

УДК 534.286

О ПОГЛОЩЕНИИ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ БИОПОЛИМЕРОВ

С. Х. Садыхова, И. Е. Эльпинер

С помощью импульсной ультразвуковой установки изучено затухание ультразвука в водных растворах белков и нуклеиновых кислот в диапазоне частот 12–68 Мгц. Установлена взаимосвязь между коэффициентом поглощения и конформационными особенностями исследованных биополимеров. Мышечные и глобулярные белки (актин, миозин, актомиозин и сывороточный альбумин) отличаются между собой по поглощению ультразвуковых волн в указанном диапазоне частот. Выявлено, что изменение конформации биополимера РНК, вызванное его взаимодействием с формальдегидом и гидроксиламином, приводит к увеличению поглощения. Щелочной гидролиз, действие ультразвука большой интенсивности или присутствие в растворе мочевины, наоборот, сопровождается уменьшением коэффициента поглощения.

Известно, что акустические измерения могут дать важную информацию, касающуюся строения и внутренней структуры жидкостей, характера молекулярного взаимодействия и кинетики быстропротекающих молекулярных процессов [1]. В этом аспекте значительный интерес представляет изучение акустических параметров биологически активных веществ, которое приобретает особую актуальность в связи с успешным применением некавитационного ультразвука в биологии и медицине [2]. Следует отметить, что имеется лишь очень небольшое число исследований, посвященных вопросам молекулярной акустики биополимеров и биологических жидкостей. Так, например, Карстенсен и Шваном были проведены исследования по определению акустических параметров крови в диапазоне частот 0,4–10 Мгц [3, 4]. Согласно этим авторам, поглощение ультразвука в крови происходит на молекулярном уровне и определяется главным образом содержащимися в ней протеинами. Малая, но заметная часть поглощения вызывается клеточными элементами крови. Эта часть затухания объяснялась относительным движением эритроцитов в физиологическом растворе. Названными авторами установлено, что в целом частотная зависимость затухания звука в крови хорошо описывается спектром, релаксационные частоты которого находятся в пределах 0,02–200 Мгц. Релаксационную часть поглощения Карстенсен и Шван находили из выражения:

$$\alpha\lambda = B^* \omega + \int 2(\alpha\lambda)^* f(\Omega) \frac{\omega/\Omega}{1 + (\omega/\Omega)^2} d\Omega,$$

где $f(\Omega)$ функция распределения, $(\alpha\lambda)^*$ — константа, Ω — релаксационная частота, $B^* = B\bar{c}/2\pi$, B — поглощение при предельно высоких значениях частоты f , связанное с перелаксационными процессами, \bar{c} — скорость звука. Эти авторы предположили, что функция распределения $f(\Omega) = \Omega_0/\Omega$ и получили хорошее совпадение экспериментальной кривой с теоретической.

Недавние измерения затухания звука в растворах гемоглобина, выполненные Эдмондом [5], показали, что спектр времен релаксаций простира-

ется по крайней мере до 300 *Мгц*. Для объяснения своих результатов Эдмонд дает несколько модифицированную функцию распределения $f(\Omega)$ и получает для релаксационной части поглощения следующее выражение:

$$(\alpha\lambda)_{\text{рел}} = \frac{\pi}{\rho c^2} \int_{\tau_2}^{\tau_1} \varepsilon(\lg \tau) \frac{\omega \tau d(\lg \tau)}{1 + \omega^2 \tau^2},$$

где $\tau = 1/\Omega$, ρ — плотность раствора.

Следует отметить, что в биологических жидкостях в процессах затухания звука участвуют не только макромолекулы белков, но и другие биомолекулы, в частности полисахариды [6].

Ряд исследований, проведенных недавно с синтетическими полипептидами [7], которые обычно используются как модель протеинов, связывает изменение затухания ультразвуковых волн с конформационными изменениями макромолекул, с гидратацией и рН среды. В нашей работе исследовались преимущественно фибриллярные белки и нуклеиновые кислоты.

