ЖУРНАЛ ФІЗИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ
т. 6, № 2 (2002) с. 236–242

JOURNAL OF PHYSICAL STUDIES
v. 6, No. 2 (2002) p. 236–242

СПЕКТРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ СИМЕТРИЧНИХ ТРИМЕТИНОВИХ ЦІЯНІНІВ З α-, γ-ЗАМІЩЕНИМ ПОЛІМЕТИНОВИМ ЛАНЦЮГОМ ПРИ НАЯВНОСТІ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

І. В. Валюх[1], О. В. Слободянюк[1], В. Б. Ковальська[2],
А. В. Гранжан[3], Ю. Л. Сломінський[3], С. М. Ярмолюк[2]
[1] *Київський національний університет імені Тараса Шевченка, фізичний факультет, просп. акад. Глушкова, 6, Київ, 03022, Україна*
[2] *Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, вул. акад. Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна*
[3] *Інститут органічної хемії НАН України, вул. Мурманська, 5, Київ, 02094, Україна*
(Отримано 20 липня 2001 р.; в остаточному вигляді — 4 квітня 2002 р.)

Досліджено спектрально-люмінесцентні властивості чотирьох симетричних триметинових ціянінових барвників, які мають заміщення в α-, γ-положеннях поліметинового ланцюга в буферному розчині та при наявності нуклеїнових кислот (НК). Установлено, що барвники CPentV, CPentE, CpentE–OMe при взаємодії з НК утворюють комплекси з підвищенням інтенсивности флуоресценції (ΔQ) до 100 разів. Ці барвники запропоновано як флуоресцентні зонди для визначення НК. Для досліджених барвників припускається борозенкова модель взаємодії з НК.

Ключові слова: ціянінові барвники, поліметиновий ланцюг, нуклеїнові кислоти, полінуклеотиди.

PACS number(s): 87.15.–v, 87.64.–t

I. ВСТУП

З початку 90-х років флуоресцентні зонди на основі ціянінових барвників інтенсивно застосовуються для визначення нуклеїнових кислот (НК). Найуживанішими для цієї мети є монометинові ціяніни [1]. Практично нефлуоресцентні у вільному стані, вони при взаємодії з НК на порядки підвищують інтенсивність випромінювання, що й робить можливим використання їх у гомогенних системах детекції. Через високий рівень власного випромінювання інші класи ціянінових барвників мають обмежене застосування в цих системах детекції (фарбування гелів, капілярний електрофорез). Ми вперше показали, що введення замінників до поліметинового ланцюга триметинових ціянінових барвників дозволяє, не знижуючи рівня флуоресценції НК-комплексу, значно зменшити інтенсивність власного випромінювання барвника [2], тому їх застосовують для гомогенної детекції (в цій методиці не потрібно відокремлювати надлишок незв'язаного барвника).

Перевагами карбоціянінових барвників, порівняно з монометинами, є можливість збуджувати їх випромінювання напівпровідниковими лазерами та більші квантові виходи флуоресценції. Також карбоціяніни виявляють більшу схильність до утворення різноманітних (J- та H-) аґреґаційних структур [3]. Як відомо, H-аґреґати мають так звану "сендвічеву" структуру й короткохвильові зсуви максимумів поглинання щодо молекулярної форми барвника. Водночас у J-аґреґатах молекули розташовуються за схемою "голова" до "хвоста", і відповідно їхні максимуми поглинання розташовуються в більш довгохвильовій ділянці щодо мономолекулярного піка. Слід зазначити, що формування H-аґреґатів значно зменшує інтенсивність випромінювання барвника. При наявності НК аґреґати частково або повністю руйнуються. При цьому молекулярна форма барвника фіксується на НК, спричиняючи значне підвищення інтенсивности флуоресценції. Тому аґреґація незв'язаного барвника може слугувати фактором, що сприяє підвищенню чутливости детекції НК [4].

