

ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 579.842.11

**ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКЗОГЕННОГО КАРДИОЛИПИНА НА БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ДНК-ТОПОИЗОМЕРАЗЫ I И II ТИПА
IN VITRO**

**Ю.Л. Микулович, аспирант, Г.М. Сорокоумова, доцент,
А.А. Селищева, ведущий научный сотрудник, В.И. Швец, заведующий кафедрой**
кафедра Биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В. Ломоносова
e-mail: studentka_msu@mail.ru

Исследовано влияние «пустых» липосом, приготовленных из кардиолипина (липида, входящего в состав цитоплазматической мембраны бактерий и внутренней митохондриальной мембраны эукариот), на топоизомеразу I и ДНК-гиразу (топоизомераза II) из *Escherichia coli in vitro*. Установлено, что экзогенный кардиолипин ингибирует реакцию релаксации суперскрученной ДНК, катализируемую топоизомеразой I, и две реакции, катализируемые ДНК-гиразой: 1) релаксацию сверхспирализованной ДНК (в отсутствие АТФ), и 2) суперспирализацию релаксированной ДНК (в присутствии АТФ). Полученные результаты, наряду с ранее установленным нами бактерицидным действием кардиолипина на *Mycobacterium tuberculosis* и *Escherichia coli*, позволяют предположить, что топоизомеразы могут быть мишенями кардиолипина.

The influence of empty liposomes composed of cardiolipin (lipid which is a component of the bacterial cytoplasmic membrane and eukaryotic internal mitochondrial membrane) on *Escherichia coli* topoisomerase I and DNA gyrase (topoisomerase II) *in vitro* was investigated. Cardiolipin was found to inhibit the reaction of DNA relaxation catalyzed by topoisomerase I and both reactions catalyzed by DNA gyrase, namely DNA relaxation (in the absence of ATP) and DNA supercoiling (in the presence of ATP). On the basis of the results obtained along with the bactericidal action of cardiolipin on *Mycobacterium tuberculosis* and *Escherichia coli* earlier found by us we suppose that topoisomerases could be the targets of cardiolipin.

Ключевые слова: кардиолипин, ингибирующее действие, бактериальные ферменты, топоизомераза I, ДНК-гираза, релаксированная ДНК, суперскрученная ДНК.

Key words: cardiolipin, inhibitory action, bacterial enzymes, topoisomerase I, DNA gyrase, relaxed DNA, supercoiled DNA.

Введение

Существует несколько механизмов действия известных на сегодняшний день антибиотиков: 1) нарушение синтеза клеточной стенки (пенициллины, ванкомицин), 2) нарушение синтеза белка (аминогликозиды, макролиды), 3) повреждение цитоплазматической мембраны (полимиксины, грамицидин), 4) нарушение синтеза нуклеиновых кислот (фторхинолоны, противоопухолевые антибиотики). Так, мишенью широко распространенных фторхинолонов является ДНК-гираза [1], фермент репликативного аппарата, относящийся к топоизомеразам II типа; мишенью противоопухолевых препаратов является топоизомераза I [2]. Однако недостаток всех антибиотиков заключается в развитии устойчивости к ним микроорганизмов, потому создание новых антибактериальных препаратов не теряет своей актуальности до сих пор. Перспективными представляются менее токсичные препараты на основе природных компонентов, например, липида кардиолипина (КЛ), который обладает, как нами было показано, антибактериальными свойствами в отношении *Mycobacterium tuberculosis* как чувствительного [3], так и резистентных штаммов [4].

Известно, что кардиолипин – минорный компонент цитоплазматической мембраны (не более 10% мол. от общего количества липидов) большинства грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также внутренних мемб-

ран митохондрий и хлоропластов эукариот [5], где его основная роль, по-видимому, заключается в поддержании функционирования ключевых мембранных белков. КЛ напрямую связывается с ними благодаря наличию в структуре белков специфичных амфипатичных мотивов, содержащих большое количество основных аминокислотных остатков, которые предпочтительно взаимодействуют с анионными липидами. Такое взаимодействие приводит к конформационным изменениям в структуре белков, что сказывается на их активности.