Для измерения затухания ультразвука наибольшее распространение получили импульсные методы. В этих методах определяется затухание амплитуды ультразвукового импульса, прошедшего определенное расстояние в поглощающей ультразвуком среде. Большинство описанных в литературе установок требует сравнительно больших количеств исследуемого вещества. Однако в биологической практике большие количества биологически активных веществ не всегда бывают доступны, что ограничивает возможности применения указанных методов исследования.

В наших исследованиях для измерения затухания ультразвуковых волн использовалась импульсная ультразвуковая установка, разработанная Бердыевым и Лежневым [8] и несколько модифицированная в нашей лаборатории Зарецким [9] специально для малых объемов жидкости (5—10 см^3). Установка работала по принципу переменного акустического пути с использованием двух кварцевых преобразователей. Диапазон частот составлял 12—68 *Мгц*, погрешность измерений была около $\pm 5\%$.

Отсчет затухания производился методом сравнения принятого ультразвукового импульса с эталонным, амплитуда которого контролировалась посредством специального устройства [9]. Затухание ультразвука рассчиты-

валось по обычной формуле, $\alpha/f^2 = \ln \frac{V_2}{V_1} / \Delta l f^2$, где $\Delta l = l_2 - l_1$ — при-

ращение акустического пути в см , V_1 и V_2 — амплитуды напряжения (аналоги амплитуд давления принятых акустических импульсов), соответствующие разным толщинам исследуемой жидкости.

Нами изучались водные растворы мышечных белков (актина, миозина и актомиозина). Изучение структуры и физико-химических особенностей белков мышцы тесно связано с расшифровкой механизма мышечного сокращения.

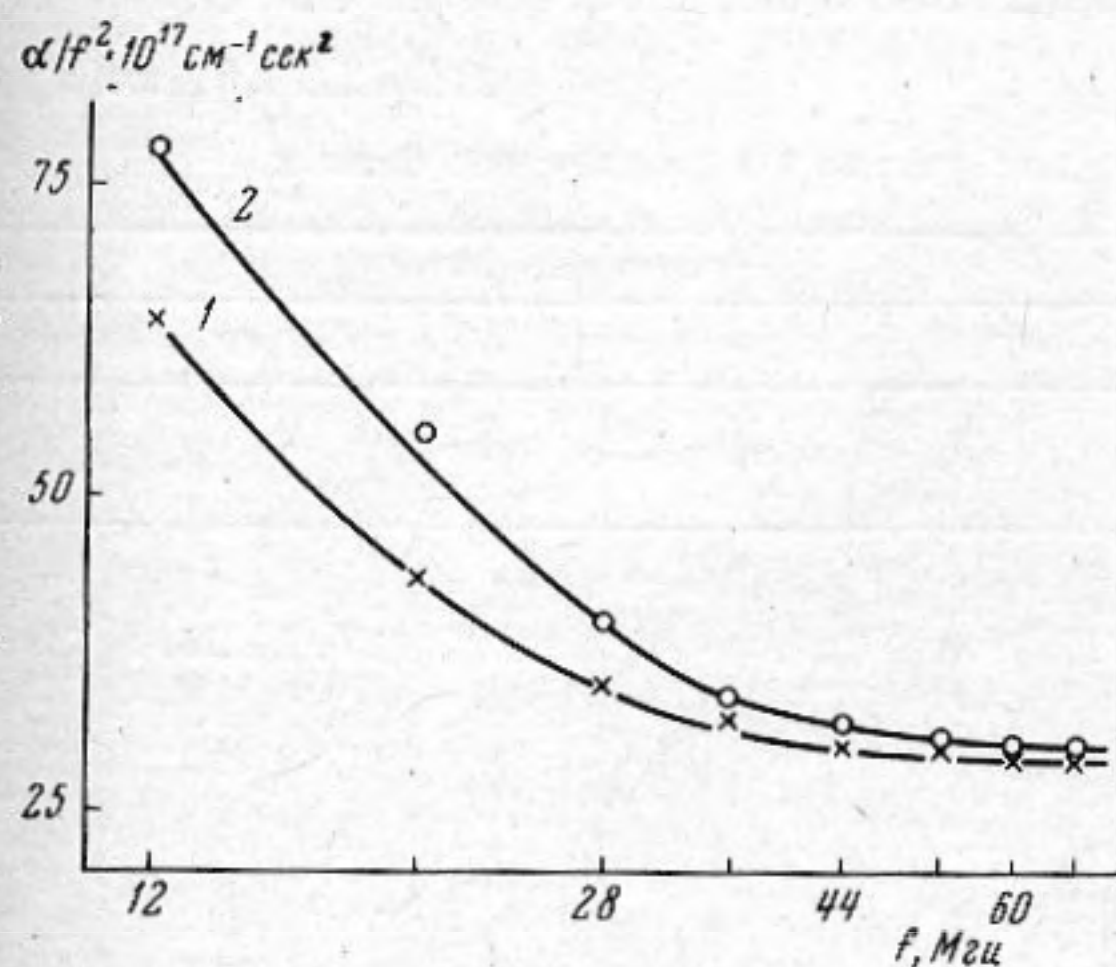
Как известно, актин в растворе может существовать в глобулярном и фибриллярном состояниях. Способность взаимного перехода актина из глобулярного в фибриллярное состояние определяет его существенную роль в элементарном мышечном сократительном акте. Глобулярный актин (Γ -актин) находится в мономерной или димерной форме; молекулярный вес мономерной формы равен 56 000, димерной — 117 000. Под влиянием солей и в зависимости от рН среды Γ -актин подвергается полимеризации, превращаясь в фибриллярную модификацию — Φ -актин, характеризующийся большим молекулярным весом ($3-8 \cdot 10^6$).

