Б., Мусаев О.Р., и др. Формирование жидкокристаллических микрофаз двухцепочечных нуклеиновых кислот и синтетических

полинуклеотидов низкой молекулярной массы. *Высокомолекулярные соединения. Серия А.* 1985. Т. 27. № 11. С. 2261–2265.

28. Скуридин С.Г., Дембо А.Т., Евдокимов Ю.М. Пространственная жидкокристаллическая упаковка двухцепочечных молекул ДНК при различном катионном составе растворителя. *Биофизика.* 1985. Т. 30. № 5. С. 750–757.

29. Morozov V.N., Klimovich M.A., Kostyukov A.A. et al. Förster resonance energy transfer from Hoechst 33258 to SYBR Green I in cholesteric liquid-crystalline DNA. *J. Lumin.* 2022. Vol. 252. P. 119381.
<https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2022.119381>

30. Климович М.А., Колыванова М.А., Дементьева О.В. и др. Влияние старения ультрамалых наночастиц золота на их взаимодействие с холестерическими микрочастицами ДНК. *Коллоидный журнал.* 2023. Т. 85. № 5. С. 583–592.
<https://doi.org/10.31857/s0023291223600542>

31. Morozov V.N., Klimovich M.A., Shibaeva A.V. et al. Optical polymorphism of liquid–crystalline dispersions of DNA at high concentrations of crowding polymer. *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24. no. 14. P. 11365.
<https://doi.org/10.3390/ijms241411365>

32. Muzzopappa F., Hertzog M., Erdel F. DNA length tunes the fluidity of DNA-based condensates. *Biophys. J.* 2021. Vol. 120. no. 7. Pp. 1288–1300.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2021.02.027>

33. Ouameur A.A., Tajmir-Riahi H.-A. Structural analysis of DNA interactions with biogenic polyamines and cobalt(III)hexamine studied by Fourier transform infrared and capillary electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. no. 40. Pp. 42041–42054.
<https://doi.org/10.1074/jbc.m406053200>

34. Zipper H., Brunner H., Bernhagen J. et al. Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determination and methodological implications. *Nucleic Acids Res.* 2004. Vol. 32. no. 12. P. e103.
<https://doi.org/10.1093/nar/gnh101>
35. Компанец О.Н. Портативные оптические биосенсоры для определения биологически активных и токсичных соединений. *Успехи физических наук.* 2004. Т. 174. № 6. С. 686–690.
<https://doi.org/10.3367/UFNr.0174.200406k.0686>
36. Miyahara T., Nakatsuji H., Sugiyama H. Helical structure and circular dichroism spectra of DNA: a theoretical study. *J. Phys. Chem. A.* 2013. Vol. 117. no. 1. Pp. 42–55.
<https://doi.org/10.1021/jp3085556>
37. Евдокимов Ю.М., Скуридин С.Г., Салянов В.И. и др. О пространственной организации двухцепочечных молекул ДНК в холестерической жидкокристаллической фазе и частицах дисперсии этой фазы. *Биофизика.* 2015. Т. 60. № 5. С. 861–876.
38. Keller D., Bustamante C. Theory of the interaction of light with large inhomogeneous molecular aggregates. II. Psi-type circular dichroism. *J. Chem. Phys.* 1986. Vol. 84. no. 6. Pp. 2972–2980.
<https://doi.org/10.1063/1.450278>
39. Nordén B. Applications of linear dichroism spectroscopy. *Appl. Spectrosc. Rev.* 1978. Vol. 14. no. 2. Pp. 157–248.
<https://doi.org/10.1080/05704927808060393>
40. Bustamante C., Tinoco I., Maestre M.F. Circular differential scattering can be an important part of the circular dichroism of macromolecules. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 1983. Vol. 80. no. 12. Pp. 3568–3572.
<https://doi.org/10.1073/pnas.80.12.3568>

41. Колыванова М.А., Климович М.А., Шибаева А.В. и др. О некоторых особенностях взаимодействия ультрамалых наночастиц золота с жидкокристаллическими микрочастицами ДНК. *Коллоидный журнал*. 2025. Т. 87. № 5. С. 506–526.
<https://doi.org/10.7868/s3034543x25050038>
42. Livolant F., Leforestier A. Condensed phases of DNA: Structures and phase transitions. *Prog. Polym. Sci.* 1996. Vol. 21. no. 6. Pp. 1115–1164.
[https://doi.org/10.1016/s0079-6700\(96\)00016-0](https://doi.org/10.1016/s0079-6700(96)00016-0)
43. Yevdokimov Y.M., Skuridin S.G., Semenov S.V. et al. Re-entrant cholesteric phase in DNA liquid-crystalline dispersion particles. *J. Biol. Phys.* 2017. Vol. 43. no. 1. Pp. 45–68.
<https://doi.org/10.1007/s10867-016-9433-4>
44. Stryer L., Haugland R.P. Energy transfer: a spectroscopic ruler. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 1967. Vol. 58. no. 2. Pp. 719–726.
<https://doi.org/10.1073/pnas.58.2.719>
45. Dragan A.I., Pavlovic R., McGivney J.B. et al. SYBR Green I: fluorescence properties and interaction with DNA. *J. Fluoresc.* 2012. Vol. 22. no. 4. Pp. 1189–1199.
<https://doi.org/10.1007/s10895-012-1059-8>
46. Колыванова М.А., Климович М.А., Шишмакова Е.М. и др. Взаимодействие ультрамалых наночастиц золота с жидкокристаллическими микрочастицами ДНК: разрушение vs стабилизация. *Коллоидный журнал*. 2024. Т. 86. № 3. С. 344–356.
<https://doi.org/10.31857/s0023291224030049>
47. Скуридин С.Г., Дубинская В.А., Штыкова Э.В. и др. Фиксация наночастиц золота в структуре квазинематических слоев, образованных молекулами ДНК. *Биологические мембраны*. 2011. Т. 28. № 3. С. 191–198.

48. Yevdokimov Y.M., Salyanov V.I., Shtykova E.V. et al. A transition in DNA molecule's spatial ordering due to nano-scale structural changes. *The Open Nanoscience Journal*. 2008. Vol. 2. Pp. 17–28.

<https://doi.org/10.2174/1874140100802010017>

49. Morozov V.N., Kolyvanova M.A., Dement'eva O.V. et al. Fluorescence superquenching of SYBR Green I in crowded DNA by gold nanoparticles. *J. Lumin.* 2020. Vol. 219. P. 116898.

<https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2019.116898>

50. Твердислов В.А., Малышко Е.В. О закономерностях спонтанного формирования структурных иерархий в хиральных системах неживой и живой природы. *Успехи физических наук*. 2019. Т. 189. № 4. С. 375–385.

<https://doi.org/10.3367/UFNr.2018.08.038401>

51. Семенов С.В., Евдокимов Ю.М. Круговой дихроизм частиц жидкокристаллических дисперсий ДНК. *Биофизика*. 2015. Т. 60. № 2. С. 242–252.

