

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

© Сулейманова Эльмира Исмаил гызы

Азербайджанский Государственный Университет Нефти и Промышленности,  
Азербайджан, г. Баку; кандидат химических наук, преподаватель кафедры «Химия и технология неорганических веществ», [suleymanova1944@mail.ru](mailto:suleymanova1944@mail.ru)

**Аннотация.** В представленной статье показаны результаты исследований в области количественного и качественного определения нуклеиновых кислот методом спектрофотометрии. Показано, что спектрофотометрический анализ является весьма эффективным методом для определения нуклеиновых кислот. Известно, что нуклеиновые кислоты являются одним из основных и наиболее важных компонентов клеток. Они содержат в своем составе остатки пуриновых и пиримидиновых оснований, таких как гуанин, аденин, тимин, цитозин, урацил, а также остатки углеводной составляющей (рибоза в случае РНК, и дезоксирибоза в случае ДНК). Эти кислоты выполняют резервную, транспортную и функцию передачи информации по наследству. Обычно они состоят из двух полинуклеотидных цепей, которые направлены антипараллельно друг к другу. Учитывая важность и большую значимость нуклеиновых кислот для биологии и фармацевтики, необходима разработка новых эффективных физико-химических методов определения нуклеиновых кислот, а также усовершенствование ранее известных методик для их количественного определения. В статье рассмотрены основные разновидности спектрофотометрического метода для определения нуклеиновых кислот

**Ключевые слова:** нуклеиновые кислоты, спектрофотометрический анализ, пуриновые основания, пиримидиновые основания, рибоза.

## DETERMINATION OF NUCLEIC ACIDS BY SPECTROPHOTOMETRY

© Suleymanova Elmira Ismayil

Azerbaijan State University of Oil and Industry, Azerbaijan, Baku; doctor of philosophy in chemistry, Lecturer at the Department of «Chemistry and Technology of Inorganic Substances»,  
[suleymanova1944@mail.ru](mailto:suleymanova1944@mail.ru)

**Abstract.** This article shows the results of studies in the field of quantitative and qualitative determination of nucleic acids by spectrophotometry. It has been shown that spectrophotometric analysis is a very effective method for the determination of nucleic acids. It is known that nucleic acids are one of the main and most important components of cells. They contain residues of purine

and pyrimidine bases, such as guanine, adenine, thymine, cytosine, uracil, as well as residues of the carbohydrate component (ribose in the case of RNA, and deoxyribose in the case of DNA). These acids perform the reserve, transport and function of transmitting information by inheritance. They usually consist of two polynucleotide chains that are directed antiparallel to each other. Given the importance and great significance of nucleic acids for biology and pharmaceuticals, it is necessary to develop new effective physicochemical methods for determining nucleic acids, as well as to improve previously known methods for their quantitative determination. The article discusses the main varieties of the spectrophotometric method for the determination of nucleic acids

**Key words:** nucleic acids, spectrophotometric analysis, purine bases, pyrimidine bases, ribose.

Нуклеиновые кислоты представляют собой высокомолекулярные органические соединения (биополимеры), образованные остатками нуклеотидов. Они присутствуют в клетках всех живых организмов и выполняют важнейшие функции по хранению, передаче и реализации наследственной информации. Выделяют ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) и РНК (рибонуклеиновая кислота).

ДНК образована дезоксирибозой и азотистыми основаниями: пуриновые (гуанин, аденин) и пиримидиновые (тимин, цитозин). ДНК обычно состоит из двух полинуклеотидных цепей, антипараллельно направленных друг к другу. РНК содержит фрагмент рибозы и азотистых оснований: пуриновые (гуанин, аденин) и пиримидиновые (урацил, тирозин). Она имеет различные вторичные и третичные структуры, образуя комплементарные участки между разными цепями.

В аналитической химии одной из основных задач является разработка эффективных методов определения нуклеиновых кислот. Среди разнообразия аналитических методов для этой цели наибольший интерес вызывает применение метода спектрофотометрии. Так, в работе [1] отмечается, что возможность точного и быстрого количественного определения нуклеиновых кислот является необходимым условием для многих методов, используемых в биохимии и молекулярной биологии. В большинстве случаев это осуществляется с помощью спектрофотометрии, которая является неразрушающей и позволяет извлекать образец для дальнейшего анализа или манипуляций. Спектрофотометрия использует тот факт, что существует зависимость между поглощением ультрафиолетового света ДНК/РНК и его концентрацией в образце. Максимум поглощения ДНК/РНК составляет около 260 нм. Эта цифра представляет собой среднее значение поглощения отдельных нуклеотидов, длина волны которых варьируется от 256 до 281 нм.