Научная литература богата разнообразными сведениями о роли КЛ в клетке *Escherichia coli* и других бактериях [5–12]. Так, этот липид способствует синтезу ДНК с помощью ДНК-полимеразы III в *E. coli* [6], однако роль КЛ в этой реакции не была установлена. Кроме того, КЛ взаимодействует с компонентами дыхательной цепи: сукцинатдегидрогеназой, форматдегидрогеназой N (FdnGHI), нитратредуктазным комплексом (NarGHI) [7], белками транслокационного комплекса SecYEG [8], мультилекарственными белками-переносчиками [9].

КЛ располагается в мембране неравномерно, образуя домены в центральной части клетки и у ее полюсов в момент клеточного деления [10], что имеет огромное значение при выборе и узнавании центра деления амфифильными белками клеточного цикла, например, DnaA (инициация репликации ДНК в *oriC*) [11], MinD (часть

MinCDE-системы, предотвращающей позиционирование дивисомы у полюсов *E. coli*) [13] и FtsA (бактериальный актин, который является белком-линкером для белка FtsZ (бактериальный тубулин), отвечающий за нацеливание Z-кольца на центральный мембранный домен).

Таким образом, в норме КЛ присутствует во всех бактериальных клетках и выполняет важнейшую роль в регуляции белков, прежде всего репликации ДНК и клеточного деления. Однако экзогенно добавленный КЛ, по данным публикации [13], ингибирует топоизомеразу I из *E. coli in vitro*.

Целью данной работы являлось исследование влияния экзогенного КЛ на ДНК-топоизомеразы I и II типа из *E. coli in vitro*.

Результаты и их обсуждение

ДНК-топоизомеразы – это ферменты репликативного аппарата, которые принимают участие практически во всех жизненно важных процессах клетки (репликация ДНК, транскрипция, репарация и рекомбинация) и обнаружены у всех про- и эукариот, а также некоторых вирусов [14]. Топоизомеразы катализируют реакцию релаксации ДНК, введение в ДНК отрицательных и положительных супервитков, а также могут осуществлять реакции сщепления/расщепления молекул ДНК и способствовать ренатурации комплементарных колец одноцепочечных молекул ДНК. Все топоизомеразы относят к ферментам класса изомераз и подразделяют на два основных типа (I и II) в соответствии с механизмом их действия. Ферменты типа I временно расщепляют только одну цепь ДНК и «протягивают» одну цепь через разрыв во второй цепи ДНК, при этом они не требуют присутствия энергетических кофакторов. Ферменты типа II производят временный двуцепочечный разрыв, «протягивают» один участок двухцепочечной ДНК через другой, гидролизуют АТФ, то есть являются АТФ-зависимыми [14].

ДНК-гираза (топоизомераза II типа) – бактериальный фермент, способный вносить отрицательные супервитки в замкнутые кольцевые ДНК, используя энергию АТФ. В регуляции топологического состояния хромосомной ДНК у бактерий также участвуют ДНК-топоизомеразы I типа, которые релаксируют отрицательные супервитки и тем самым оказывают на ДНК действие, противоположное действию ДНК-гиразы. Совместное действие двух данных типов ферментов и их клеточная регуляция обеспечивает поддержание нужного уровня топологического состояния генома, необходимого для проявления активности различных ферментов, взаимодействующих с ДНК.

