

# ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ УЗКОБОРОЗДОЧНЫХ ЛИГАНДОВ

Н.А. Шалгинских<sup>1</sup>, К.И. Кирсанов<sup>1</sup>, кандидат биологических наук,  
Е.А. Лесовая<sup>1</sup>, кандидат биологических наук, Г.А. Белицкий<sup>1</sup>, доктор медицинских наук, профессор,  
Р.А. Кац<sup>2</sup>, доктор биологических наук, М.Г. Якубовская<sup>1</sup>, доктор медицинских наук

<sup>1</sup>НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина, РАМН, Москва,

<sup>2</sup>Лаборатория молекулярной структуры и функции ретровирусов  
Онкологического центра Фокс-Чейза, Филадельфия, США

E-mail: mgyakubovskaya@mail.ru

*Впервые продемонстрировано влияние узкобороздочных лигандов на эпигенетическую регуляцию транскрипции в эукариотической модельной системе. С использованием HeLa клеток, несущих ретровирусный вектор с эпигенетически инактивированным репортерным геном зеленого флуоресцентного белка GFP, показано реактивирующее транскрипцию действие соединений Hoechst 33342, Hoechst 33258, DAPI, Netropsin, Diminazene, Pentamidine. При действии Hoechst 33258 и Hoechst 33342 наблюдали изменение ацетилирования гистонов. При этом Hoechst 33258 вызывал снижение метилирования ДНК в промоторной области трансгена GFP, а Hoechst 33342 – модификации H3K4me3.*

**Ключевые слова:** эпигенетическая регуляция транскрипции, метилирование ДНК, модификации гистонов, узкобороздочные лиганды

## EPIGENETIC EFFECTS OF MINOR GROOVE BINDING LIGANDS

N.A. Shalginskikh<sup>1</sup>, K.I. Kirsanov<sup>1</sup>, E.A. Lesovaya<sup>1</sup>, G.A. Belitskiy<sup>1</sup>, R.A. Katz<sup>2</sup>, M.G. Yakubovskaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Carcinogenesis N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow,

<sup>2</sup>Laboratory of molecular structure and function of retroviruses, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia

*The influence of the DNA minor groove binding ligands on epigenetic silencing in eukaryotic human cells has been demonstrated for the first time. Using HeLa cell population that harbors silent GFP-reporter gene under control of the CMV promoter we demonstrated transcriptional reactivation effect of Hoechst 33342, Hoechst 33258, DAPI, Netropsin, Diminazene and Pentamidine. Total histone acetylation changes were observed under Hoechst 33258 and Hoechst 33342 treatment. In addition Hoechst 33258 was shown to cause a reduction in DNA methylation in the promoter region of the GFP-transgene whereas Hoechst 33342 brought about a decrease in histone H3K4me3 modification.*

**Key words:** epigenetic silencing, DNA methylation, histone modifications, DNA minor groove binding ligands

Исследования последних лет показали, что в процессах канцерогенеза и прогрессии опухолей важны не только генетические, но и эпигенетические изменения [1–3]. Наибольший вклад в эпигенетическую регуляцию экспрессии генов вносят такие процессы, как метилирование ДНК и химические модификации гистонов. При этом метилирование промоторных областей генов ассоциировано с подавлением транскрипции, а метилирование кодирующих последовательностей генов – с активной транскрипцией [4–6]. Для некоторых канцерогенов установлена способность одновременно с генотоксическим действием изменять уровень метилирования ДНК за счет модификаций гетероциклических оснований и ингибирования ферментов системы эпигенетической регуляции экспрессии генов [7, 8].

В то же время уровень повреждения ДНК при действии генотоксических канцерогенов и эффектив-

ность репарации зависят от паттерна метилирования и модификаций гистонов. Это необходимо учитывать как при оценке риска развития онкологического заболевания, так и при разработке профилактических мероприятий [1, 3]. Однако систематизированной оценки эпигенетических эффектов различных групп канцерогенных соединений до настоящего времени не проводилось.