Спектроскопия поглощения обычно используется для контроля концентрации нуклеиновых кислот и белков в растворах и для оценки изменений в их структуре, вызванных взаимодействием с химическими веществами или другими биомолекулами. Биологические образцы, используемые для таких анализов, манипулируют и хранят в небольших микроцентрифужных пробирках (микропробирках), состоящих из полипропилена и нескольких пластиковых добавок. В этой работе [2] авторы демонстрируют, что обычное обращение с лабораторными микропробирками вызывает выщелачивание светопоглощающих химических веществ в биологические образцы, которые мешают спектрофотометрическим измерениям. Выщелоченные хромофоры сильно поглощали УФ-свет при длинах волн 220 и 260

нм, которые обычно используются для обнаружения и количественного определения белков и ДНК. Некоторые распространенные лабораторные методы, в том числе ультразвуковая обработка и ПЦР, были особенно эффективными индукторами выщелачивания. Величина увеличения поглощения зависела как от времени воздействия, так и от истории нагревания, с наибольшей индукцией после того, как пробирки были нагреты до температуры 37°C или выше.

Поглощение при 260 нм ( $A_{260}$ ) повсеместно используется для количественного определения нуклеиновых кислот [3]. Показано, что после оксигенации в растворах ДНК изменяются как спектральные свойства (гиперхромизм в УФ-диапазоне,  $\lambda_{\max}$  260 нм), так и конформация ДНК. Спектральные изменения, вызванные комплексообразованием кислород-ДНК, стабильны в течение как минимум нескольких недель при комнатной температуре или нескольких часов при 37°C, но также обратимы при продувке азотом. Данные авторов показывают, что ДНК в рабочих растворах может уже существовать в состоянии комплексов с кислородом, что потенциально может мешать спектрофотометрическим анализам. Кроме того, присутствие этих комплексов, по-видимому, не придает клеточной токсичности *in vitro* и не влияет на биофизическое функциональное поведение (например, гибридизацию) ДНК. Эта работа также предполагает, что гибридизация может определять высвобождение связанного кислорода, явление, которое может открыть путь к использованию таких систем в качестве переносчиков кислорода. Оксигенация вызывает заметный гиперхромизм в основных полосах поглощения ДНК (260 нм). Влияние этого явления на повсеместно распространенные показания  $A_{260}$  может серьезно повлиять на определение концентрации ДНК.

Показано [4], что УФ-спектрофотометрия поглощения широко используется для количественного определения нуклеиновых кислот. Для точной количественной оценки важно определить гипохромность структуры олигонуклеотида или сложной нуклеиновой кислоты. Использование исследований термической денатурации в сочетании с УФ-спектрофотометрией для определения гипохромности требует длительных повышенных температур, которые могут вызвать частичный гидролиз РНК. Кроме того, РНК трудно денатурировать даже при повышенной температуре, а на коэффициенты экстинкции нуклеиновых кислот также влияет температура, что затрудняет точное определение концентрации нуклеиновых кислот. Чтобы преодолеть эти предостережения, авторы использовали химический денатурант диметилсульфоксид, который в сочетании с короткой термической денатурацией предотвращает ренатурацию дуплексных нуклеиновых кислот (дцДНК/РНК). Используя этот подход, авторы измерили поглощение как неструктурированных, так и структурированных нуклеиновых кислот, чтобы точно измерить их гипохромность и определить их коэффициенты экстинкции. Для ряда различных дцРНК авторы впервые определили значения 46,18–47,29 мкг/мл/мл.  $A_{260}$  для количественного определения дцРНК с использованием УФ-спектрофотометрии. Кроме того, этот подход позволяет точно определить относительную долю дуплексных нуклеиновых кислот в смешанных растворах ds/ss нуклеиновых кислот, демонстрируя значительные преимущества по сравнению с современными методами.