В данной работе исследовали влияние экзогенного КЛ на активность топоизомеразы I (топо I) и ДНК-гиразы из *E. coli in vitro*. Ранее в работе [13] было исследовано влияние КЛ

только на топоизомеразу I *E. coli* и обнаружено ингибирующее действие высоких концентраций КЛ. Мы решили проверить эти данные, а также впервые исследовали действие КЛ на ДНК-гиразу. Реакции проводили в микропробирках при 37°C, реакционная смесь содержала ферменты в соответствующем буфере, состав которых описан в экспериментальной части, липосомы, приготовленные из КЛ. Началом реакции служило добавление субстрата, то есть ДНК. Релаксацию ДНК, катализируемую топоизомеразой I и ДНК-гиразой в отсутствие АТФ, проводили в течение 1.5 ч, используя суперскрученную форму ДНК; суперскручивание ДНК, катализируемое ДНК-гиразой в присутствии АТФ, проводили в течение 30 мин, используя релаксированную форму ДНК. О действии липида на ферментативную активность судили по наличию полос, соответствующих суперскрученной и релаксированной формам ДНК (рис. 1, 2), после проведения электрофореза продуктов реакции в 0.9% агарозном геле. О нормальном протекании реакции свидетельствовало наличие на электрофореграмме нескольких полос, расположенных между двумя крайними состояниями ДНК (суперскрученной и релаксированной) – это так называемые топоизомеры ДНК – в случае не полностью прошедшей реакции (рис. 1) или же наличие одной полосы, соответствующей крайней форме ДНК, отличающейся от исходно взятой, в случае полностью завершённой реакции (рис. 2). Вывод об ингибировании реакции липидом КЛ делался на основании наличия на электрофореграмме полосы, соответствующей исходной форме ДНК.

Таким путем установлено, что КЛ ингибировал релаксацию ДНК, катализируемую топоизомеразой I, в концентрации 200 мкМ при одновременном добавлении в реакционную смесь фермента, липида и субстрата (рис. 1).

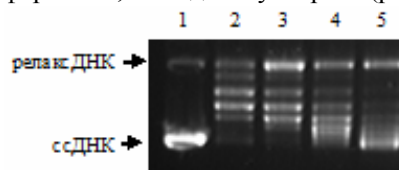


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов реакции релаксации суперскрученной ДНК рUC19 топоизомеразой I (топо I) *E. coli*: дор. 1 – ссДНК; дор. 2 – ссДНК + топо I; дор. 3–5 – ссДНК + топо I в присутствии 30, 100 и 200 мкМ КЛ соответственно.

РелаксДНК – релаксированная форма ДНК, ссДНК – суперскрученная форма ДНК.

При этом на электрофореграмме была четко различима полоса, соответствующая суперскрученной ДНК (дорожка 5). Преинкубация КЛ с топоизомеразой I в течение 10 мин при 37°C с последующим добавлением в реакционную смесь суперскрученной ДНК и проведением

реакции в течение 1 ч снижала минимальную ингибирующую концентрацию КЛ до 30 мкМ (данные не приведены). Полученные нами результаты не совпадают с результатами, приведенными ранее [13], поскольку в цитируемой работе в случае с преинкубацией КЛ и фермента минимальная ингибирующая концентрация КЛ составляла 300 мкМ, что в 10 раз выше установленной нами.

В проведенных нами экспериментах с ДНК-гиразой обнаружено, что КЛ ингибирует релаксацию ДНК в концентрации 335 мкМ (рис. 2А,

дорожка 5), а суперскручивание ДНК – в концентрации 500 мкМ (рис. 2Б, дорожка 7). В качестве положительного контроля в обеих реакциях использовали ципрофлоксацин – известный ингибитор ДНК-гиразы, действие которого хорошо иллюстрируется рис. 2А и 2Б (дорожки 8). Как отрицательный контроль в реакции релаксации суперскрученной ДНК в отсутствие АТФ использовали фосфатидилхолин, который никак не влиял на активность фермента (рис. 2А, дорожка 7).