Представленное исследование направлено на изучение эпигенетических эффектов группы рекомбиногенных соединений, узкобороздочных лигандов (УБЛ) [9] в сравнении с хорошо изученными ингибиторами метилирования ДНК и модификации гистонов [10–12]. В настоящее время узкобороздочные лиганды активно изучают в связи с их возможным использованием в химиотерапии опухолей [13]. Эти соединения способны ингибировать активность ряда ДНК-зависимых ферментов, в частности, топоизомеразы I [14] и метилтрансферазы DNMT3A [15], что

свидетельствует о необходимости изучения их влияния на транскрипцию эпигенетически инактивированных генов, на метилирование ДНК и модификацию гистонов.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Тестируемые соединения: Hoechst 33342 – 2'-(4-этоксифенил)-5-(4-метил-1-пиперазинил)-2,5'-бис-бензимидазола тригидрохлорид, Hoechst 33258 – 2'-(4-гидроксифенил)-5-(4-метил-1-пиперазинил)-2,5'-бис-бензимидазолтригидрохлоридгидрат; DAPI – 4',6-диамино-2-фенилиндо; Netropsin – нетропсиндигидрохлорид гидрат, антибиотик из *Streptomyces netropsis*; Diminazene – 4,4'-(1-триазен-1,3-дийил)бис-бензенакарбоксимидамид; Трихостан А (TSA); 5-азацидин (5-azaC) были получены из Sigma-Aldrich, США. В качестве растворителей использовали диметилсульфоксид (DMSO) (ПанЭко, Россия) и дистиллированную воду.

**Клеточные линии.** Клетки аденокарциномы человека HeLa (CCL-2) культивировали в среде DMEM с добавлением эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) до 10%, 100 ед/мл пенициллина и 100 ед/мл стрептомицина (Fox Chase Cancer Center, США). Выделение субпопуляций клеток HeLa-T1, содержащих эпигенетически инактивированный геном вируса саркомы птиц с зеленым флуоресцентным белком (GFP), было описано ранее [10–12].

**Вестерн-блоттинг.** Для выделения тотального белка использовали буфер, содержащий 2% SDS; 66 мМ TrisHCl pH=7,5; ингибиторы протеаз (Roche Diagnostics, США) и ингибиторы фосфатаз 2 мМ NaF и Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich, США). В работе были использованы антитела к гистонам H3, H4, H3K9me3, H3K4me3, H4K20me3 (Abcam, США), к ацетилированным гистонам H3 и H4 (Millipore, США), вторичные козы антитела (Pierce, Abcam, США).

**Имунопреципитация хроматина (ChIP).** Для иммунопреципитации хроматина использовали набор реактивов EZ-Magna ChIP (Millipore, США), согласно протоколу производителя. Результаты оценивали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени в присутствии красителя SYBRGreen (Karabiosystems, США). Для амплификации контрольного участка промоторной области GAPDH использовали праймеры: FwTACTAGCGGTTTTACGGGCG; RevTCGAACAGGAGGAGCAGAGAGCGA; а для области сайта старта транскрипции CMV – FwGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGC; RevCAGCTCGACCAGGATGGGCACCAC. ПЦР в реальном времени проводили на термоциклере Realplex Mastercycler (Eppendorf, США) по протоколу: 15 мин 95°C, 40 циклов (15 с 95°C, 60 с 60°C). Изменения уровня экспрессии оценивали по пороговому циклу.

**Анализ метилирования методом бисульфитного секвенирования.** Геномную ДНК выделяли из клеток, используя набор реактивов DNeasy (Qiagen, США). Реакцию бисульфитной обработки проводили с использованием набора реактивов EZDNA Methylation Goldkit (Zymo Research, США) согласно протоколу производителя, с полной конверсией цитозина в урацил (98°C – 10 мин; 53°C – 4 ч). Для амплификации модифицированной ДНК использовали полимеразу Go Tag Flexi (Promega, США), с праймерами к выбранной области LTR промотора: FwGTAATATGTTTATAAGGAGAGAAAAAG; RevAAAACCTTCTACTCATACAATACTC; 94°C – 3 мин, 30 циклов (94°C – 30 с, 54°C – 40 с, 70°C – 30 с), 72°C – 3 мин.

Продукты амплификации были очищены на колонках ZymoClean (Zymo Research, США). Клонирование в pGEM-T вектора проводили с использованием pGEM-TEasyVectorSystem (Promega, США) и компетентных клеток *E. coli* – Strain Zymo 5a (Zymo Research, США). Для промоторной области LTR было проведено секвенирование ДНК 10–20 клонов после обработки клеток соединениями Hoechst 33342, Hoechst 33258, TSA и 5-azaC. Профиль метилирования получен путем сравнения последовательностей ДНК после бисульфитной обработки с немодифицированной ДНК.