В работе [5] авторы сравнили три метода выделения и количественного определения РНК и ДНК из морских отложений: (i) спектрофотометрический метод с использованием анализа дифениламина; (ii) флуорометрический метод с использованием селективных флуорохромов (тиазоловый оранжевый для суммарных нуклеиновых кислот и Hoechst 33258

для ДНК); и (iii) метод жидкостной хроматографии высокого давления (ВЭЖХ), который использует специальную колонку для разделения РНК и ДНК и УФ-поглощения нуклеиновых кислот для количественного определения. Образцы отложений были собраны в олиготрофном Критском море (восточное Средиземноморье, глубина от 40 до 1540 м) и сопоставлены с распределением и составом донных микробных ассоциаций (т.е. бактерий и микрорпротозоев). Концентрации ДНК, измеренные спектрофотометрически и с помощью ВЭЖХ, существенно не различались. в то время как флуорометрические выходы были значительно ниже. Такие различия появляются в основном из-за того, что комплекс краситель-ДНК сильно зависит от состава и структуры ДНК. Концентрации РНК, определенные тремя методами, показали некоторые различия; флуорометрические и спектрофотометрические методы позволяют получить концентрацию РНК по разнице и, следовательно, могут быть ошибочными в отношении оценок ДНК. Напротив, метод ВЭЖХ обеспечивает независимую оценку концентраций РНК и ДНК. Авторы также предварительно оценили вклад детритной ДНК в общие пулы ДНК двумя способами. Эти два расчета дали довольно схожие результаты, указывающие на то, что большая часть пула ДНК в глубоководных отложениях была детритной. Микробная РНК в целом составляла почти все осадочные пулы РНК ниже 100-метровой глубины. Было обнаружено, что концентрации РНК уменьшаются вдоль критского шельфа и склона. Соотношение РНК/ДНК, рассчитанное с использованием флуорометрических концентраций ДНК, достоверно коррелировало со значениями потребления кислорода осадочным сообществом только ниже глубины 100 м (с преобладанием микробной биомассы). Эти данные позволяют предположить, что соотношение РНК/ДНК, основанное на флуорометрических оценках ДНК, может использоваться в качестве индикатора метаболической активности бентоса, но только в том случае, когда вклад многоклеточных животных в микробную ДНК незначителен.

В работе [6] изучена реакция связывания георгина фиолетового с нуклеиновыми кислотами методом спектрофотометрии. При рН 6,1–6,9 реакция связывания завершается в течение 2 мин при комнатной температуре и вызывает уменьшение оптической плотности на длине волны максимального поглощения красителя, т.е. 586 нм. В оптимальных условиях линейность калибровки для дезоксирибонуклеиновой кислоты тимуса теленка (*хт* ДНК) и дезоксирибонуклеиновой кислоты спермы рыб (*фс* ДНК) находится в диапазоне 0,4–11 мкг/мл и 0,4–13 мкг/мл соответственно, а их пределы обнаружения составляют соответственно 0,06 мкг/мл и 0,38 мкг/мл.

В ходе исследований роста листьев часто приходится сталкиваться с проблемой оценки содержания нуклеиновых кислот в очень молодых листьях, где их количества, особенно ДНК, были настолько малы, что сделать анализ фосфора или пентозы считалось ненадежным [7]. Чувствительность спектрофотометрического метода делает его методом выбора для таких небольших исследований, если можно выделить достаточно чистую нуклеиновую кислоту. Процедуры изоляции, успешно применяемые с тканями животных или даже кончиками корней растений, не были напрямую применимы к листьям, главным образом из-за большого количества присутствующих мешающих веществ и из-за трудностей с достижением полной экстракции нуклеиновой кислоты. Из нескольких имеющихся процедур, самой удовлетворительной из них является методика Шимидта и Таннхаузера. Пред-

варительную экстракцию листа проводили по образцу процедуры Огура и Розена и Маркхэма. Спектрофотометрические оценки нуклеиновой кислоты сравнивались с анализом фосфатов и дифениламина для ДНК.

В работе [8] сообщается, что нуклеиновые кислоты обычно и легко анализируются с использованием соотношения  $A(260)/A(280)$ , хотя известно, что этот метод подвержен ошибочным результатам из-за наличия в растворе загрязняющих веществ, которые поглощают при аналогичных длинах волн. Цель настоящей работы, подчеркивая проблемы и альтернативы использования УФ-спектрофотометрии для измерения нуклеиновых кислот, состоит в том, чтобы представить результаты наблюдений недавних исследований авторов, а именно, что  $DO$  (растворенный кислород) и азот могут изменять  $A(260)$  водных растворов ДНК. Это открытие имеет важное значение, поскольку  $DO$  сильно различается между методами и условиями хранения препаратов ДНК. Кратко обсуждается физико-химическая природа взаимодействия кислорода с ДНК.