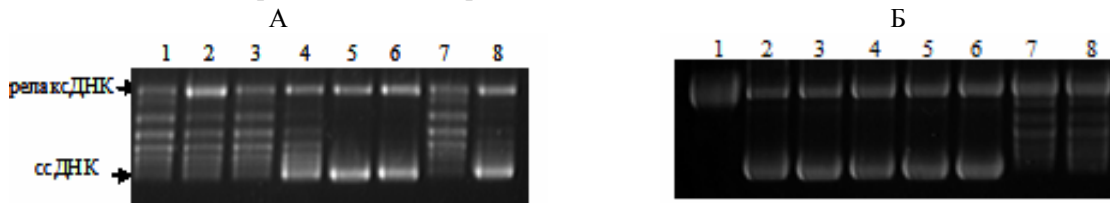


Рис. 2. Электрофореграммы продуктов реакций, полученных с использованием ДНК-гиразы: А – релаксация суперскрученной ДНК рUC19 (в отсутствие АТФ): дор. 1–8 – сскДНК + гираза; дор. 2–6 – в присутствии 30, 100, 200, 335, 500 мкМ КЛ соответственно; дор. 7 – в присутствии 500 мкМ фосфатидилхолина; дор. 8 – в присутствии 4 мкМ ципрофлоксацина.

Б – суперскручивание релаксированной ДНК рUC19 (в присутствии АТФ): дор. 1 – релакс ДНК; дор. 2–8 – релаксДНК + гираза; дор. 3–7 – в присутствии 30, 100, 200, 335, 500 мкМ КЛ соответственно; дор. 8 – в присутствии 4 мкМ ципрофлоксацина.

В реакциях, катализируемых топоизомеразами обоих типов, выделяют следующие четыре стадии: 1) связывание ДНК с ферментом; 2) разрезание ферментом одной или двух цепей ДНК (в зависимости от типа топоизомеразы); 3) протаскивание другой цепи ДНК через образовавшийся разрыв; 4) сшивание разрезанных концов ДНК. Фторхинолоны узнают комплекс, образуемый ДНК-гиразой и расщепленной ферментом ДНК, после второй стадии реакции и стабилизируют его. КЛ, по-видимому, действует на первом этапе реакции, поскольку есть сведения о том, что данный липид связывается

именно с ферментом [13, 14], но не приводит к накоплению стабилизированных кардиолипидом комплексов ДНК–ДНК-гиразы [16], как в случае с фторхинолонами. В пользу этого предположения свидетельствуют и наши данные, полученные при преинкубации КЛ с ферментом. Снижение ингибирующей концентрации говорит о том, что вероятнее всего КЛ связывается, во-первых, с ферментом и, по-видимому, конкурирует с ДНК за места связывания с топоизомеразой, так как имеет в своей структуре две отрицательно заряженные фосфатные группы (рис. 3).

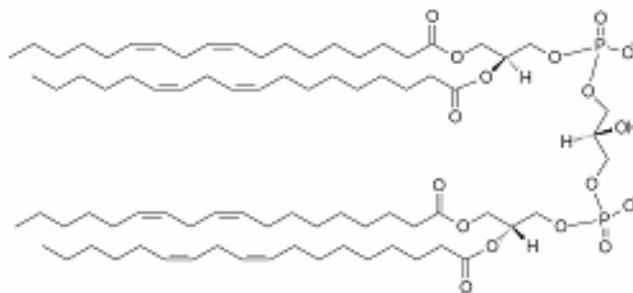


Рис. 3. Структурная формула КЛ из сердца быка.

Именно при больших концентрациях КЛ достигается «насыщение» фермента, когда топоизомераза уже не может больше связаться с ДНК. Во-вторых, КЛ, обладает высоким сродством преимущественно к ионам двухвалентных металлов [5], поэтому может взаимодействовать с ионами Mg^{2+} – кофактором топоизомераз – и инактивировать ферменты.

Таким образом, экзогенный КЛ является ингибитором топоизомераз из *E. coli* обоих

типов. Аналогичное действие характерно и для некоторых фторхинолонов (пемфлоксацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин): несмотря на первичную мишень – ДНК-гиразу, они также ингибируют релаксирующую активность топоизомеразы I из *E. coli* [17].