Ціяніни можуть взаємодіяти з ДНК по-різному — інтеркалювати чи зв'язуватись у малу борозенку [5,6]. Якщо для монометинових ціянінів характерніша інтеркаляційна взаємодія [7], то карбоціянінові барвники здатні взаємодіяти за обома механізмами. Наші дослідження показали, що β-заміщений триметиновий бензтіязоловий барвник Cyan 2 взаємодіє з дволанцюговою ДНК за інтеркаляційним механізмом (дані не опубліковані). У праці [6] для карбоціянінових симетричних барвників з незаміщеним ланцюгом описане також борозенкове зв'язування.

Метою нашого дослідження є вивчити α-, γ-заміщені триметинціяніни, що містять етиленовий (CpentE, CpentE–OMe) та вініленовий (CpentV, CpentV–OMe) містки в поліметиновому ланцюзі, як флуоресцентні зонди для детекції НК, аґреґаційні процеси, які супроводжують взаємодію барвників з НК, та можливі механізми цієї взаємодії.

II. ОБ'ЄКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

Диметилсульфоксид (ДМСО) брали без попереднього очищення. Для дослідження комплексів НК з ціяніновими барвниками використовували тотальну ДНК з еритроцитів курчат, синтетичні полінуклеотиди poly(dAdT)/poly(dAdT) та poly(dGdC)/poly(dGdC), тотальну РНК та сироватковий альбумін бика ("Sigma" (США)). Барвники синтезовано згідно з [11]. Структурні формули барвників зображені на рис. 1.

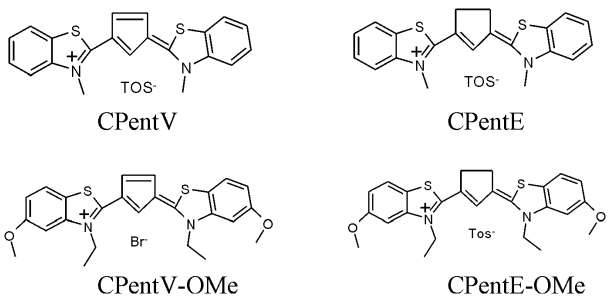

Рис. 1. Структурні формули барвників.

Спектри поглинання отримано з використанням спектрофотометра Specord M–40 (Carl Zeiss) одразу ж після приготування розчинів барвників та їхніх комплексів з НК у відповідних розчинниках: буфері 50 мМ Тріс–HCl (pH 7.5) та ДМСО.

Спектри флуоресценції реєстрували флуоресцентним спектрофотометром Cary Eclipse (Varian). Люмінесцентні виміри проводили у кварцовій кюветі (1.0×1.0 см). Флуоресценцію збуджували випромінюванням ксенонової лампи потужністю 75 Вт.

Стокові розчини барвників ($2 \cdot 10^{-3}$ M) готували розчиненням барвників у ДМСО. У цьому розчиннику барвник залишається стабільним протягом кількох місяців при зберіганні в холодильнику. Стокові розчини НК готували розчиненням наважки відповідних біополімерів у буфері 50 мМ Тріс–HCl (pH 7.5), їхні концентрації становили $6 \cdot 10^{-3}$ M пар основ для ДНК, полінуклеотидів та $1.2 \cdot 10^{-2}$ M основ для РНК.

Робочі розчини барвників та їхніх комплексів з НК готували безпосередньо перед вимірюванням розведенням стокових розчинів ціянінів та НК в буфері. Остаточні концентрації барвників становили $1.0 \cdot 10^{-6}$ та $1.0 \cdot 10^{-5}$ M; полінуклеотидів та ДНК — $6 \cdot 10^{-5}$ M пар основ, а РНК — $1.2 \cdot 10^{-4}$ M основ. Таким чином, співвідношення в комплексах барвник–НК було одна молекула барвника на 6 пар основ для ДНК і 12 основ для РНК. Використовували робочі розчини білка з концентрацією 0.1 мг/мл.