Представлен спектрофотометрический метод, с помощью которого можно получить спектр поглощения, по существу характерный для нуклеиновых кислот, из растворов смешанных белков нуклеиновых кислот и экстрактов печени мыши [9]. Для проверки эффективности метода для нуклеопротеидных комплексов были получены спектры очищенного нуклеогистон тимуса теленка, показывающие кривые поглощения обоих его компонентов: нуклеиновых кислот и гистона.

Нуклеиновые кислоты, выделенные из различных типов образцов, служат исходным материалом для широкого круга задач и ряда последующих приложений. Количественное определение выделенной нуклеиновой кислоты необходимо перед знакомством с этими приложениями. Спектрофотометрическая система Epoch предоставляет средства получения точных измерений в широком диапазоне концентраций и объемов проб, включая количественный анализ микрообъемов. Сравнение с другими специализированными устройствами микрообъемов, таких как NanoDrop, показывает аналогичную производительность [10].

Точная количественная оценка ДНК является очень важным методом в молекулярной биологии. Методами, широко используемыми для количественного определения ДНК, являются УФ-спектрометрия и флуорометрия. В этом исследовании [11] семь различных образцов ДНК и один контрольный образец (сверхчистая вода MilliQ) были количественно определены тремя аналитиками с использованием одного спектрофотометрического (т.е. прибора NanoDrop) и трех флуорометрических (т.е. набора AccuGreen High Sensitivity, набора AccuClear Ultra High Sensitivity, и набора Qubit dsDNA HS Assay). Схема дисперсионного анализа (ANOVA) использовалась для определения влияния аналитика, метода и комбинации аналитика и метода на количественный анализ ДНК. Для большинства образцов измеренная концентрация ДНК была близка или немного превышала концентрацию 10 нг/мкл, указанную поставщиком. Результаты, полученные тремя аналитиками, были схожими. Однако, было обнаружено, что по сравнению с флуорометрическими наборами используемый спектрофотометрический прибор в случае образцов ДНК рыб имеет тенденцию завышать концентрацию ДНК. Поэтому при наличии достаточного объема образца рекомендуется сочетание спектрофотометрического и флуорометрического методов для получения данных о чистоте и концентрации двухцепочечной ДНК в образце.

Описан метод измерения абсорбции пурин-пиримидина *Micrococcus pyogenes* var. *Aureus* (*штамм Duncan*) (*M. pyogenes*; *Staphylococcus aureus*) в интактных клеточных суспензиях с помощью спектрофотометра Beckman Model DU, из которого могут быть получены значения общего содержания нуклеиновой кислоты в клетках [12]. Приблизительный характер метода обсуждается, но приводятся результаты, показывающие, что значения, полученные при нормальном росте культуры *M. pyogenes*, очень выгодно отличаются от значений, полученных по методу Шмидта и Таннхаузера. Некоторые наблюдения за *Escherichia coli* (*штамм H*) позволяют предположить, что метод может быть применим к другим организмам.

Сообщается [13], что растения привлекают все больше внимания современных ученых-фармацевтов, потому что некоторые заболевания человека, возникающие в результате устойчивости к антибиотикам, вызывают всеобщее беспокойство. Доступен и разрабатывается ряд методов выделения нуклеиновых кислот из растений. *Катарантус* относящегося к семейству *Aprocynaceae*, хорошо известному тем, что оно богато алкалоидами. Алкалоиды барвинка широко используются при лечении рака как у детей, так и у взрослых. Благодаря биохимической организации они нацеливаются на субъединицу  $\alpha/\beta$  тубулина гетеродимеров и ингибируют деление клеток, нарушая динамику микротрубочек. Различные части барвинка розового исследовали на содержание нуклеиновых кислот с помощью спектрофотометрического анализа. Для измерения содержания ДНК в листьях, корнях и цветках барвинка спектрофотометрия имеет ряд преимуществ, т.е. она не разрушает и позволяет извлекать образец для дальнейшего анализа или манипуляций. Спектрофотометрия использует тот факт, что существует зависимость между поглощением ультрафиолетового света ДНК/РНК и его концентрацией в образце. В этой статье рассматриваются современные подходы к разработке простого, эффективного, надежного и экономичного метода выделения, разделения и оценки общей геномной ДНК из различных частей одного и того же вида.