**Анализ метилирования методом ИФА.** Общий уровень метилирования ДНК в клетках оценивали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием белковых метилсвязывающих доменов и антител к метилированной ДНК (Epigentek, США). Оптическая плотность раствора окрашенного продукта измерялась при λ=450 нм с использованием планшетного спектрофотометра. Уровень метилирования ДНК оценивали по формуле:

$$5 - mC\% = \frac{(\text{sampleOD} - \text{ME3OD})/S}{(\text{ME4OD} - \text{ME3OD}) \cdot 2^*/p} \cdot 100\%,$$

где S – количество ДНК (нг); p – положительный контроль (нг); 2\* – фактор нормализации положительного контроля к 100% (содержащего 50% 5-mC); ME3OD – оптическая плотность отрицательного, ME4OD – положительного контроля.

**Анализ метилирования методом метилчувствительной ПЦР.** Геномную ДНК выделяли с использованием набора реактивов DNeasykit (Qiagen, США). Рестрикцию с участием метилчувствительного фермента HpaII проводили 12 ч при 37°C. Сайт рестрикции HpaII присутствовал в последовательности LTR, но отсутствовал на промоторе гена GAPDH, использованном в качестве внутреннего контроля. Результаты оценивали методом ПЦР в реальном времени. Для ПЦР GAPDH использовали праймеры: FwCACCAGGGCTGCTTTAACTCTGGTA; RevCCTTGACGGTGCCATGGAATTTGC, для ПЦР LTRp: Fw CCGATTGGTGGAAAGTAAGGTG; Rev AAATACAATATCTCTGCAATGCGG.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор анализируемых в нашем исследовании УБЛ был обоснован их использованием в терапии различных заболеваний или в молекулярно-биологических исследованиях в качестве красителей ДНК. Так, Pentamidine, Diminazene и Netropsin применяют при лечении бактериальной пневмонии, малярии и других инфекционных заболеваний [16–18]. Бисбензимидазолы Hoechst 33258, Hoechst 33342 и DAPI используют для окрашивания ДНК в молекулярно-биологических исследованиях. Кроме того, изучается возможность применения бисбензимидазолов для лечения вирусных инфекций и для химиотерапии опухолей [13].

Анализ эпигенетического действия генотоксических канцерогенов проведен с использованием клеточной модели эпигенетической репрессии, содержащей инактивированный ген *GFP* (см. таблицу). Способность УБЛ реактивировать экспрессию *GFP* была оценена с помощью проточной цитофлуориметрии через 48 ч после начала эксперимента, при этом клетки инкубировали с химическими веществами в течение первых 24 ч. Для веществ, обладающих собственной флуоресценцией, использовали дополнительный контроль на популяции клеток HeLa, не содержащих интегрированный провирус с геном *GFP*.

Данные, полученные в ходе эксперимента, указывают на потенциальную способность генотоксических препаратов, относящихся к группе УБЛ, участвовать в эпигенетической регуляции экспрессии генов. Все тестируемые соединения из этой группы (1–6; см. таблицу) обладали выраженным реактивирующим эффектом при концентрации соединений 5 мкМ, а для Hoechst 33342, DAPI и Netropsin эффекты выявлены при концентрации препаратов 1 мкМ. При анализе результатов эксперимента было отмечено, что наибольшей реактивирующей способностью обладают Hoechst 33342 и DAPI, а наименьшей – Pentamidine и Hoechst 33258 (см. таблицу). Также для Hoechst была показана дозовая зависимость реактивирующего эффекта (данные не представлены). Полученные результаты согласуются с немногочисленными опубликованными данными о способности УБЛ влиять на транскрипцию генов. В частности, на эукариотической модельной системе было показано, что Pentamidine вызывает усиление экспрессии белка