REFERENCES

1. Luck G., Zimmer C., Snatzke G. et al. Optical rotatory dispersion and circular dichroism of DNA from various sources at alkaline pH. *Eur. J. Biochem.* 1970;**17**(3):514–522.
<https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1970.tb01194.x>
2. Tinoco I., Bustamante C., Maestre M.F. The optical activity of nucleic acids and their aggregates. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 1980;**9**:107–141.
<https://doi.org/10.1146/annurev.bb.09.060180.000543>
3. Vorlíčková M., Kejnovská I., Bednářová K. et al. Circular dichroism spectroscopy of DNA: from duplexes to quadruplexes. *Chirality.* 2012;**24**(9):691–698.
<https://doi.org/10.1002/chir.22064>
4. Haynes M., Garrett R., Gratzer W. Structure of nucleic acid-poly base complexes. *Biochemistry.* 1970;**9**(22):4410–4416.
<https://doi.org/10.1021/bi00824a600>
5. Cowman M.K., Fasman G.D. Circular dichroism analysis of mononucleosome DNA conformation. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 1978;**75**(10):4759–4763.
<https://doi.org/10.1073/pnas.75.10.4759>
6. Sipski M.L., Wagner T.E. Probing DNA quaternary ordering with circular dichroism spectroscopy: studies of equine sperm chromosomal fibers. *Biopolymers.* 1977;**16**(3):573–582.
<https://doi.org/10.1002/bip.1977.360160308>
7. Winogradoff D., Li P.Y., Joshi H. et al. Chiral systems made from DNA. *Adv. Sci.* 2021;**8**(5):2003113.
<https://doi.org/10.1002/advs.202003113>
8. Gray D.M., Edmondson S.P., Lang D. et al. The circular dichroism and X-ray diffraction of DNA condensed from ethanolic solutions. *Nucleic Acids Res.* 1979;**6**(6):2089–2107.

<https://doi.org/10.1093/nar/6.6.2089>

9. Yevdokimov Y.M., Skuridin S.G., Salyanov V.I. et al. Multiplicity of ‘re-entrant’ cholesteric structures in DNA liquid-crystalline dispersions. *Phys. Usp.* 2021;**64**(9):947–963.

<https://doi.org/10.3367/ufne.2020.09.038843>

10. Earnshaw W.C., Casjens S.R. DNA packaging by the double-stranded DNA bacteriophages. *Cell.* 1980;**21**(2):319–331.

[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(80\)90468-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(80)90468-7)

11. Livolant F. Ordered phases of DNA *in vivo* and *in vitro*. *Phys. A: Stat. Mech. Appl.* 1991;**176**(1):117–137.

[https://doi.org/10.1016/0378-4371\(91\)90436-g](https://doi.org/10.1016/0378-4371(91)90436-g)

12. Loiko N., Danilova Y., Moiseenko A. et al. Morphological peculiarities of the DNA-protein complexes in starved *Escherichia coli* cells. *PLoS One.* 2020;**15**(10):e0231562.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231562>

13. Contessoto V.G., Dudchenko O., Aiden E.L. et al. Interphase chromosomes of the *Aedes aegypti* mosquito are liquid crystalline and can sense mechanical cues. *Nat. Commun.* 2023;**14**:326.

<https://doi.org/10.1038/s41467-023-35909-2>

14. Popenko V.I., Leonova O.G., Salyanov V.I. et al. Dynamics of penetration of “rigid” nanostructures of double-stranded DNA complexed with gadolinium into CHO cells. *Mol. Biol.* 2013;**47**(5):743–750.

<https://doi.org/10.1134/s0026893313050178>

15. Kolyvanova M.A., Lifanovsky N.S., Nikitin E.A. et al. On a novel approach to investigation and evaluation of the efficacy of DNA-binding radioprotectors. *High Energy Chem.* 2024;**58**(1):134–142.

<https://doi.org/10.1134/s0018143924010107>

16. Nikitin E.A., Ahmedova Z.A., Kolyvanova M.A. et al. Derivatives of sterically hindered phenols and pyridinecarboxylic acids as prospective radioprotectors. *Mendeleev Commun.* 2025;**35**(4):433–436.

<https://doi.org/10.71267/mencom.7671>

17 Skuridin S.G., Vereshchagin F.V., Gusev V.M. et al. Ispolzovanie chastits kholestericheskoi zhidkokristallicheskoi dispersii DNK v kachestve biodatchika dlia opredeleniia nalichiia i kontsentratsii doksorubitsina v rastvorakh i plazme krovi [Application of cholesteric liquid-crystalline DNA dispersion particles as biosensing units for determination of presence and concentration of doxorubicin in solutions and blood plasma]. *Zhidkie kristally i ikh prakticheskoe ispolzovanie.* 2020;**20**(3):80–91. (In Russ.)

<https://doi.org/10.18083/lcappl.2020.3.80>

18. de Groot F.M.H., Gottarelli G., Masiero S. et al. Towards radiation-sensitive quasi-biological display. *Angewandte Chemie.* 1997;**36**(9):954–955.

<https://doi.org/10.1002/anie.199709541>

19. Kolyvanova M.A., Klimovich M.A., Shibaeva A.V. et al. Cholesteric liquid-crystalline DNA — a new type of chemical detector of ionizing radiation. *Liq. Cryst.* 2022;**49**(10):1359–1366.

<https://doi.org/10.1080/02678292.2022.2032854>

20. Kolyvanova M.A., Klimovich M.A., Belousov A.V. et al. A principal approach to the detection of radiation-induced DNA damage by circular dichroism spectroscopy and its dosimetric application. *Photonics.* 2022;**9**(11):787.

<https://doi.org/10.3390/photonics9110787>

21. Kolyvanova M.A., Klimovich M.A., Belousov A.V. et al. On the effects of ionizing radiation on a fluorescent dye in solution, in complex with DNA, and in its cholesteric liquid-crystalline dispersions. *High Energy Chem.* 2025;**59**(5):471–482.

<https://doi.org/10.1134/s0018143925700250>

22. Jordan C.F., Lerman L.S., Venable J.H. Structure and circular dichroism of DNA in concentrated polymer solutions. *Nat. New Biol.* 1972;**236**(64):67–70.

<https://doi.org/10.1038/newbio236067a0>

23. Vasilevskaya V.V., Khokhlov A.R., Matsuzawa Y. et al. Collapse of single DNA molecule in poly(ethylene glycol) solutions. *J. Chem. Phys.* 1995;**102**(16):6595–6602.

<https://doi.org/10.1063/1.469375>

24. Ramos J.E.B., de Vries R., Neto J.R. DNA ψ -condensation and reentrant decondensation: effect of the PEG degree of polymerization. *J. Phys. Chem. B.* 2005;**109**(49):23661–23665.

<https://doi.org/10.1021/jp0527103>

25. Chao Cheng, Jun-Li Jia, Shi-Yong Ran. Polyethylene glycol and divalent salt-induced DNA reentrant condensation revealed by single molecule measurements. *Soft Matter.* 2015;**11**(19):3927–3935.

<https://doi.org/10.1039/c5sm00619h>

26. Yevdokimov Y.M., Salyanov V.I., Semenov S.V. et al. *DNA liquid-crystalline dispersions and nanoconstructions*. Boca Raton: CRC Press, 2011.

27. Skuridin S.G., Lortkipanidze G.B., Musayev O.R., et al. Formation of liquid-crystalline microphases of two-chain nucleic acids and synthetic polynucleotides of low molecular mass. *Polymer Science U.S.S.R.* 1985;**27**(11):2543–2551.

[https://doi.org/10.1016/0032-3950\(85\)90446-0](https://doi.org/10.1016/0032-3950(85)90446-0)

28. Skuridin S.G., Dembo A.T., Yevdokimov Y.M. Space liquid-crystalline ordering of double-stranded DNA molecules at different cation content of the solvent. *Biophysics.* 1985;**30**(5):813–821.