Полученные нами результаты могут объяснить в некоторой степени бактерицидные свойства КЛ в отношении *Mycobacterium tuberculosis* [3, 18], так как в этом патогене присутствуют только одна

топо I и одна ДНК-гираза [15], в то время как для *E. coli* известны 4 топоизомеразы [14]: топо I и III, относящиеся к топоизомеразам I типа, а также топо IV и ДНК-гираза, принадлежащие к классу II топоизомераз. По-видимому, именно ингибирование КЛ единственной топоизомеразы I и ДНК-гиразы в *M. tuberculosis* может приводить к гибели клеток.

Экспериментальная часть

Материалы и методы

В работе использовали динатриевую соль кардиолипина из сердца быка, в состав которого входят остатки линолевой (~87%) и олеиновой (~8%) кислот (Avanti Polar Lipids, США); плазмиду pUC19 (Invitrogen, США); топоизомеразу I из *E. coli* (New England Biolabs, США); ДНК-гиразу, предоставленную доктором Энтоном Максвеллом (John Innes Centre, UK).

Реакции с топоизомеразами проводили в твердотельном термостате «Гном», рассчитанном на микропробирки типа «Eppendorf» (ДНК-технология, Россия) в Институте биологии гена РАН.

Получение и определение среднего размера липосом из кардиолипина

Липосомы из КЛ (большие одноламеллярные везикулы, БОЛВ) получали методом экструзии мультиламеллярных везикул (МЛВ) с помощью экструдера «LiposoFast Basic» (Avestin Inc., США) и поликарбонатных мембран с диаметром пор 100 нм (Whatman, США) [19]. Размер частиц определяли методом турбидиметрии [19]. Липосомы, используемые в работе, имели размер 168±210 нм, а их концентрация составляла 2.24 мг/мл.

Получение и выделение суперскрученной ДНК для реакций с топоизомеразой I и ДНК-гиразой

Суперскрученную плазмиду pUC19 получали и выделяли щелочным лизисом по протоколу с помощью QIAGEN Plasmid Maxi Kit [20].

Получение релаксированной ДНК для реакции с ДНК-гиразой в присутствии АТФ

Для получения релаксированной ДНК суперскрученную pUC19 обрабатывали топоизомеразой I *E. coli* в течение ночи в буфере, состав которого описан ниже (см. Реакция релаксации суперскрученной ДНК, катализируемая топоизомеразой I). Останавливали реакцию инактивированием фермента, нагревая реакционную смесь при 65°C в течение 20 мин.

Реакция релаксации суперскрученной ДНК, катализируемая топоизомеразой I

Реакционная смесь общим объемом 15 мкл содержала 2 мкг суперскрученной ДНК pUC19, 5 мкл липосом КЛ с концентрациями 90, 300 и 600 мкМ и 2.5 ед. акт. топоизомеразы I *E. coli* в буфере, имеющим следующий состав: 50 мМ ацетат натрия, 20 мМ трис-ацетат (рН 7.9), 10 мМ ацетат магния и 1 мМ дитиотреитол (ДТТ). Реакцию проводили при 37°C в твердотельном

термостате в течение 90 мин, после чего останавливали, добавляя к реакционной смеси 15 мкл STEB-буфера (40% сахара, 100 мМ трис-НСl, рН 7.5, 1 мМ ЭДТА, 2 мг/мл бромфенолового синего) и 15 мкл хлороформа. Продукты реакции анализировали методом электрофореза в 0.9% (w/v) агарозном геле в ТАЕ-буфере (40 мМ трис-ацетат, 1 мМ ЭДТА), не содержащем бромистого этидия, в течение 2 ч (70 В). По окончании фореза гель окрашивали в течение 30 мин в ванночке с водой, содержащей 10 мкг/мл бромистого этидия, гель промывали проточной водой, продукты реакции анализировали с помощью трансиллюминатора и программного обеспечения гель-документации (Хеликон, Россия).