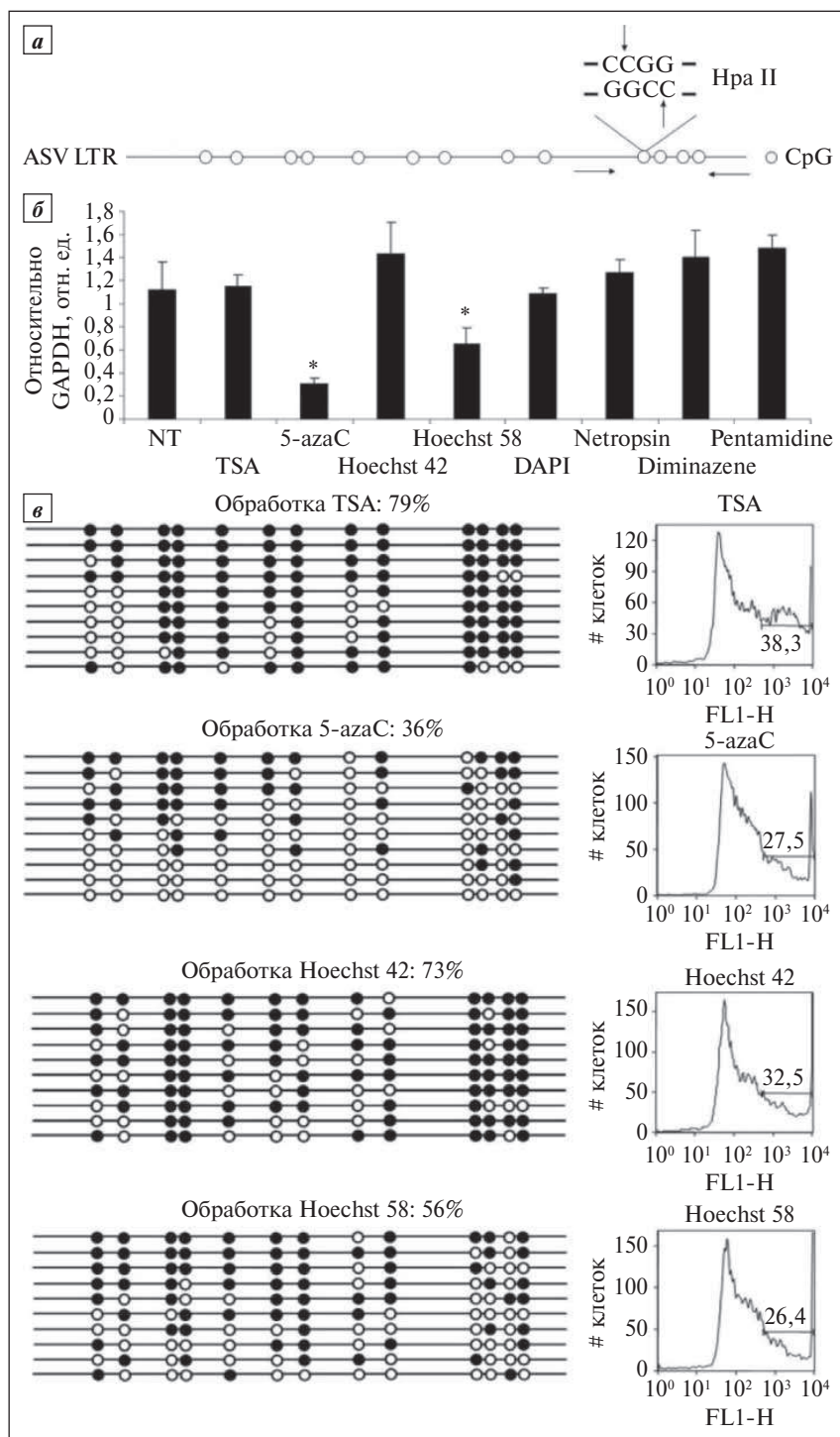
фратаксина [17], а Netropsin – транскрипционную активность промотора NOS2 [18]. Для Hoechst 33258 и Hoechst 33342 способность усиливать экспрессию генов выявлена впервые. Ранее было показано, что эти соединения ингибируют ряд ферментов метаболизма ДНК – топоизомеразу I, хеликазы, TATA-связывающие белки, репликативный белок A и др. [19, 20]. При ингибировании топоизомеразы-I могут возникать одноцепочечные разрывы, что, в свою очередь, является предпосылкой соматической рекомбинации [21].

Для более подробного изучения реактивирующей способности данной группы соединений нами был проанализирован механизм наблюдаемой репрессии. Изменение уровня метилирования ДНК – важный показатель эпигенетической активности химических соединений, однако исследование влияния группы УБЛ на общий уровень метилирования ДНК методом ИФА не выявило значительных изменений (данные не представлены). TSA и 5-azaC были использованы в качестве контроля реактивации транскрипции, опосредованной изменением статуса ацетилирования гистонов (TSA) и метилирования ДНК (5-azaC). Статистически значимое изменение уровня метилирования, как и ожидалось, наблюдалось только в случае применения 5-azaC при значении  $p < 0,01$  (данные не представлены).