Согласно измерениям двойного лучепреломления в потоке и определениям коэффициентов седиментации и светорассеяния, Φ -актин представляет собой длинную полуизогнутую нить, состоящую из многих сотен мо-

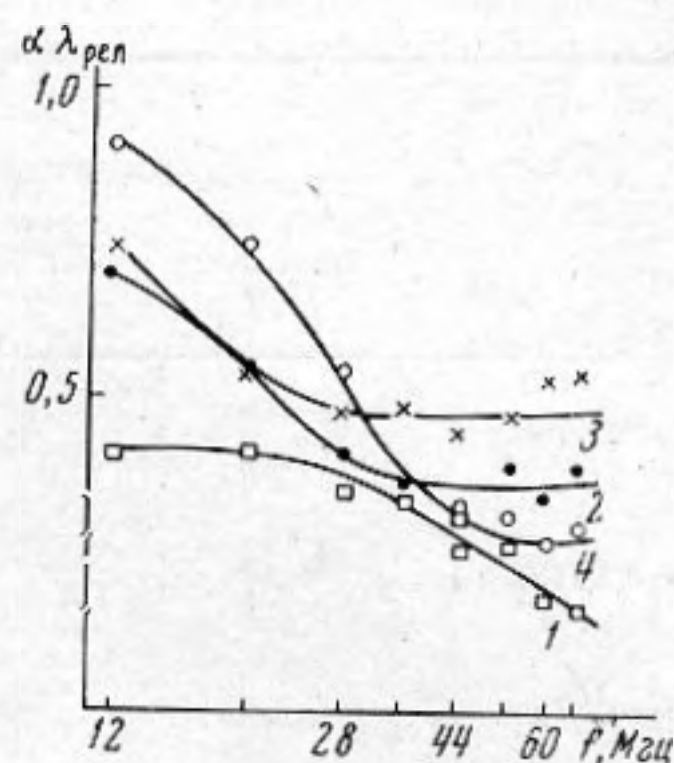
лекул Г-актина. Средняя длина Ф-актиновых нитей достигает нескольких микрон.