III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Характеристики спектрів поглинання барвників у вільному стані наведено на рис. 2 та в таблиці 1.1. В органічному розчиннику ДМСО для CPentE характерними є максимум поглинання на 598 нм (молекулярна смуга) та плече на 555 нм. У водному буферному розчині для CPentE максимум поглинання мономолекулярної смуги барвника розташований на 590 нм. Смуги H-аґреґатів перекриваються зі смугами коливних рівнів і зсунуті на 37–38 нм в синю, а смуги J-аґреґатів — на 119 нм в червону ділянки. Для CPentV в ДМСО спостерігаються дві смуги: мономолекулярна на 471 нм та смуга, що формує плече при 449 нм. У буфері проявляється лише смуга поглинання з максимумом на 454 нм. У ДМСО CPentV–OMe має максимум поглинання на 488 нм зі слабо вираженим короткохвильовим плечем. У буфері спостерігається смуга з максимумом поглинання на 464 нм. Для CPentE–OMe в ДМСО — смуги на 577 нм, 620 нм (з найбільшою оптичною густиною). У буферному розчині маємо три максимуми: 610 нм, 565 та 731 нм, які зумовлені чистоелектронному та електронно-коливному переходами в індивідуальній молекулі та переходом J-аґреґату.

Назва барвника	ДМСО+барвник		Буфер+барвник			Барвник+ДНК в буфері			Барвник+РНК в буфері			Барвник+білок у буфері		
	λ_1	λ_2	λ_1	λ_2	λ_3	λ_1	λ_2	λ_3	λ_1	λ_2	λ_3	λ_1	λ_2	λ_3
CpentV	449	471	454			450	474		458	482		453		
	449	471	451			458	474		452	482		450		
CPentE	555	598	552	590		559	599		569	603		551	590	
	560	598	551	590	709	565	599		566	601		550	590	
CpentV–OMe		488	464				486		472	494			464	
		488	461			461			467	496			461	
CpentE–OMe	577	620	564	609	731	578	621	730	488.576	623	716	570	610	726
	579	619	565	610	732	575	622	730	488.576	623	716	571	612	729

Таблиця 1.1. Спектральні характеристики поглинання барвників без та при наявності НК. λ_1 — електронно-коливальний перехід, λ_2 — чистий електронний перехід, λ_3 — J-аґреґат (λ_1, λ_2, λ_3 — в нанометрах (нм)). (Перший рядок: концентрація барвника складає 10^{-6} M, другий — 10^{-5} M).

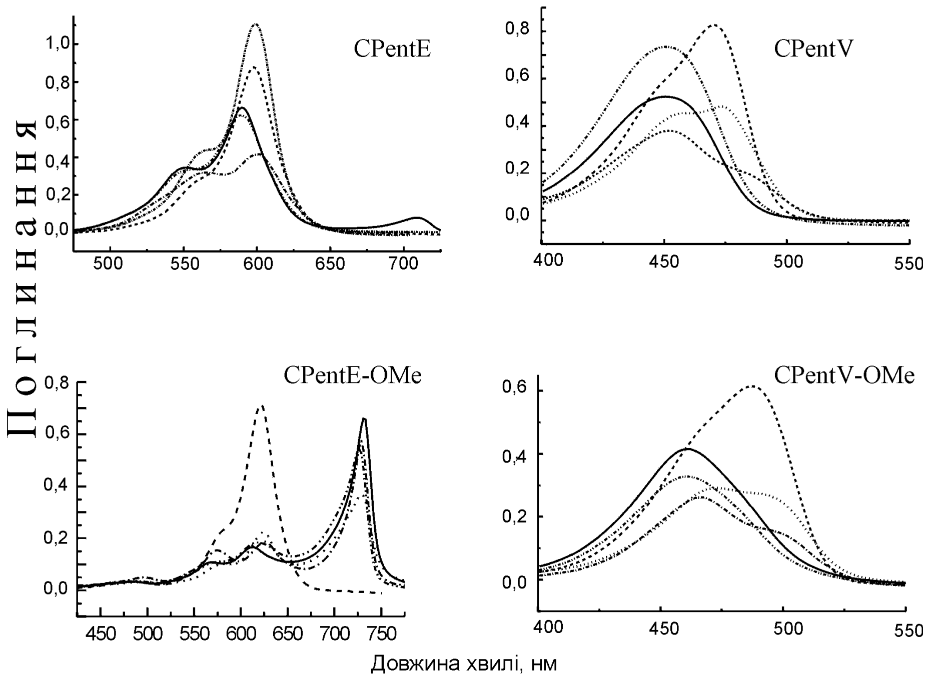

Рис. 2. Спектри поглинання: а) —— барвник у буфері; б) −−− барвник у ДМСО; в) ····- барвник у буфері + ДНК; г) −·−· барвник у буфері + РНК; ґ) −···−·· барвник у буфері + білок. Концентрація барвника складає 10^{-5} М.