29. Morozov V.N., Klimovich M.A., Kostyukov A.A. et al. Förster resonance energy transfer from Hoechst 33258 to SYBR Green I in cholesteric liquid-crystalline DNA. *J. Lumin.* 2022;**252**:119381.
<https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2022.119381>
30. Klimovich M.A., Kolyvanova M.A., Dement'eva O.V. et al. Impact of the aging of ultrasmall gold nanoparticles on their interaction with cholesteric DNA microparticles. *Colloid J.* 2023;**85**(5):703–711.
<https://doi.org/10.1134/s1061933x23600550>
31. Morozov V.N., Klimovich M.A., Shibaeva A.V. et al. Optical polymorphism of liquid–crystalline dispersions of DNA at high concentrations of crowding polymer. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;**24**(14):11365.
<https://doi.org/10.3390/ijms241411365>
32. Muzzopappa F., Hertzog M., Erdel F. DNA length tunes the fluidity of DNA-based condensates. *Biophys. J.* 2021;**120**(7):1288–1300.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2021.02.027>
33. Ouameur A.A., Tajmir-Riahi H.-A. Structural analysis of DNA interactions with biogenic polyamines and cobalt(III)hexamine studied by Fourier transform infrared and capillary electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 2004;**279**(40):42041–42054.
<https://doi.org/10.1074/jbc.m406053200>
34. Zipper H., Brunner H., Bernhagen J. et al. Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determination and methodological implications. *Nucleic Acids Res.* 2004;**32**(12):e103.
<https://doi.org/10.1093/nar/gnh101>
35. Kompanets O.N. Portable optical biosensors for the determination of biologically active and toxic compounds. *Phys. Usp.* 2004;**47**(6):630–633.

<https://doi.org/10.1070/pu2004v047n06abeh001828>

36. Miyahara T., Nakatsuji H., Sugiyama H. Helical structure and circular dichroism spectra of DNA: a theoretical study. *J. Phys. Chem. A.* 2013;**117**(1):42–55.

<https://doi.org/10.1021/jp3085556>

37. Yevdokimov Y.M., Skuridin S.G., Salyanov V.I. et al. About the spatial organization of double-stranded DNA molecules in the cholesteric liquid-crystalline phase and dispersion particles of this phase. *Biophysics.* 2015;**60**(5):708–721.

<https://doi.org/10.1134/s0006350915050036>

38. Keller D., Bustamante C. Theory of the interaction of light with large inhomogeneous molecular aggregates. II. Psi-type circular dichroism. *J. Chem. Phys.* 1986;**84**(6):2972–2980.

<https://doi.org/10.1063/1.450278>

39. Nordén B. Applications of linear dichroism spectroscopy. *Appl. Spectrosc. Rev.* 1978;**14**(2):157–248.

<https://doi.org/10.1080/05704927808060393>

40. Bustamante C., Tinoco I., Maestre M.F. Circular differential scattering can be an important part of the circular dichroism of macromolecules. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 1983;**80**(12):3568–3572.

<https://doi.org/10.1073/pnas.80.12.3568>

41. Kolyvanova M.A., Klimovich M.A., Shibaeva A.V. et al. On some features of the interaction of ultrasmall gold nanoparticles with liquid-crystalline DNA microparticles. *Colloid J.* 2025;**87**(5):638–655.

<https://doi.org/10.1134/s1061933x25600289>

42. Livolant F., Leforestier A. Condensed phases of DNA: Structures and phase transitions. *Prog. Polym. Sci.* 1996;**21**(6):1115–1164.

[https://doi.org/10.1016/s0079-6700\(96\)00016-0](https://doi.org/10.1016/s0079-6700(96)00016-0)

43. Yevdokimov Y.M., Skuridin S.G., Semenov S.V. et al. Re-entrant cholesteric phase in DNA liquid-crystalline dispersion particles. *J. Biol. Phys.* 2017;**43**(1):45–68.

<https://doi.org/10.1007/s10867-016-9433-4>

44. Stryer L., Haugland R.P. Energy transfer: a spectroscopic ruler. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 1967;**58**(2):719–726.

<https://doi.org/10.1073/pnas.58.2.719>

45. Dragan A.I., Pavlovic R., McGivney J.B. et al. SYBR Green I: fluorescence properties and interaction with DNA. *J. Fluoresc.* 2012;**22**(4):1189–1199.

<https://doi.org/10.1007/s10895-012-1059-8>

46. Kolyvanova M.A., Klimovich M.A., Shishmakova E.M. et al. Interaction of ultrasmall gold nanoparticles with liquid-crystalline DNA microparticles: Destruction vs stabilization. *Colloid J.* 2024;**86**(3):396–407.

<https://doi.org/10.1134/s1061933x24600234>

47. Skuridin S.G., Dubinskaya V.A., Shtykova E.V. et al. Retention of gold nanoparticles in the structure of quasinematic layers formed by DNA molecules. *Biochem. Moscow Suppl. Ser. A.* 2011;**5**(2):191–197.

<https://doi.org/10.1134/s1990747811030068>

48. Yevdokimov Y.M., Salyanov V.I., Shtykova E.V. et al. A transition in DNA molecule's spatial ordering due to nano-scale structural changes. *The Open Nanoscience Journal.* 2008;**2**:17–28.

<https://doi.org/10.2174/1874140100802010017>

49. Morozov V.N., Kolyvanova M.A., Dement'eva O.V. et al. Fluorescence superquenching of SYBR Green I in crowded DNA by gold nanoparticles. *J. Lumin.* 2020;**219**:116898.

<https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2019.116898>

50. Tverdislov V.A., Malyshko E.V. On regularities in the spontaneous formation of structural hierarchies in chiral systems of nonliving and living matter. *Phys. Usp.* 2019;**62**(4):354–363.

<https://doi.org/10.3367/UFNe.2018.08.038401>

51. Semenov S.V., Yevdokimov Y.M. Circular dichroism of DNA liquid-crystalline dispersion particles. *Biophysics.* 2015;**60**(2):188–196.

<https://doi.org/10.1134/s0006350915020177>

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ

Схема 1. Обобщенное представление образования частицы ХЖКД ДНК в условиях *psi*-конденсации

Scheme 1. Generalized representation of the formation of DNA CLCD particle under *psi*-condensation conditions

Рис. 1. КД-спектры изотропного раствора ДНК (1) и ХЖКД ДНК с 18 масс. % ПЭГ (2 — приведенный к нулю, 3 — без зануления). Концентрация нуклеиновой кислоты равна 1.26×10^{-4} М

Fig. 1. CD spectra of isotropic DNA solution (1) and DNA CLCD with 18 wt % of PEG (2 — corrected to zero, 3 — without correction). The nucleic acid concentration is 1.26×10^{-4} М

Рис. 2. (а) КД-спектры ХЖКД с различным содержанием ДНК: 1 — 8.44×10^{-6} , 2 — 4.22×10^{-5} , 3 — 8.44×10^{-5} , 4 — 1.27×10^{-4} , 5 — 1.69×10^{-4} , 6 — 2.11×10^{-4} , 7 — 2.53×10^{-4} , 8 — 2.95×10^{-4} , 9 — 3.38×10^{-4} , 10 — 3.80×10^{-4} , 11 — 4.22×10^{-4} М. На вставке представлены участки спектров без зануления «кажущегося» сигнала. (б) Зависимости от концентрации ДНК амплитуды (1) и положения пика (2) основного КД-сигнала, а также амплитуды «кажущегося» (3). (в) Время-разрешенные кривые гибели флуоресценции SG (1 — 3.50×10^{-7} , 2 — 1.75×10^{-6} , 3 — 3.50×10^{-6} , 4 — 5.25×10^{-6} , 5 — 7.00×10^{-6} , 6 — 8.75×10^{-6} , 7 — 1.05×10^{-5} , 8 — 1.23×10^{-5} , 9 — 1.40×10^{-5} , 10 — 1.58×10^{-5} , 11 — 1.75×10^{-5} М) в исследуемых дисперсных системах. Кривая для молекулярного раствора нуклеиновой кислоты ($[ДНК]=1.69 \times 10^{-4}$ М, $[SG]=7.00 \times 10^{-6}$ М) обозначена как 0. (г) Зависимости от концентрации красителя времен жизни его возбужденного состояния (1 — $\tau_{фл_1}$, 2 — $\tau_{фл_2}$) и их вкладов в полную амплитуду флуоресценции (3 — $A_{фл_1}$, 4 — $A_{фл_2}$)