Сообщается [14,15], что количественное определение нуклеиновых кислот обычно используется в молекулярной биологии для определения концентрации ДНК и РНК, присутствующих в смеси, в качестве последующей реакции или протоколов с использованием образца нуклеиновых кислот с требуемой определенной величиной оптических характеристик. И ДНК, и РНК демонстрируют сильное поглощение УФ-излучения из-за присутствия сопряженных двойных связей постоянных пуриновых и пиримидиновых оснований, и они имеют характеристики OD (оптической плотности) максимума поглощения при 260 нм, что линейно связано с концентрацией ДНК в решение до значения OD. Спектроскопический метод используется для проверки чистоты ДНК. Белки являются основными примесями в экстрактах нуклеиновых кислот, и они имеют максимальное поглощение при 280 нм. Значение менее 1,8 означает наличие белков в качестве примесей.

В работе [16] предложен простой и недорогой метод определения содержания нуклеиновых кислот и функциональной активности ДНК в пекарских дрожжах (*Saccharomyces cerevisiae*). Предлагаемый метод не требует дорогостоящих приборов и материалов и обладает большой чувствительностью. Может применяться для анализа ферментативной активности дрожжей в пищевой промышленности. Метод основан на способности пуриновых и пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот поглощать ультрафиолетовые лучи в области 260-270 нм.

Таким образом, анализ проведенных исследований показывает, что спектрофотометрический метод анализа является одним из наиболее эффективных методов качественного и количественного определения нуклеиновых кислот. Этим методом нуклеиновые кислоты могут быть определены в различных биологических образцах: тканях и органах растений, грибов и других микроорганизмов. Поиск и разработка новых эффективных методов определения нуклеиновых кислот не теряет своей актуальности и по сегодняшний день, о чем свидетельствуют многочисленные литературные сообщения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Heptinstall J., Rapley R. Spectrophotometric Analysis of Nucleic Acids // Chapter 2 in book *The Nucleic Acid Protocols Handbook*. 1995. Springer Protocols Handbooks. Pp. 57-60.
2. Lewis L.K., Robson M., Vecherkina Y., Chang J. Interference with spectrophotometric analysis of nucleic acids and proteins by leaching of chemicals from plastic tubes // *Biotechniques*. 2010. Vol. 48, N 4. Pp. 297-302.
3. Doshi R., Day P., Carampin P., Blanch E.W. Spectrophotometric analysis of nucleic acids: Oxygenation-dependant hyperchromism of DNA // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010. Vol. 396, N 6. Pp. 2331-2339.
4. Nwokeoji A., Kilby P.M., Portwood D.E. Accurate Quantification of Nucleic Acids Using Hypochromicity Measurements in Conjunction with UV Spectrophotometry // *Anal. Chem*. 2017. Vol. 89, N 24. Pp. 13567-13574.
5. Dell Anno A., Fabiano M., Duineveld G.C., Danovaro R. Nucleic acid (DNA, RNA) quantification and RNA/DNA ratio determination in marine sediments: comparison of spectrophotometric, fluorometric, and HighPerformance liquid chromatography methods and estimation of detrital DNA // *Applied Environ. Microbiol*. 1998. Vol. 64, N 9. Pp. 3238-3245.
6. Wei Q., Yuanyuan L., Bin D., Caihong D. Spectrophotometric Determination of Nucleic Acids Using Dahlia Violet as Absorption Spectroscopic Probe // *Instrumentation Science and Technology*. 2005. Vol. 33, N 4. Pp. 437-448.
7. Nieman R.H., Poulsen L. Spectrophotometric Estimation of Nucleic Acid of Plant Leaves // *Plant Physiol*. 1963. Vol. 38, N 1. Pp. 31-35.
8. Rupak D., Day P., Tirelli N. Dissolved oxygen alteration of the spectrophotometric analysis and quantification of nucleic acid solutions // *Biochem. Soc. Trans*. 2009. Vol. 37., N 2. Pp. 466-470
9. Annau E. Spectrophotometric analysis of nucleic acids in protein solutions and in crude organ extracts // *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 1955. Vol. 5, N 1. pp. 13-20
10. Brescia P. Multi-Volume Analysis of Nucleic Acids Using the EPOCH™ Spectrophotometer System // *Nauka Innovacii*. 2012. Vol. 8, N 2. Pp. 43-47.
11. Hoekema T., Tiggelaar R., Gardeniers H., Bruijns B. Performance of Spectrophotometric and Fluorometric DNA Quantification Methods // *Analytica*. Vol. 3, N 3. Pp. 371-384.
12. Mitchell P. Spectrophotometric Estimation of Nucleic Acid in Bacterial Suspensions // *Microbiology*. 1950. Vol. 4, N 3. Pp. 399-402.