Назва барвника	Барвник+poly(AT)$_2$ в буфері		Барвник+poly(GC)$_2$ в буфері	
	λ_1	λ_2	λ_1	λ_2
CpentV 10^{-6}	446	471	458	484
CpentV 10^{-5}	447	471	450	
CpentE 10^{-6}	555	593	565	598
CpentE 10^{-5}	555	593	479.565	594

Таблиця 1.2. Порівняльні характеристики спектрів поглинання комплексів барвників з полінуклеотидами. λ_1 — електронно-коливальний перехід, λ_2 — чистий електронний перехід (в нм).

Назва барвника	Буфер+барвник		Барвник+ДНК в буфері			Барвник+РНК в буфері			Барвник+білок у буфері		
	λ_{em}	I_0	λ_{em},	I	ΔQ_1	λ_{em}	I	ΔQ_2	λ_{em}	I	ΔQ_3
CpentV 10^{-6}	489	29	488	2958	102	503	521	22	490	33	1
CpentV 10^{-5}	491	126	501	1307	12	506	526	5	493	159	1
CpentE 10^{-6}	619	46	614	2000	48	622	440	9	621	177	3
CpentE 10^{-5}	619	163	621	1385	9	623	2135	14	620	151	1
CpentV–OMe10^{-6}	508	32	514	146	5	519	372	14	509	116	4
CpentV–OMe10^{-5}	510	155	520	331	3	523	688	6	510	623	2
CpentE–OMe 10^{-6}	635	15	638	150	10	634	55	4	633	16	1
CpentE–OMe 10^{-5}	637	97	637	4363	45	638	1364	14	633	132	1

Таблиця 2.1. Порівняльні характеристики спектрів флуоресценції барвників у вільному стані та в присутності НК. λ_{em} — максимум випромінювання (в нм), I — інтенсивність (відносні одиниці), ΔQ_i — збільшення інтенсивности випромінювання (відносні одиниці).