Figure 2. (a) CD spectra of the CLCDs with different content of DNA: 1 — 8.44×10^{-6} , 2 — 4.22×10^{-5} , 3 — 8.44×10^{-5} , 4 — 1.27×10^{-4} , 5 — 1.69×10^{-4} , 6 — 2.11×10^{-4} , 7 — 2.53×10^{-4} , 8 — 2.95×10^{-4} , 9 — 3.38×10^{-4} , 10 — 3.80×10^{-4} , 11 — 4.22×10^{-4} M. Inset shows fragments of the spectra without correction of the “apparent” signal to zero. (б) Dependencies of the amplitude (1) and peak position (2) of the main CD signal, as well as the amplitude of the “apparent” one (3) on the concentration of DNA. (в) Time-resolved fluorescence decay curves of SG (1 — 3.50×10^{-7} , 2 — 1.75×10^{-6} , 3 — 3.50×10^{-6} , 4 — 5.25×10^{-6} , 5 — 7.00×10^{-6} , 6 — 8.75×10^{-6} , 7 — 1.05×10^{-5} , 8 — 1.23×10^{-5} , 9 — 1.40×10^{-5} , 10 — 1.58×10^{-5} , 11 — 1.75×10^{-5} M) in the studied dispersed systems. The curve for molecular solution of the nucleic acid ([DNA] = 1.69×10^{-4} M, [SG] = 7.00×10^{-6} M) is designated as 0. (г) Dependencies of the lifetimes of SG excited state (1 — τ_{fl_1} , 2 — τ_{fl_2}) and their contributions to the total fluorescence amplitude (3 — A_{fl_1} , 4 — A_{fl_2}) on the dye concentration

Рис. 3. (а, б) Характерные время-разрешенные кривые формирования основного (а) и «кажущегося» (б) КД-сигналов, зарегистрированные на длинах волны 270 и 350 нм соответственно. Номера кривых соответствуют следующему содержанию ДНК в системе: 1 — 8.44×10^{-6} , 2 — 4.22×10^{-5} , 3 — 8.44×10^{-5} , 4 — 1.69×10^{-4} , 5 — 2.53×10^{-4} , 6 — 3.38×10^{-4} , 7 — 4.22×10^{-4} М. (в, г) Сопоставление кинетических кривых формирования основного (1) и «кажущегося» (2) КД-сигналов для ХЖКД, содержащих (в) 4.22×10^{-5} и (г) 4.22×10^{-4} М ДНК

Fig. 3. (а, б) Characteristic time-resolved curves of the formation of the main (а) and “apparent” (б) CD signals, recorded at the wavelengths of 270 and 350 nm, respectively. The curve numbers correspond to the following DNA content in the system: 1 — 8.44×10^{-6} , 2 — 4.22×10^{-5} , 3 — 8.44×10^{-5} , 4 — 1.69×10^{-4} , 5 — 2.53×10^{-4} , 6 — 3.38×10^{-4} , 7 — 4.22×10^{-4} M. (в, г)

Comparison of the kinetic curves of the main (1) and “apparent” (2) CD signals formation for the CLCDs containing (в) 4.22×10^{-5} and (г) 4.22×10^{-4} M of DNA

Рис. 4. Зависимости величин $1/\tau_{\text{КД}_1}$ (а), $1/\tau_{\text{КД}_2}$ (б) и $1/\tau_{\text{КД}_3}$ (в), рассчитанных по кинетическим кривым формирования основного (1; $\lambda=270$ нм) и «кажущегося» (2; $\lambda=350$ нм) КД-сигналов, от концентрации ДНК

Fig. 4. Dependencies of the values of $1/\tau_{\text{КД}_1}$ (а), $1/\tau_{\text{КД}_2}$ (б) and $1/\tau_{\text{КД}_3}$ (в) calculated from the kinetic curves of the main (1; $\lambda=270$ nm) and “apparent” (2; $\lambda=350$ nm) CD signals formation on the concentration of DNA

Рис. 5. Микрофотографии образцов ХЖКД, приготовленных с использованием различных концентраций ДНК ((а) 4.22×10^{-5} , (в) 2.11×10^{-4} , (д) 4.22×10^{-4} М), и соответствующие им распределения «классических» частиц по размеру (б), (г), (е) (на вставках представлено количественное соотношение частиц разной морфологии: красный — сферические частицы, синий — агрегаты)

Fig. 5. Micrographs of the CLCD samples prepared using different DNA concentrations ((а) 4.22×10^{-5} , (в) 2.11×10^{-4} , (д) 4.22×10^{-4} M) and the corresponding size distributions for the “classic” particles (б), (г), (е) (insets show the quantitative ratio of the particles of different morphology: spherical ones are shown in red, aggregates in blue)

Рис. 6. Зависимости от концентрации ДНК определенного по данным конфокальной микроскопии среднего размера «классических» частиц (а) и состава образца (б) (1 — доля частиц сферической формы, 2 — доля агрегатов). Пунктиром показаны линейные тренды. Серым цветом на правом рисунке обозначена область возникновения третьего процесса. Ее границы — величины [ДНК] из табл. 1

Fig. 6. Dependencies of the average size of the “classic” particles (a) determined from confocal microscopy data and the sample composition (б) (1 — proportion of spherical particles, 2 — proportion of aggregates) on the concentration of DNA. Linear trends are shown with dotted lines. The region of occurrence of the third process is indicated in gray in the right figure. Its boundaries are the [DNA] values from Table 1

Рис. 7. Распределения по размерам частиц для ХЖКД, содержащих (1) 4.22×10^{-5} и (2) 4.22×10^{-4} М ДНК, построенные по данным ДРС

Fig. 7. Particle size distributions constructed from DLS data for the CLCDs containing (1) 4.22×10^{-5} M and (2) 4.22×10^{-4} M of DNA

Рис. 8. Динамика изменения морфологии частиц ХЖКД, приготовленных с использованием различных концентраций ДНК: (а) 4.22×10^{-5} М, (б) 2.11×10^{-4} М, (в) 4.22×10^{-4} М. Время выдержки образцов обозначено цифрами: 1 — 10 с, 2 — 2 мин, 3 — 10 мин, 4 — 90 мин. На некоторых микрофотографиях частицы с признаками коалесценции или близкие к ней выделены контрастным пунктиром

Fig. 8. Dynamics of changes in the particle morphology for the CLCDs prepared using different DNA concentrations: (a) 4.22×10^{-5} M, (б) 2.11×10^{-4} M, (в) 4.22×10^{-4} M. The holding time of the samples is indicated by numbers: 1 — 10 s, 2 — 2 min, 3 — 10 min, 4 — 90 min. In some micrographs, particles with signs of coalescence or close to it are highlighted with a contrasting dotted line

Рис. 9. Зависимости амплитуд основного (а) и «кажущегося» (б) КД-сигналов от среднего размера $\langle d \rangle$ «классических» частиц сферической формы, определенного по