РЕАКТИВАЦИЯ НА GFP-КЛЕТКАХ HELA-TI ПОД ДЕЙСТВИЕМ УБЛ

Соединение	Доля GFP-положительных клеток, %, $\bar{x} \pm \sigma$	
	Концентрация соединения в среде	
	1 мкМ	5 мкМ
Hoechst 33342**	15,1+1,5	34,6+0,9*
Hoechst 33258**	7,5+0,6	16,6+0,6*
DAPI**	19,8+0,6*	34,8+1,2*
Netropsin (Congocidine, Sinanomycin)	14,3+0,7*	19,6+1,2*
Diminazene (Azidin, Berenil, Ganasag, Pirocide)	10,3+0,4	21,9+0,9*
Pentamidine	8,8+0,5	16,8+0,5*
Cisplatin (Cisplatinum)	5,1+0,9	6,4+0,6
DMBA	4,7+0,8	4,9+0,6
Aranose	5,9+0,3	6,4+0,7
Cyclophosphamide (Сарколизин, Мелфалан)	0,9+0,5	1,3+0,9
TSA (Trichostatin A)	33,7+1,3*	34,1+1,7*
5-azaC	23,1+0,5*	26,9+0,9*
Растворитель (DMSO)	8,3+0,9	7,9+0,6
HeLa-TI без обработки	3,5+0,9	5,5+0,6

**Примечание.** \* – Статистически значимые результаты при значении  $p < 0,001$ ; \*\* – вещества, обладающие собственной флуоресценцией.



**Рис. 1.** Изменение уровня метилирования в области LTR: а — схема LTR с расположением сайта рестрикции для метилчувствительного фермента HpaII и праймерами для ПЦР; CpG-пары обозначены в виде кружков; б — результаты ПЦР в реальном времени. Нормализация результатов проводилась по отношению к внутреннему контролю — количеству GAPDH; в — процент метилирования в области LTR получен по результатам проведения бисульфитного секвенирования. Справа показаны профили, полученные методом проточной цитофлуориметрии с указанием процента GFP-положительных клеток. Метилированные CpG-пары — черные кружки, неметилированные — белые

Ранее было показано влияние димерных производных бисбензидазола на метилирование ДНК *in vitro*, в частности, на ингибирование каталитического домена ДНК метилтрансферазы DNMT3A [15]. Также было продемонстрировано снижение метилирования гена 18S рибосомных РНК в эукариотической системе [22]. В связи с этим нам представлялось целесообразным более подробно изучить влияние тестируемых нами УБЛ на метилирование промоторных областей путем анализа последовательности LTR, регулирующей экспрессию GFP. Метилирование ДНК исследовали методом метилчувствительной ПЦР. На рис. 1, а приведена схема LTR с локализацией сайта рестрикции метилчувствительного фермента HpaII и праймеров для ПЦР в реальном времени. Статистически значимые изменения уровня метилирования ДНК LTR в области сайта старта транскрипции обнаружены при обработке HeLa-T1 клеток 5-azaC и Hoechst 33258, но не Hoechst 33342 ( $p < 0,01$ ). Для остальных УБЛ значительного снижения метилирования промоторной области не наблюдалось. Известно, что особенностью большинства УБЛ, в том числе Hoechst 33258 и Hoechst 33342, является преимущественное связывание с АТ-богатыми участками ДНК [23].

Hoechst 33342 и Hoechst 33258 по молекулярной структуре различаются лишь функциональной группой при фенольном кольце ( $-C_2H_5$  и  $-OH$  соответственно) и представляют особый интерес в плане сопоставления их структурных различий и биологических эффектов [24]. Оказалось, что у этих соединений разная способность к реактивации транскрипции эпигенетически репрессированных генов, слабая мутагенная активность была выявлена только для Hoechst 33258 на штамме сальмонеллы TA102 с повышенной чувствительностью к мутагенному воздействию [25], а в эукариотических модельных системах мутаген-