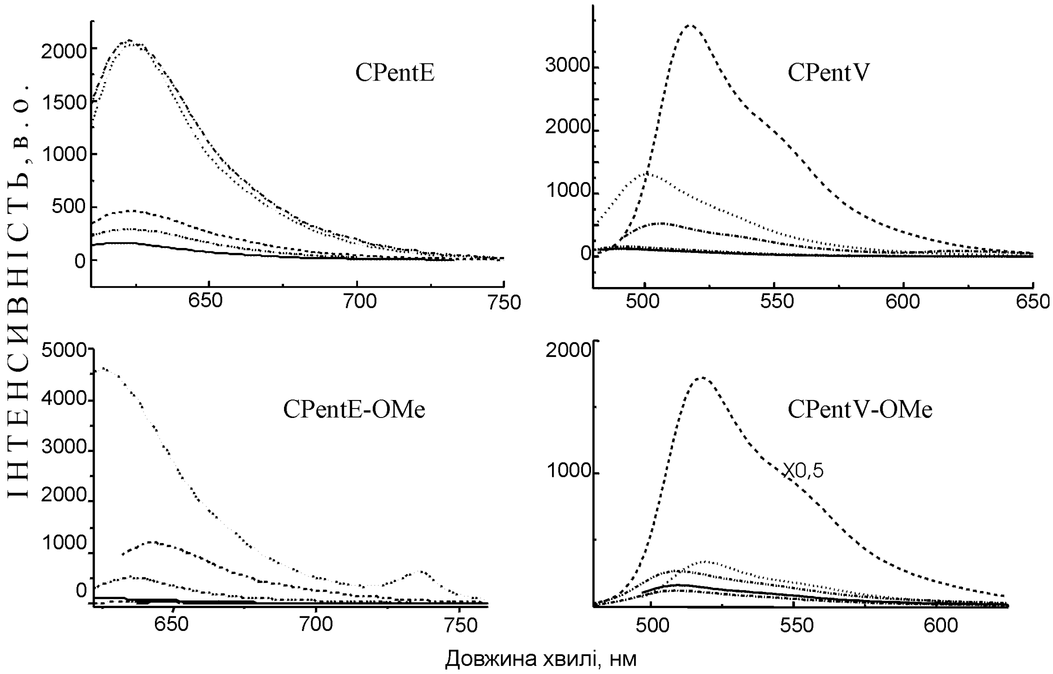

Рис. 3. Спектри флуоресценції (не виправлені на спектральну чутливість): а) —— барвник у буфері; б) – – – барвник у ДМСО; в) ····· барвник у буфері + ДНК; г) –·–·– барвник у буфері + РНК; ґ) –··–··– барвник у буфері + білок. Концентрація барвника складає 10^{-5} М.

Флуоресценцію ціянінових барвників збуджували на довжинах хвиль максимумів поглинання мономолекулярних смуг (рис. 3 та таблиця 2.1).

З наведених даних видно, що заміна етиленового містка в структурі поліметинового ланцюга на вініленовий приводить до значних змін у спектрально-люмінесцентних властивостях барвників. Максимуми поглинання випромінювання вініленових аналогів зсунуті більш ніж на 100 нм у короткохвильову ділянку спектра порівняно з етиленовими. Важливо також відзначити, що коли етиленові барвники у буферному розчині формують і J-аґреґати, то вініленові барвники, якщо й утворюють аґреґаційні структури, то тільки H-типу.

Характеристики спектрів поглинання та випромінювання барвників у комплексах з ДНК та РНК наведено на рис. 1, рис. 2, в таблицях 1.1 та 2.1.

Для комплексів барвників CPentE–OMe, CPentE з ДНК та РНК максимуми спектрів поглинання мономерних смуг лежать у ділянці від 474 нм до 496 нм. Для цих барвників у комплексах з РНК значно вираженими є смуги H-аґреґатів. Для вініленових ціянінів CPentV–OMe, CpentV при наявності ДНК спостерігається значне руйнування J- та H-аґреґатів, а за наявности РНК відбувається руйнування J-аґреґатів та значним стає внесок H-аґреґатів. Максимуми спектрів поглинання мономерних смуг цих барвників лежать у ділянці від 599 нм до 623 нм.

Флуоресценцію барвників при наявності НК збуджували на довжинах хвиль максимумів поглинання мономерів. Форми їхніх спектрів випромінювання не відрізняються від відповідних форм спектрів барвників у буферному розчині, максимуми випромінювання для барвників з етиленовим містком розташовані на 614–637 нм, а для вініленових — на 488–520 нм. Для барвників CPentE–OMe, CpentE та CpentV при зв'язуванні з ДНК та РНК спостерігається істотне збільшення інтенсивности флуоресценції (до 102 разів). Для CPentV–OMe за наявности ДНК чи РНК інтенсивність випромінювання збільшується всього в 3–5 та 6–14 разів відповідно.

Таким чином, взаємодія барвників з НК супроводжується частковим руйнуванням аґреґатів та фіксацією мономерної форми барвника. Ціяніни CPentE–OMe, CpentE та CPentV–OMe підвищують інтенсивність випромінювання на один-два порядки при взаємодії з НК. Для всіх досліджених барвників, окрім CPentV–OMe, більшу інтенсивність випромінювання мають комплекси, утворені з ДНК, що є свідченням значно більшого зв'язування з ДНК, якщо припустити, що квантовий вихід флуоресценції барвника однаковий при зв'язуванні з різними НК. Для етиленових барвників наявність РНК спричиняє значне збільшення кількости H-аґреґатів, а для CPentE–OMe навіть спостерігається утворення H-аґреґатів складнішої структури (смуга біля 488 нм).

Оскільки порівняно з CpentE–OMe та CpentV–OMe CpentE і CpentV є перспективнішими барвниками для детекції НК, то для останніх було проведено додаткові дослідження.

Графіки залежности інтенсивности випромінювання барвників від співвідношення кількости основ чи пар основ (для РНК та ДНК відповідно) до кількости молекул барвника зображено на рис. 4 та 5.