данным конфокальной микроскопии. Пунктиром на правом рисунке показан линейный тренд

Fig. 9. Dependencies of the amplitudes of the main (a) and “apparent” (б) CD signals on the average size $\langle d \rangle$ of the “classic” spherical particles, determined from confocal microscopy data. The dotted line in the right figure shows the linear trend

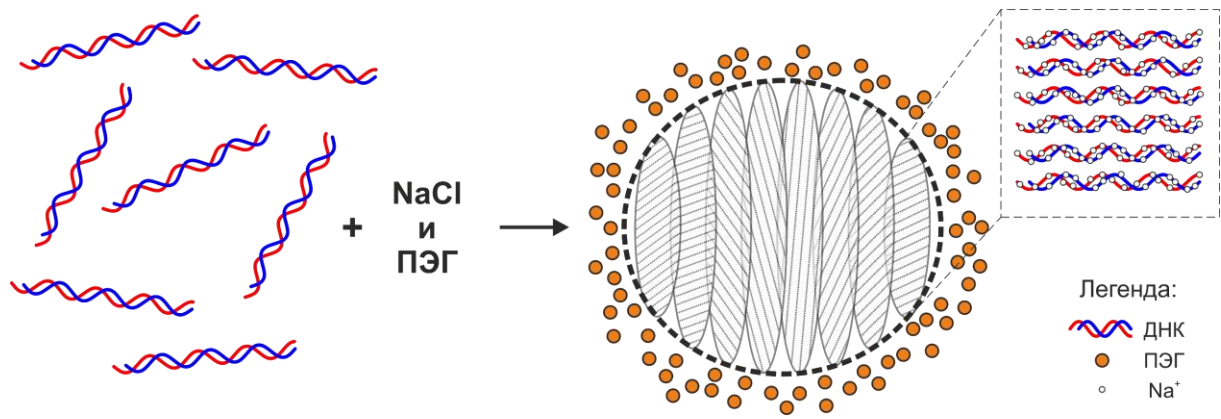


Схема 1. Колыванова

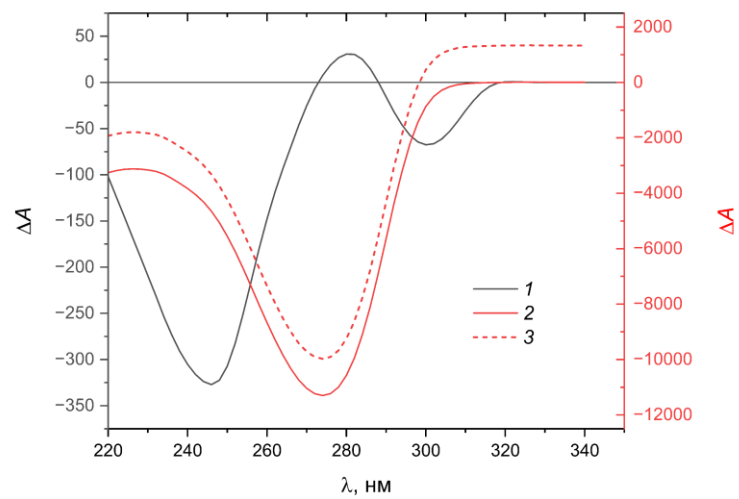


Рисунок 1. Колыванова

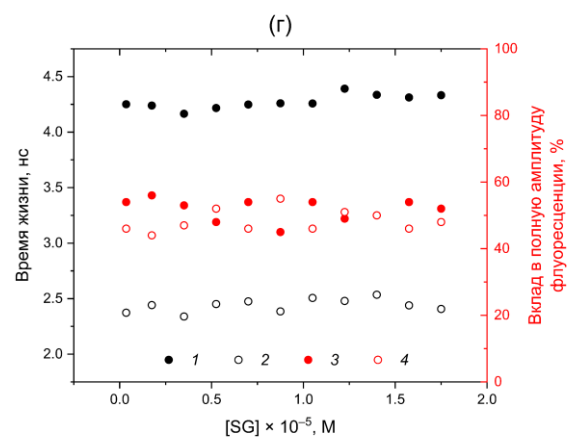
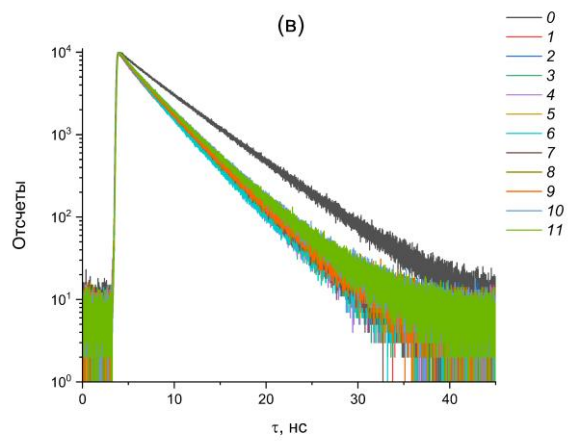
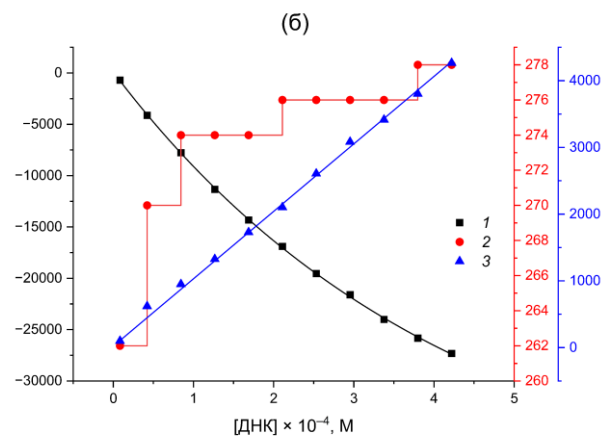
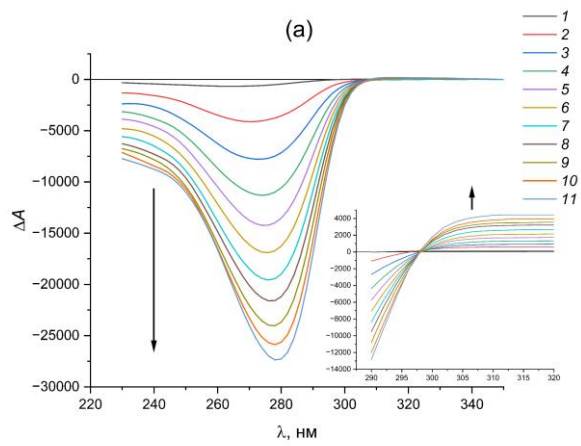