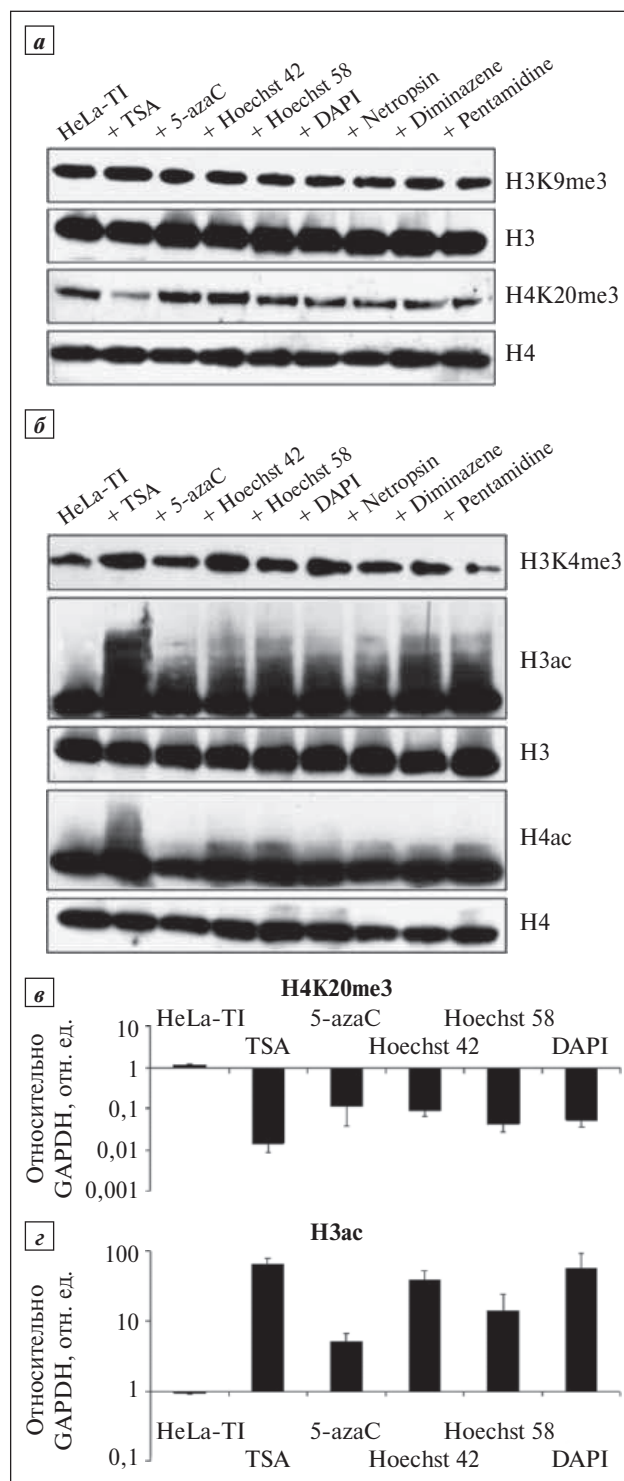
ный эффект как Hoechst 33258, так и Hoechst 33342 не обнаруживался. Рекомбиногенным действием в тесте на дрозофиле обладали оба соединения, но эффект Hoechst 33258 был сильнее [9].

Для подтверждения полученных результатов по метилированию промоторной области нами проведен анализ метилирования всей области LTR методом бисульфитного секвенирования. Всего было проанализировано по 10–20 отдельных клонов после обработки каждым соединением. Параллельно методом проточной цитофлуориметрии проводился анализ профилей флуоресценции, указывающих на уровень реактивации экспрессии GFP. Существенные различия по снижению уровня метилирования при действии 5-azaC (36%) и TSA (79%) свидетельствуют о достаточной чувствительности метода. При действии Hoechst 33342 уровень метилирования LTR не изменялся, тогда как обработка клеток Hoechst 33258 приводила к снижению уровня метилирования ДНК до 56%, что согласуется с нашими данными, полученными методом метилчувствительной ПЦР.

Следующим этапом нашего исследования эпигенетических эффектов УБЛ был анализ их влияния на общий уровень гистоновых модификаций (рис. 2). Наблюдается изменение триметилирования лизинов гистонов H3 и H4 в положении 9 (H3K9me3) и 20 (H4K20me3) соответственно. Эти модификации характерны для нетранскрибируемых генов. Снижение уровня модификации H4K20me3 по сравнению с интактным контролем продемонстрировано при действии исследуемых УБЛ.