Максимуми насичення для комплексів CpentV та CpenE з ДНК складають 8 п.о. (пар основ)/барвник відповідно. При титруванні барвників РНК ці співвідношення відповідно становлять 50 о. (основ)/барвник для CpentV та 30 о. для CpenE. Такі величини максимумів насичення вказують на те, що механізми зв'язування цих барвників з ДНК є, ймовірно, подібними, тоді як механізми їх взаємодії з РНК, швидше за все, суттєво відрізняються.

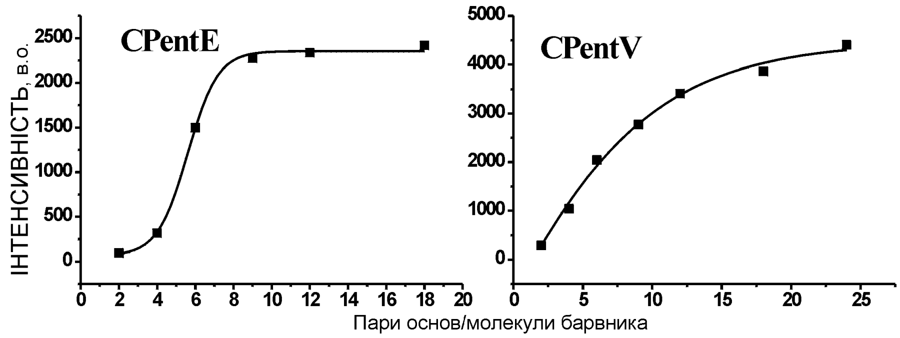

Рис. 4. Титрування барвників ДНК при концентрації барвників 10^{-5} М.

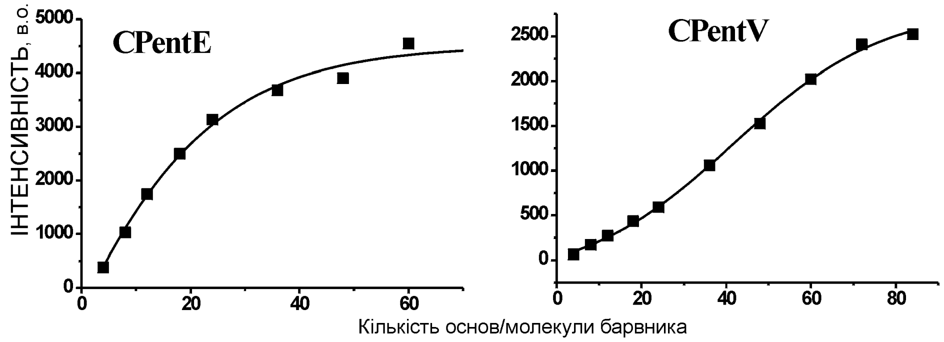

Рис. 5. Титрування барвників РНК при концентрації барвників 10^{-5} М.

Характеристики спектрів поглинання та випромінювання барвників при наявності полінуклеотидів наведено в таблицях 1.2 та 2.2. Для комплексів CpentV (CpentE)–poly(dAdT)/poly(dAdT) у спектрі поглинання максимуми смуг барвників у молекулярній формі розташовані на 471 нм та 593 нм відповідно. Для комплексів цих барвників з poly(dGdC)/poly(dGdC) відповідні мономерні максимуми знаходяться на 484 нм та 598 нм. При цьому в спектрах CpentV та CpentE при наявності цих полінуклеотидів спостерігаються смуги H-аґреґатів. Слід відзначити подібність у спектрах поглинання комплексів poly(dAdT)/poly(dAdT)-, ДНК- CpentV. Для CpentE при полінуклеотиді poly(dGdC)/poly(dGdC) характерним є зростання інтенсивности смуги H-аґреґатів та утворення H-аґреґату складнішої структури.