Рисунок 2. Колыванова

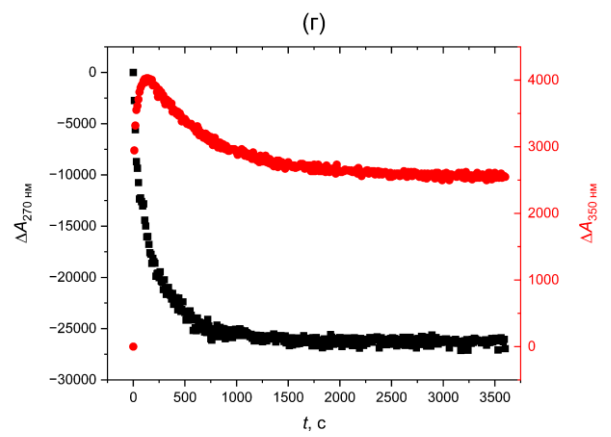
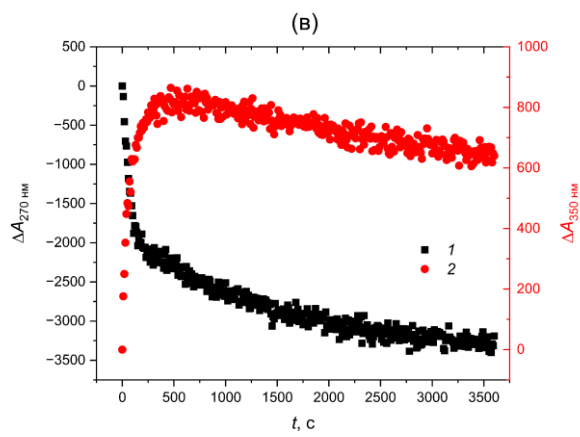
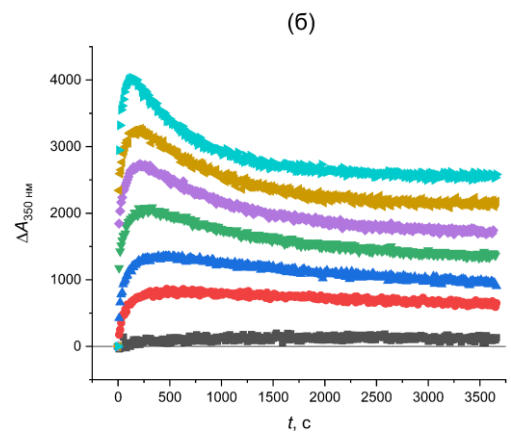
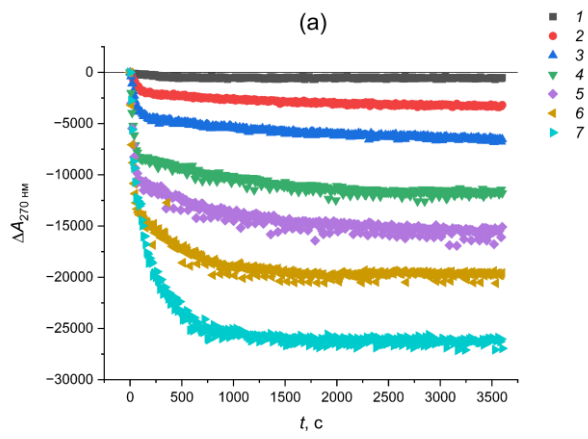


Рисунок 3. Колыванова

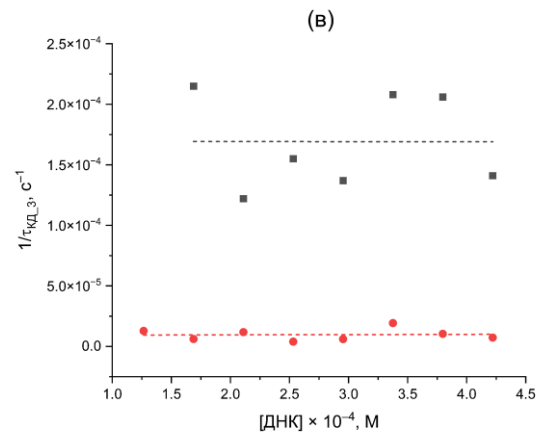
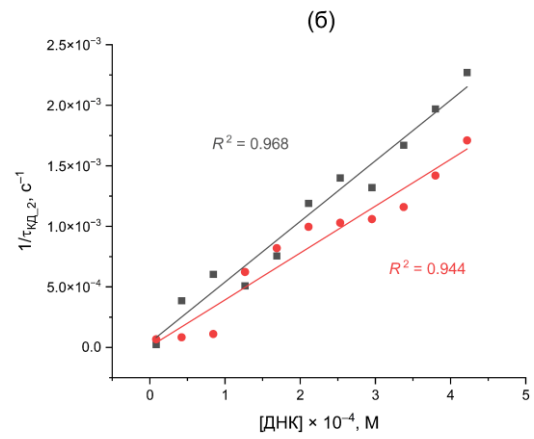
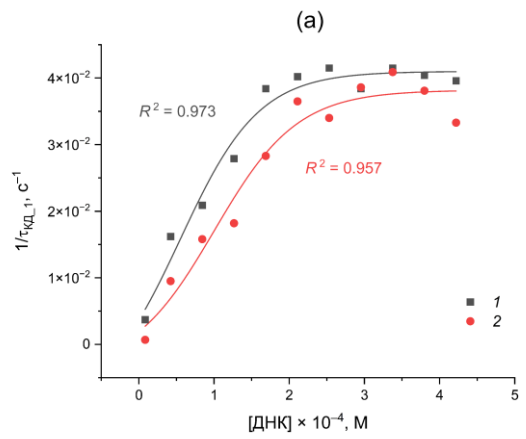