Реакция релаксации суперскрученной ДНК, катализируемая ДНК-гиразой в отсутствие АТФ

Реакционная смесь общим объемом 15 мкл состояла из 2 мкг суперскрученной ДНК pUC19, 5 мкл липосом КЛ с концентрациями 90, 300, 600 мкМ, 1, 1.5 мМ и 3 ед. акт. ДНК-гиразы *E. coli* в буфере следующего состава: 35 мМ трис-НСl (рН 7.5), 24 мМ КСl, 4 мМ MgCl₂, 2 мМ ДТТ, 6.5% (w/v) глицерин и 0.1 мг/мл альбумин. Реакцию проводили при 37°C в твердотельном термостате в течение 90 мин, после чего останавливали, добавляя к реакционной смеси 15 мкл STEB-буфера и 15 мкл хлороформа. Продукты реакции анализировали, как описано для топоизомеразы I. В качестве положительного контроля использовали 4 мкМ ципрофлоксацин, в качестве отрицательного – 500 мкМ фосфатидилхолин.

Реакция суперскручивания релаксированной ДНК, катализируемая ДНК-гиразой в присутствии АТФ

Реакционная смесь объемом 15 мкл состояла из 2 мкг релаксированной ДНК pUC19 (см. Получение релаксированной ДНК для реакции с ДНК-гиразой в присутствии АТФ), 5 мкл липосом КЛ с концентрациями 90, 300, 600 мкМ, 1, 1.5 мМ и 1.5 ед. акт. ДНК-гиразы *E. coli* в буфере следующего состава: 35 мМ трис-НСl (рН 7.5), 24 мМ КСl, 4 мМ MgCl₂, 2 мМ ДТТ, 1.8 мМ спермидин, 1 мМ АТФ, 6.5% (w/v) глицерин и 0.1 мг/мл альбумин. Реакцию проводили при 37°C в твердотельном термостате в течение 30 мин, анализ продуктов реакции осуществляли по методике, описанной для топоизомеразы I. В качестве положительного контроля использовали 4 мкМ ципрофлоксацин.

Заключение

Таким образом, в ходе данной работы было установлено ингибирующее действие экзогенного КЛ (в виде липосом) на топоизомеразу I и ДНК-гиразу (топоизомеразу II) из *E. coli*, которые являются ферментами репликации, транскрипции, репарации и рекомбинации

ДНК. Эти ферменты могут быть мишенями КЛ, проявляющего бактерицидную активность в отношении различных микроорганизмов, в том числе *E. coli* и *M. tuberculosis*. Включение в липосомы из КЛ противотуберкулезных препаратов может снизить концентрацию используемого антибиотика и повысить эффективность бактерицидного действия липосомальной формы препарата на патогенные штаммы, резистентные к антибиотикам.