Назва барвника	Барвник+poly(AT)$_2$ в буфері			Барвник+poly(GC)$_2$ в буфері		
	λ_{em}	I	ΔQ_1	λ_{em}	I	ΔQ_2
CpentV 10^{-6}M	486	2090	72	517	662	25
CpentV 10^{-5} M	495	1119	9	515	157	2
CpentE 10^{-6} M	609	4510	110	625	1909	43
CpentE 10^{-5}M	621	1385	9	633	196	2

Таблиця 2.2. Порівняльні характеристики спектрів флуоресценції комплексів барвників з полінуклеотидами. λ_{em} — максимум випромінювання (в нм), I — інтенсивність (відносні одиниці), ΔQ_i — збільшення інтенсивности випромінювання (відносні одиниці).

Спектри флуоресценції комплексів CpentV та CpentE з poly(dAdT)/poly(dAdT) та poly(dGdC)/poly(dGdC) за формою не відрізняються від спектрів випромінювання відповідних барвників у вільному стані. Обидва карбоціяніни при наявності полінуклеотидів зумовлюють значне збільшення інтенсивности випромінювання (72–110 разів для комплексів з poly(dAdT)/poly(dAdT) та 25–43 рази для poly(dGdC)/poly(dGdC)).

Наведені дані дозволяють стверджувати, що переважає зв'язування CpentV та CpentE з AT-вмісними полінуклеотидами. Відомо, що існування такої специфічности, як правило, притаманне молекулам, які взаємодіють з ДНК за борозенковим механізмом [9], і, таким чином, ми можемо припустити, що досліджувані карбоціяніни CpentE та CpentV зв'язуються з ДНК шляхом фіксації в борозенці за рахунок електростатичних, гідрофобних та вандерваальсівських сил взаємодії.

Характеристики спектрів поглинання та випромінювання всіх досліджуваних барвників при наявності білка наведені на рис. 1, рис. 2, в таблицях 1.1 та 2.1. У спектрах поглинання комплексів, порівняно зі спектрами молекулярних форм барвників, практично відсутні зсуви максимумів. Спектри флуоресценції подібні за формою до відповідних спектрів вільних барвників. Збільшення інтенсивности випромінювання або не спостерігається зовсім, або складає 2–4 рази. Таким чином, наявність білків у розчині практично не впливає на спектрально-люмінесцентні властивості досліджуваних барвників.

Характеристики спектрів поглинання та випромінювання барвників у буферному розчині та за наявности НК при концентраціях барвника 10^{-6} М та 10^{-5} М наведено в таблицях 1.1, 1.2, 2.1 та 2.2. Для розчинів барвників у буфері та за наявности НК положення максимумів поглинання для обох концентрацій практично збігаються. Але при концентрації барвників 10^{-5} М значно більше вираженими є смуги, що відповідають поглинанню аґреґаційних структур. Так, для вільного CpentE у буфері при концентрації 10^{-5} М у спектрі з'являється смуга J-аґреґату.

Збільшення концентрації барвника в буферному розчині практично не впливає на розташування максимумів його випромінювання, зростає лише інтенсивність флуоресценції. Для комплексів барвників CpentE та CpentV з ДНК при збільшенні концентрації карбоціяніну спостерігається батохромний зсув на 7–13 нм, а інтенсивність випромінювання при концентрації барвника 10^{-6} М значно перевищує відповідну величину для концентрації 10^{-5} М. Для барвників, що містять метокси групи, такої залежности не спостерігаємо.

При РНК розташування максимуму випромінювання барвників практично не залежить від концентрації останніх. Але треба відзначити, що для комплексів з вініленовим містком карбоціянінів з РНК інтенсивність флуоресценції при концентрації барвників 10^{-6} М є більшою, ніж при 10^{-5} М. Для карбоціянінів з етиленовим містком спостерігаємо зворотну картину. На нашу думку, поясненням такої залежности інтенсивности випромінювання від концентрації для барвників першого типу при РНК є утворення аґреґатів на НК. Підтвердженням цього є зростання короткохвильового плеча у спектрах поглинання зі збільшенням концентрації відповідного барвника.

Таким чином, зміни, що відбуваються в спектрах поглинання та випромінювання барвника, за наявности НК при збільшенні концентрації карбоціяніну залежать від структури барвника. Крім того, для всіх досліджених барвників збільшення концентрації стимулює утворення аґреґаційних структур, що проявляється у спектрах поглинання.