Рисунок 4. Колыванова

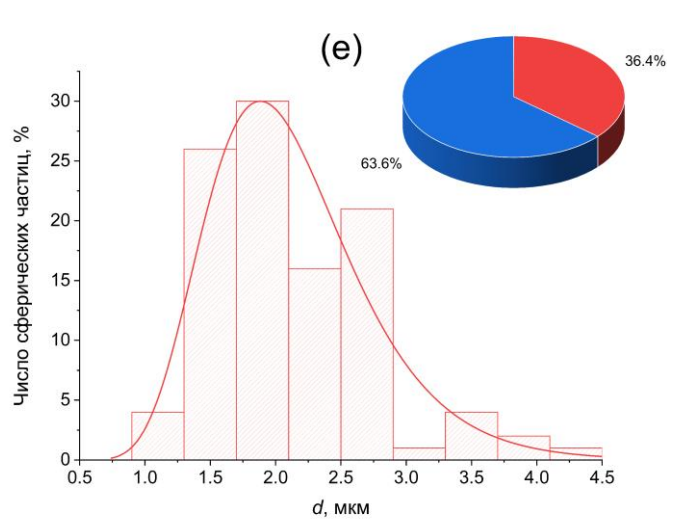
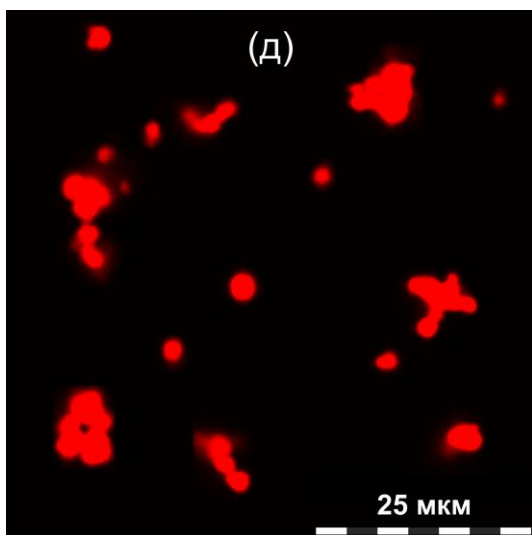
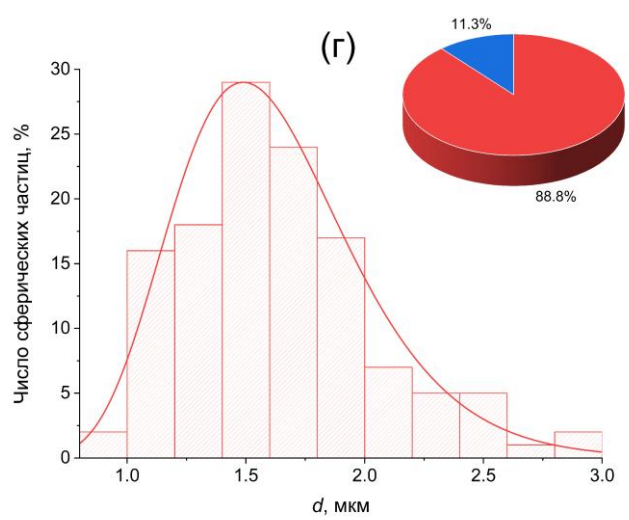
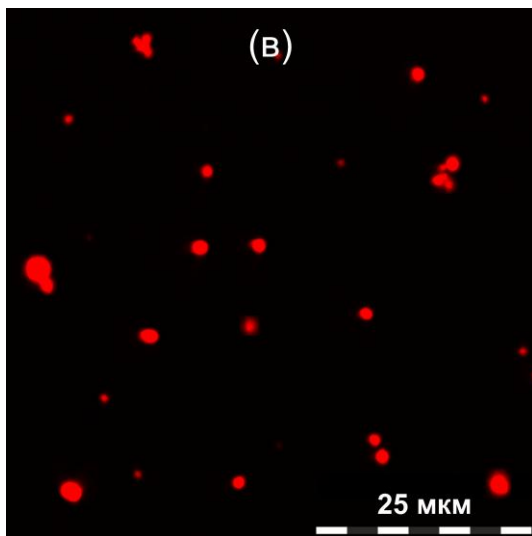
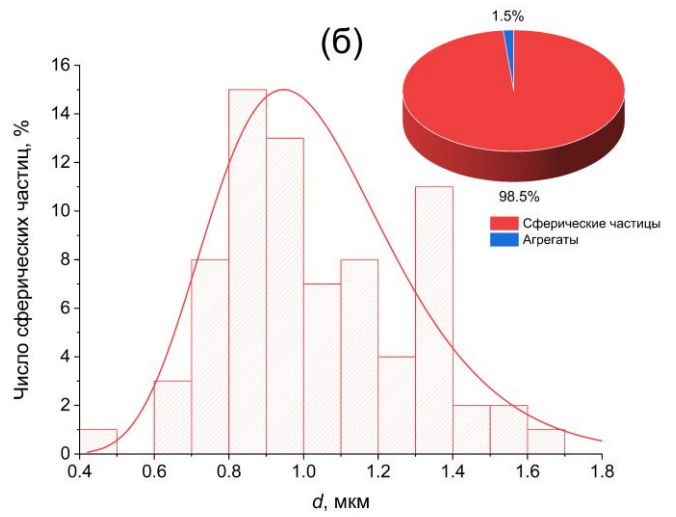
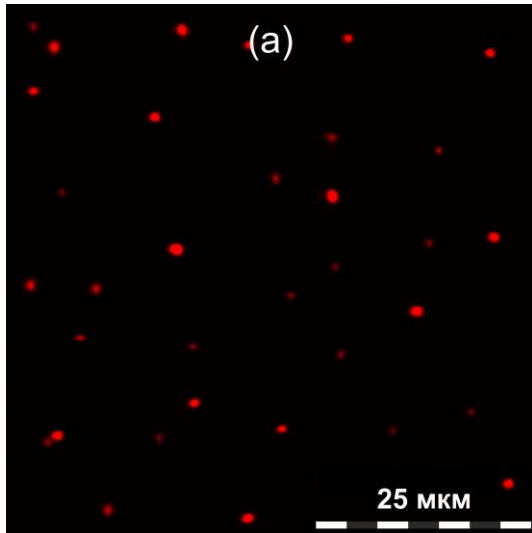


Рисунок 5. Колыванова

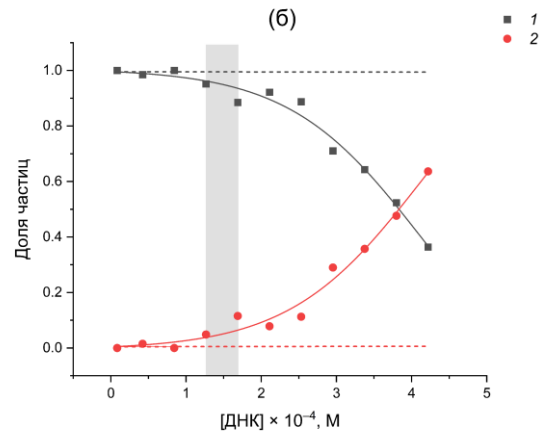
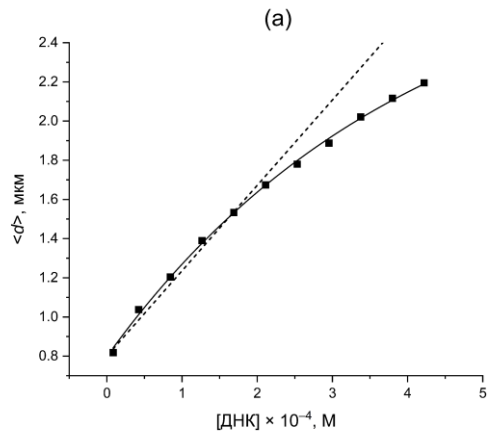