На рис. 2, б представлены результаты анализа изменений гистоновых модификаций, характерных для активно транскрибируемых генов. Эпигенетическими маркерами транскрипции являются триметилирование лизина гистона H3 в положении 4 (H3K4me3), а также ацетилирование гистонов H3 и H4 (acH3/acH4) в промоторных областях генов. Мы показали, что обработка HeLa-TI клеток TSA, Hoechst 33342, DAPI приводит к увеличению уровня триметилирования лизинов в положении 4 гистонов H3 (H3K4me3). При этом уровень ацетилирования гистона H4 существенно не изменяется, за исключением образца клеток, обработанных TSA. Уровень ацетилирования гистона H3, напротив, увеличился во всех образцах.

Известно также, что в процессе реактивации отдельно взятого гена изменение модификаций гистонов происходит в первую очередь в его промоторной области. В связи с этим на следующем этапе исследования было определено изменение уровня модификаций гистонов H4K40me3 и H3ac в области промотора GFP (LTR) при действии УБЛ. Результаты ПЦР в реальном времени представлены на рис. 2, в. Изменение уровня метилирования H4K40me3 и ацетилирования H3ac обнаружено через 8 ч после начала инкубации с УБЛ. Данные изменения наблюдались



**Рис. 2.** Анализ изменения модификаций гистонов: а – анализ гистоновых модификаций, характерных для нетранскрибируемых генов: H3K9me3 и H4K20me3 после обработки клеток HeLa-TI узкобороздочными лигандами; б – анализ гистоновых модификаций, характерных для активно транскрибируемых генов: H3K4me3 и acH3/H4 после обработки клеток HeLa-TI УБЛ; в – результаты ПЦР в реальном времени для модификации H4K40me3; г – для модификации H3ac

для всех соединений, при этом наибольшей эффективностью обладал TSA. Из литературных данных известно, что при обработке клеток 5-azaC общий уровень модификаций гистонов не изменяется, а реактивация гена *GFP* в нашей системе происходит в результате снижения метилирования ДНК. Ранее было показано, что 5-azaC может влиять на организацию хроматина за счет ингибирования *de-novo* ДНК метилтрансфераз [26].

Для Hoechst и TSA изменение модификаций гистонов происходило не только на промоторной области, а наблюдалось увеличение общего уровня ацетилирования гистонов в клетках. Это позволяет предположить первичный эффект влияния препаратов Hoechst на регуляцию экспрессии генов за счет изменения модификации гистонов.

Как известно, реализация эпигенетической репрессии может осуществляться по различным механизмам. В нашей модельной системе реактивация происходит либо за счет изменения посттрансляци-

онных модификаций гистонов, либо за счет изменения метилирования ДНК в промоторной области *GFP*.

Таким образом, нами было охарактеризовано эпигенетическое действие группы УБЛ: Hoechst 33342, Hoechst 33258, DAPI, Diminazene, Pentamidine, Netropsin. Для двух представителей этой группы, Hoechst 33342 и Hoechst 33258, были изучены механизмы их влияния на гистоновые модификации и на метилирование ДНК. Мы впервые продемонстрировали эффект Hoechst 33258 на ингибирование метилирования в промоторной области эпигенетически инактивированного гена. Более того, при сравнении эффектов Hoechst 33342 и Hoechst 33258 на метилирование и гистоновые модификации нам удалось выявить различия в действии данных соединений при их схожей химической структуре.