IV. ВИСНОВКИ

Ми вперше дослідили спектрально-люмінесцентні властивості ряду α,γ-заміщених триметинових барвників як можливих флуоресцентних зондів для детекції НК. Показали, що заміна етиленового містка в поліметиновому ланцюзі на вініленовий істотно впливає на спектрально-люмінесцентні властивості барвників та їх комплексів з НК. У буферному розчині всі карбоціяніни утворюють аґреґаційні структури. При утворенні комплексів ДНК з барвниками CpentV, CpentE та CpentE–OMe інтенсивність їх флуоресценції значно зростає. Уведення метокси груп до гетерозалишку карбоціяніну з етиленовим містком не погіршує його властивостей як зонда для детекції НК. Для відповідного аналога з вініленовим містком наявність цих груп спричиняє суттєве зменшення інтенсивности випромінювання при ДНК. Отримані дані для CpentV, CpentE вказують на існування борозенкового механізму їх зв'язування з НК.

[1] R. P. Haugland, *Handbook of fluorescent probes and research chemicals. Sixth edition* (Molecular Probes Inc., Eugene, OR, 1996).

[2] S. S. Lukashov, M. Yu. Losytskyy, Yu. L. Slominskii, S. M. Yarmoluk, Biopolymers and Cell **17**, 169, (2001).

[3] A. A. Ищенко, *Строение и спектрально-люминесцентные свойства полиметиновых красителей* (Наукова Думка, Киев, 1994).

[4] I. O. Kocheshev, V. B. Kovalska, S. M. Yarmoluk, Dyes and pigments **50**, 21, (2001).

[5] J. P. Jacobsen, J. B. Pedersen, L. F. Hansen, D. E. Wemmer, Nucl. Acids Res. **23**, 753, (1995).

[6] A. L. Mikheikin, A. L. Zhuze, A. S. Zasedatelev, J. Biomol. Struct. Dyn. **18**, 59, (2000).

[7] M. Petersen, A. A. Hamed, E. B. Pedersen, J. P. Jacobsen, Bioconjugate Chem. **10**, 66, (1999).
[8] *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*, edited by G. M. Blackburn, M. S. Gait (IRL Press, 1990).
[9] А. И. Киприанов, *Цвет и строение полиметиновых красителей* (Наукова Думка, Киев, 1979).

SPECTRAL PROPERTIES OF SYMMETRICAL THREEMETHINE CYANINES WITH α-, γ-SUBSTITUTED POLYMETHINE CHAIN IN THE PRESENCE OF NUCLEIC ACIDS

I. Valyukh[1], A. Slobodyanyuk[1], V. B. Kovalska[2], A. Grangan[3], Y. L. Slominskii[3], S. M. Yarmoluk[2]
[1]*Physics Department of Kyiv T. Shevchenko National University,*
6 Pr. Acad. Glushkova, Kyiv, UA–03147, Ukraine,
[2]*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine,*
150 Acad. Zabolotnogo Str., Kyiv, UA–03143, Ukraine;
e-mail: otava@carrier.kiev.ua
[3]*Institut of Organic Chemistry NASci of Ukraine,*
5 Murmanska Str., Kyiv, UA–02094, Ukraine.

Spectral-luminescent properties of four symmetrical threemethine cyanine dyes with α-, γ-substituted polymethine bridge in a free state and in the presence of nucleic acids (NA) have been investigated. It has been shown that replacement of the ethilene bridge by the vinilene one in a polymethine chain of the threemethine cyanines influenced meaningfully the spectral properties of these dyes. The bands of aggregates in absorption spectra of the aqueous solutions of free dyes were observed. CPentE, CPentV and CpentE–OMe form high fluorescence complexes in the NA presence. These dyes can be used as luminescent probes for NA detection in homogeneous assays.

The introduction of methoxy groups into the residue of the threecarbocyane with ethilene bridge does not make worse its properties as probe for NA detection. The presence of these groups in an analogue with the vinilene bridge has diminished the fluorescence intensity in the CPentE–OMe–NA complex. The obtained results for CpentE and CPentV indicate that these dyes are bound into the DNA groove.