Рисунок 6. Колыванова

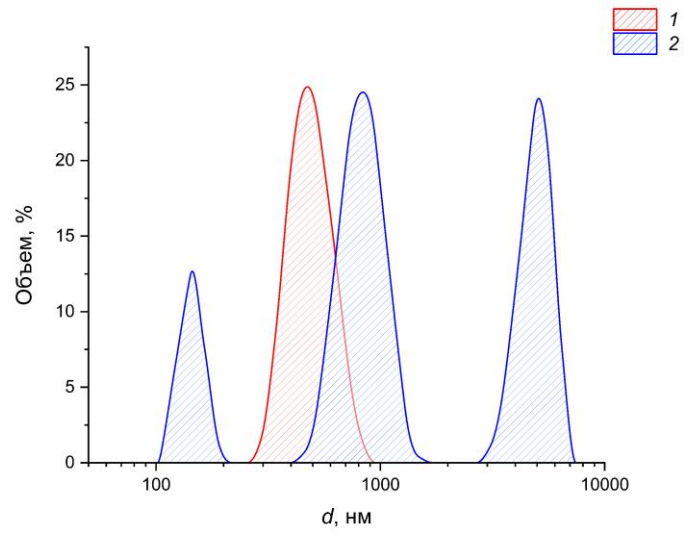


Рисунок 7. Колыванова

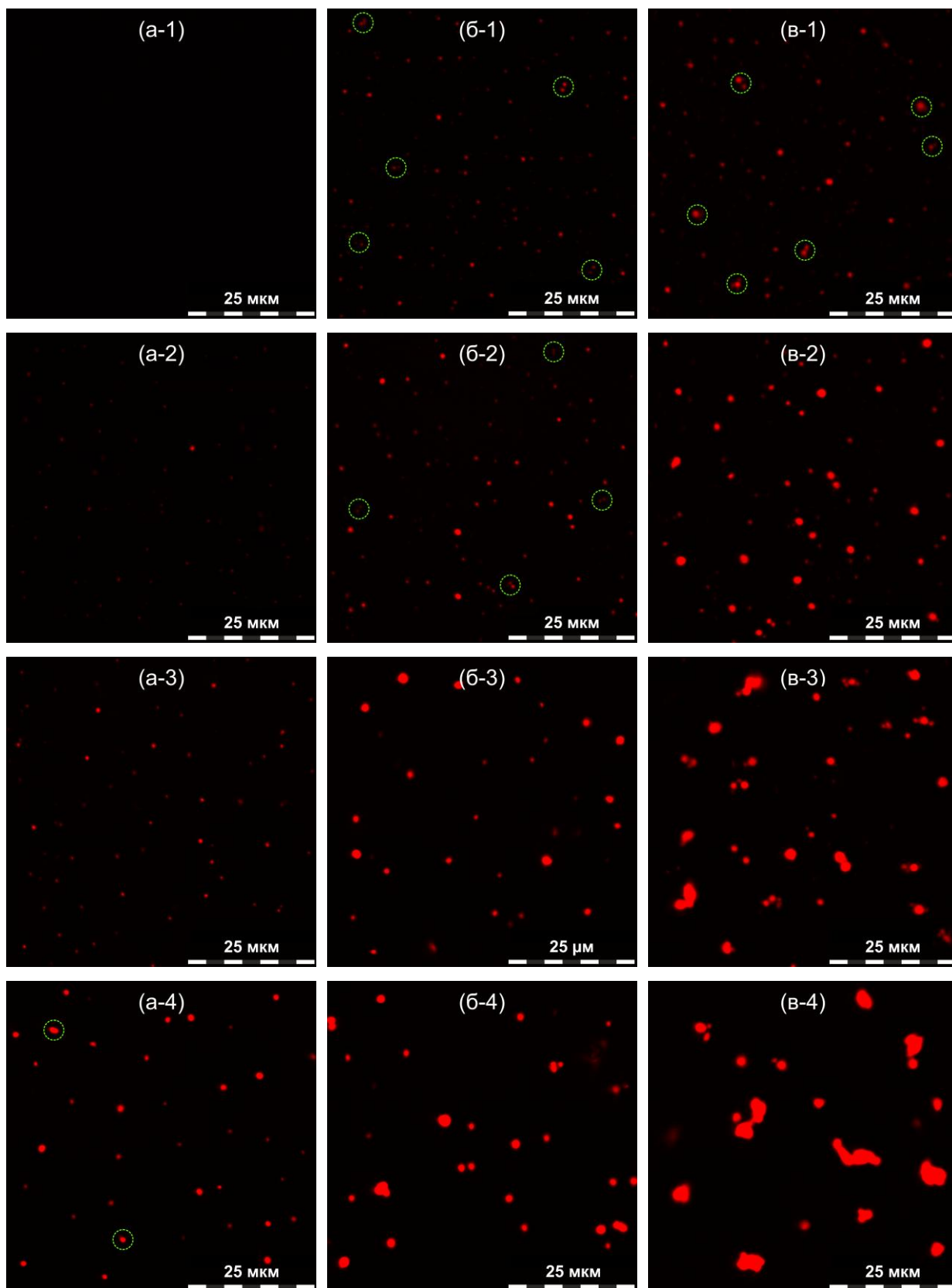


Рисунок 8. Колыванова

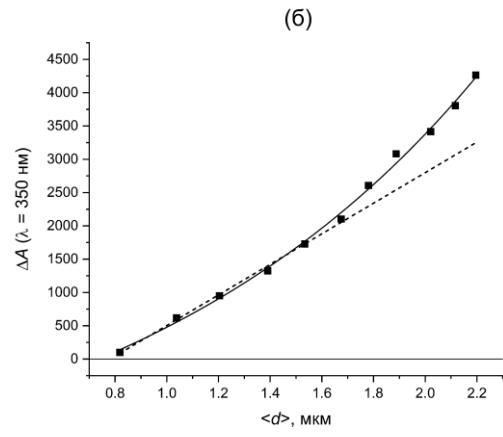
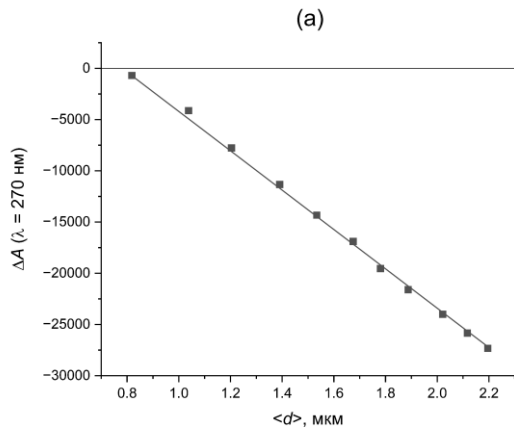


Рисунок 9. Колыванова

ПРИЛОЖЕНИЕ. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Таблица S1. Рассчитанные значения AIC и SC для фитинга кинетических кривых формирования основного КД-сигнала ($\lambda=270$ нм) у систем с различным содержанием ДНК по двух- и трехэкспоненциальной модели

Table S1. Calculated values of AIC and SC for fitting the kinetic curves of the main CD signal ($\lambda=270$ nm) formation in the systems with different DNA contents using two- and three-exponential model

[ДНК], М	Двухэкспоненциальная модель		Трехэкспоненциальная модель	
	AIC	SC	AIC	SC
8.44×10^{-6}	-1756.44	-1736.92	-1752.44	-1725.12
4.22×10^{-5}	-2814.81	-2795.30	-2812.83	-2785.51
8.44×10^{-5}	-2987.98	-2968.47	-2984.48	-2957.16
1.27×10^{-4}	-2860.39	-2840.87	-2856.38	-2829.07
1.69×10^{-4}	-2749.41	-2729.90	-2885.34	-2858.02
2.11×10^{-4}	-2606.61	-2587.14	-2790.70	-2763.44
2.53×10^{-4}	-2600.76	-2581.28	-2743.93	-2716.65
2.95×10^{-4}	-2625.78	-2606.29	-2872.61	-2845.33
3.38×10^{-4}	-2520.57	-2501.09	-2859.54	-2832.26
3.80×10^{-4}	-2370.89	-2351.40	-2577.65	-2550.37
4.22×10^{-4}	-2898.61	-2879.09	-3178.47	-3151.15

Таблица S2. Рассчитанные значения AIC и SC для фитинга участка после перегиба кинетических кривых формирования «кажущегося» КД-сигнала ($\lambda=350$ нм) у систем с различным содержанием ДНК по одно- и двухэкспоненциальной модели

Table S2. Calculated values of AIC and SC for fitting the section after inflection of the kinetic curves of the "apparent" CD signal ($\lambda=350$ nm) formation in the systems with different DNA contents using two- and three-exponential model

[ДНК], М	Одноэкспоненциальная модель		Двухэкспоненциальная модель	
	AIC	BIC	AIC	BIC
8.44×10^{-6}	-1162.52	-1151.44	-1158.52	-1140.06
4.22×10^{-5}	-2329.93	-2318.64	-2327.98	-2309.15
8.44×10^{-5}	-2505.95	-2490.67	-2501.61	-2484.82
1.27×10^{-4}	-2484.09	-2472.73	-2802.34	-2783.41
1.69×10^{-4}	-2439.37	-2427.95	-2993.46	-2974.42
2.11×10^{-4}	-2306.35	-2294.91	-2952.27	-2933.20
2.53×10^{-4}	-2281.26	-2269.74	-3254.61	-3235.42
2.95×10^{-4}	-2250.76	-2239.19	-3078.83	-3059.54
3.38×10^{-4}	-2224.70	-2213.17	-3145.00	-3125.79
3.80×10^{-4}	-2187.21	-2175.87	-3354.10	-3333.62
4.22×10^{-4}	-2155.54	-2143.95	-3442.77	-3423.45