13. Himesh S., Singhai A.K., Priyanka S., Sarvesh S. Spectrophotometric method for quantitative estimation of DNA isolated from various parts of *Catharanthus roseus* // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2011. N 3. Pp. 529-532.
14. Nagesh K., Reena J., Praswetha R. Qualitative and quantitative analysis of DNA by spectrophotometry // Pharmatutor. 2011. N 3. Pp. 32-38.
15. Watts C. Nano Drop Spectrophotometer Usefulness in Nucleic Acids Quantitation in Current Times // Biochem. Mol. Lett. 2022. Vol. 5, N 2. Pp. 160-167.
16. Moiseyev B.I. Two-wave spectrophotometric method for determination of nucleic acids content in baking yeast // Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series. 2006. N 3. Pp. 89-93.

#### REFERENCES

1. Heptinstall J., Rapley R. Spectrophotometric Analysis of Nucleic Acids // Chapter 2 in book The Nucleic Acid Protocols Handbook. 1995. Springer Protocols Handbooks. Pp. 57-60.
2. Lewis L.K., Robson M., Vecherkina Y., Chang J. Interference with spectrophotometric analysis of nucleic acids and proteins by leaching of chemicals from plastic tubes // Biotechniques. 2010. Vol. 48, N 4. Pp. 297-302.
3. Doshi R., Day P., Carampin P., Blanch E.W. Spectrophotometric analysis of nucleic acids: Oxygenation-dependant hyperchromism of DNA // Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2010. Vol. 396, N 6. Pp. 2331-2339.
4. Nwokeoji A., Kilby P.M., Portwood D.E. Accurate Quantification of Nucleic Acids Using Hypochromicity Measurements in Conjunction with UV Spectrophotometry // Anal. Chem. 2017. Vol. 89, N 24. Pp. 13567-13574.
5. Dell Anno A., Fabiano M., Duineveld G.C., Danovaro R. Nucleic acid (DNA, RNA) quantification and RNA/DNA ratio determination in marine sediments: comparison of spectrophotometric, fluorometric, and HighPerformance liquid chromatography methods and estimation of detrital DNA // Applied Environ. Microbiol. 1998. Vol. 64, N 9. Pp. 3238-3245.
6. Wei Q., Yuanyuan L., Bin D., Caihong D. Spectrophotometric Determination of Nucleic Acids Using Dahlia Violet as Absorption Spectroscopic Probe // Instrumentation Science and Technology. 2005. Vol. 33, N 4. Pp. 437-448.
7. Nieman R.H., Poulsen L. Spectrophotometric Estimation of Nucleic Acid of Plant Leaves // Plant Physiol. 1963. Vol. 38, N 1. Pp. 31-35.
8. Rupak D., Day P., Tirelli N. Dissolved oxygen alteration of the spectrophotometric analysis and quantification of nucleic acid solutions // Biochem. Soc. Trans. 2009. Vol. 37., N 2. Pp. 466-470
9. Annau E. Spectrophotometric analysis of nucleic acids in protein solutions and in crude organ extracts // Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 1955. Vol. 5, N 1. pp. 13-20
10. Brescia P. Multi-Volume Analysis of Nucleic Acids Using the EPOCH™ Spectrophotometer System // Nauka Innovacii. 2012. Vol. 8, N 2. Pp. 43-47.
11. Hoekema T., Tiggelaar R., Gardeniers H., Bruijns B. Performance of Spectrophotometric and Fluorometric DNA Quantification Methods // Analytica. Vol. 3, N 3. Pp. 371-384.

12. Mitchell P. Spectrophotometric Estimation of Nucleic Acid in Bacterial Suspensions // Microbiology. 1950. Vol. 4, N 3. Pp. 399-402.
13. Himesh S., Singhai A.K., Priyanka S., Sarvesh S. Spectrophotometric method for quantitative estimation of DNA isolated from various parts of *Catharanthus roseus* // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2011. N 3. Pp. 529-532.
14. Nagesh K., Reena J., Praswetha R. Qualitative and quantitative analysis of DNA by spectrophotometry // Pharmatutor. 2011. N 3. Pp. 32-38.
15. Watts C. Nano Drop Spectrophotometer Usefulness in Nucleic Acids Quantitation in Current Times // Biochem. Mol. Lett. 2022. Vol. 5, N 2. Pp. 160-167.
16. Moiseyev B.I. Two-wave spectrophotometric method for determination of nucleic acids content in baking yeast // Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series. 2006. N 3. Pp. 89-93.