Работа поддержана грантом  
РФФИ 12-04-01978\_a, 12-04-31725мол\_a.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Pogribny I., Beland F. DNA methylome alterations in chemical carcinogenesis // *Cancer Lett.* – 2013; 334: 39–45.
- Копнин Б.П. Молекулярные механизмы канцерогенеза. Энциклопедия клинической онкологии (под ред. Давыдова М.И.) // М.: РАС-Пресс. – 2004; 34–53.
- Baylin S. Reversal of gene silencing as a therapeutic target for cancer-roles for DNA methylation and its interdigitation with chromatin // *Novartis Found Symp.* -2004; 259: 226–33; discussion 234–7, 285–8.
- Jones P., Baylin S. The fundamental role of epigenetic events in cancer // *Nat. Rev. Genet.* – 2002; 3 (6): 415–28.
- Kisseljova N., Kisseljov F. DNA demethylation and carcinogenesis // *Biochemistry (Mosc.)* – 2005; 70 (7): 743–52.
- Baylin S. DNA methylation and gene silencing in cancer // *Nat. Clin. Pract. Oncol.* – 2005; 2 (Suppl. 1): 4–11.
- Cisneros F., Branch S. Transplacental exposure to the DNA demethylating agent, 5-AZA-CdR, affects the sexual behavior of CD-1 male mice // *Neurotoxicology.* – 2004; 25 (3): 411–7.
- Anway M., Memon M., Uzumcu M. et al. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility // *Science.* – 2005; 308 (5727): 1466–9.
- Кирсанов К.И., Лесовая Е.А., Иванов А.А. и др. Бластомогенная активность бисбензимидазольных красителей ДНК при тестировании на дрожophile // *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.* – 2012; 4: 6–11.
- Katz R., Jack-Scott E., Narezkina A. et al. High-frequency epigenetic repression and silencing of retroviruses can be antagonized by histone deacetylase inhibitors and transcriptional activators, but uniform reactivation in cell clones is restricted by additional mechanisms // *J. Virol.* – 2007; 81 (6): 2592–604.
- Poleshko A., Einarson M., Shalginskikh N. et al. Identification of a functional network of human epigenetic silencing factors // *J. Biol. Chem.* – 2010; 285 (1): 422–33.
- Shalginskikh N., Poleshko A., Skalka A. et al. Retroviral DNA methylation and epigenetic repression are mediated by the antiviral host protein Daxx // *J. Virol.* – 2013; 87 (4): 2137–50.
- Baraldi P., Bovero A., Fruttarolo F. et al. DNA minor groove binders as potential antitumor and antimicrobial agents // *Med. Res. Rev.* – 2004; 24 (4): 475–528.
- Pommier Y., Marchand C. Interfacial inhibitors of protein-nucleic acid interactions // *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents.* – 2005; 5 (4): 421–9.
- Cherepanova N., Zhuze A., Gromova E. Inhibition of murine DNA methyltransferase Dnmt3a by DNA duplexes containing pyrimidine-2(1H)-one // *Biochemistry (Mosc.)* – 2010; 75 (9): 1115–25.
- Egbe-Nwiyi T., Igbokwe I., Onyeyili P. The pathogenicity of diminazene aceturate-resistant *Trypanosoma brucei* in rats after treatment with the drug // *J. Comp. Pathol.* – 2003; 128 (2–3): 188–91.
- Grant L., Sun J., Xu H. et al. Rational selection of small molecules that increase transcription through the GAA repeats found in Friedreich's ataxia // *FEBS Lett.* – 2006; 580 (22): 5399–405.
- Grant M., Baron R., Macias A. et al. Netropsin improves survival from endotoxaemia by disrupting HMGA1 binding to the NOS2 promoter // *Biochem. J.* – 2009; 418 (1): 103–12.
- Khan G., Shah A., Zia-ur-Rehman, Barker D. Chemistry of DNA minor groove binding agents // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 2012; 115: 105–18.
- Khan Q., Pilch D. Topoisomerase I-mediated DNA cleavage induced by the minor groove-directed binding of bibenzimidazoles to a distal site // *J. Mol. Biol.* – 2007; 365 (3): 561–9.
- Chen A., Yu C., Gatto B. et al. DNA minor groove-binding ligands: a different class of mammalian DNA topoisomerase I inhibitors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1993; 90 (17): 8131–5.
- Darii M., Rakhimova A., Tashlitsky V. et al. Dimeric bisbenzimidazoles: Cytotoxicity and effects on DNA methylation in normal and cancer human cells // *Mol. Biol. (Mosk.)* – 2013; 47 (2): 292–301.
- Wu J., Apontes P., Song L. et al. Molecular mechanism of upregulation of survivin transcription by the AT-rich DNA-binding ligand, Hoechst 33342: evidence for survivin involvement in drug resistance // *Nucleic Acids Res.* – 2007; 35 (7): 2390–402.
- Ferguson L., Denny W. Microbial mutagenic effects of the DNA minor groove binder pibenzimol (Hoechst 33258) and a series of mustard analogues // *Mutat. Res.* – 1995; 329 (1): 19–27.
- Komashko V., Farnham P. 5-azacytidine treatment reorganizes genomic histone modification patterns // *Epigenetics.* – 2010; 5 (3): (Epub ahead of print)
- Zhang Y., Fatima N., Dufau M. Coordinated changes in DNA methylation and histone modifications regulate silencing / derepression of luteinizing hormone receptor gene transcription // *Mol. Cell. Biol.* – 2005; 25 (18): 7929–39.