Авторы выражают благодарность доктору биологических наук Северинову К.В. и кандидату биологических наук Гилярову Д.А. (Институт биологии гена РАН) за консультацию и предоставление научно-исследовательской базы для проведения экспериментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке и в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры России» на 2009-2013 гг. (госконтракт № 14.740.11.0120).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Drlica K., Zhao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1997. V. 61. P. 377–392.
2. Bailly C. Topoisomerase I poisons and suppressors as anticancer drugs // *Cur. Med. Chem.* 2000. V. 7. P. 39–58.
3. Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Жогина Ю.А. Смирнова Д.И., Микулович Ю.Л., Сорокоумова Г.М., Черноусова Л.Н., Селищева А.А., Шве́ц В.И. Влияние экзогенного кардиолипина на рост и жизнеспособность *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv *in vitro* // Доклады академии наук. 2010. Т. 434. № 5. С. 705–708.
4. Смирнова Т.Г., Микулович Ю.Л., Андреевская С.Н., Сорокоумова Г.М., Черноусова Л.Н., Селищева А.А., Шве́ц В.И. Лизопроизводные кардиолипина подавляют жизнеспособность чувствительного и резистентного штаммов *Mycobacterium tuberculosis* // *Биофарм. журн.* 2011. Т. 3. № 2. С. 19–27.
5. Lewis R.N.A.H., McElhaneу R.N. The physicochemical properties of cardiolipin bilayers and cardiolipin-containing lipid membranes // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. V. 1788. P. 2069–2079.
6. Wickner W., Kornberg A. A holoenzyme form of deoxyribonucleic acid polymerase III // *J. Biol. Chem.* 1974. V. 249. P. 6244–6249.
7. Arias-Cartin R., Grimaldi S., Pommier J., Lanciano P., Schaefer C., Arnoux P., Giordano G., Guigliarelli B., Magalon A. Cardiolipin-based respiratory complex activation in bacteria // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. P. 7781–7786.
8. Gold V.A.M., Robson A., Bao H., Romantsova Tatyana, Duong F., Collinson I. The action of cardiolipin on the bacterial translocon // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. P. 10044–10049.
9. Charalambous K., Miller D., Curnow P., Booth P.J. Lipid bilayer composition influences small multidrug transporters // *BMC Biochem.* 2008. V. 9. P. 31–43.
10. Mileykovskaya E., Dowhan W. Visualization of phospholipid domains in *Escherichia coli* by using the cardiolipin-specific fluorescent dye 10-N-nonyl acridine orange // *J. Bacteriol.* 2000. V. 182. P. 1172–1175.
11. Sekimizu K. Interactions between DNA replication-related proteins and phospholipid vesicles *in vitro* // *J. Chem. & Phys. Lipids.* 1994. V. 73. P. 223–230.
12. Mileykovskaya E., Fishov I., Fu X., Corbin B.D., Margolin W., Dowhan W. Effects of phospholipid composition on MinD-membrane interactions *in vitro* and *in vivo* // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 22193–22198.
13. Mizushima T., Natori S., Sekimizu K. Inhibition of *Escherichia coli* DNA topoisomerase I activity by phospholipids // *Biochem. J.* 1992. V. 285. P. 503–506.
14. Бугреев Д.В., Невинский Г.А. Структура и механизм действия ДНК-топоизомераз IA-типа // *Успехи биол. химии.* 2009. Т. 49. С. 129–158.
15. Nagaraja V. Regulation of DNA topology in mycobacteria // *Cur. Sci.* 2004. V. 86. № 1. P. 135–140.
16. Tamura H., Ikegami Y., Ono K., Sekimizu K., Andoh T. Acidic phospholipids directly inhibit DNA binding of mammalian DNA topoisomerase I // *FEBS.* 1990. V. 261. № 1. P. 151–154.
17. Tabary X., Moreau N., Dureuil C., Le Goffic F. Effect of DNA gyrase inhibitors pefloxacin, five other quinolones, novobiocin, and clorobiocin on *Escherichia coli* topoisomerase I // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1987. V. 31. P. 1925–1928.
18. Сорокоумова Г.М., Андреевская С.М., Смирнова Т.Г., Петрова Е.Е., Жогина Ю.А., Калашникова Т.Ю., Черноусова Л.Н., Селищева А.А., Шве́ц В.И. Влияние липосом различного липидного состава на рост *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv *in vitro* // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2009. Т. 148. № 11. С. 550–553.
19. Сорокоумова Г.М., Селищева А.А., Каплун А.П. Фосфолипиды. Методы их выделения, обнаружения и изучения физико-химических свойств липидных дисперсий в воде: учебн. пособие по биоорг. химии. – М.: ИПЦ МИТХТ, 2000. 68 с.
20. QIAGEN Plasmid Mini, Midi, Maxi, Mega, and Giga Kits for purification of ultrapure, transfection grade plasmid DNA. – QIAGEN® Plasmid Purification Handbook. 2005. 52 p.