Миозин составляет основную часть миофибрилл. Он является носителем аденозинтрифосфатазной активности и легко соединяется с актином с образованием актомиозина.

Молекулярный вес миозина составляет 450—500 тыс. Согласно рентгеноструктурным исследованиям, полипептидные цепи, образующие миозин,



Фиг. 1



Фиг. 2

свернуты в α -спираль. Имеются указания на то, что молекула миозина состоит из двух или трех α -спиралей, закрученных друг относительно друга [10]. По данным электронной микроскопии молекула миозина палочкообразна с широкой глобулярной головкой на одном конце.

Актомиозин является продуктом соединения актина и миозина, входящих в его состав в приблизительно стехиометрическом соотношении (1 : 5,5—1 : 3 по весу) и сочетает в себе физико-химические и ферментативные свойства обоих белков.

Переходим к изложению результатов наших исследований. Превращение Г-актина в Ф-актин мы вызывали путем прибавления 0,1 M KCl к белковому раствору. Концентрации обеих форм исследуемого белка были одинаковы (0,34 г / 100 мл). Измерения затухания проводились при 20° и pH 7. Как видно из фиг. 1, затухание ультразвука в водном растворе Ф-актина (кривая 2) значительно превышает затухание в соответствующем водном растворе Г-актина (кривая 1). При этом различие в значениях α / f^2 для этих белков наиболее выражено в нижнем участке (12—36 Mгц) использованного диапазона частот.

Следует отметить, что для Г-актина в использованном диапазоне частот характерным является и больший коэффициент поглощения ультразвука (почти в 2 раза на частоте 12 Mгц) по сравнению с коэффициентом поглощения для соответственных водных растворов альбумина, близкого по молекулярному весу к актину (см. данные для растворов Г-актина и альбумина при концентрации 0,34 г / 100 мл в таблице 1). Растворы Г-актина и альбумина имели одинаковое значение pH 7.

Нами была также исследована зависимость величины α / f^2 от концентрации Г- и Ф-актина, которая в пределах 0,16—0,34 г / 100 мл оказалась почти линейной.

Ход кривых зависимости α / f^2 от частоты ультразвука для водных растворов миозина такой же, как и для актина. Однако для получения таких кривых оказалось необходимым увеличить концентрацию миозина.

Так, почти при одинаковом поглощении Ф-актина и миозина (на частоте 12 Мгц) концентрация исследуемых белковых растворов составляла соответственно 1 : 5 (см. табл. 1). Концентрационная зависимость для водных растворов миозина, так же как и для актина, в используемом диапазоне частот является линейной в интервале 0,9—1,5 г / 100 мл.

В изученных нами белковых растворах обнаружено значительное отклонение измеренного коэффициента поглощения от коэффициента поглощения, вычисленного на основании классической формулы Стокса.

Таблица 1

Значения α/f^2 для водных растворов мышечных белков

Белок	Концентрация в г/100 мл	Температура T, °C	Частота f, Мгц							
			12	20	28	36	44	52	60	68
			Значения $\frac{\alpha}{f^2} \times 10^{11} \text{см}^{-1} \text{сек}^2$							
Г-актин	0,16	20	42,0	31,0	28,0	27,0	26,5	26,0	26,0	25,0
	0,28		57,0	38,0	31,0	29,0	27,5	27,0	26,0	25,5
	0,34		64,0	43,0	35,0	32,0	30,0	30,0	29,0	29,0
Ф-актин	0,16	20	47,0	35,0	32,0	30,0	29,0	28,0	27,0	27,0
	0,28		68,0	45,0	34,0	32,0	31,0	30,0	29,0	28,0
	0,34		78,0	52,0	40,0	34,0	32,0	31,0	30,0	30,0
Миозин	0,94	20	38,5	32,0						
	1,06		43,5	35,5						
	1,13		48,0	37,5	32,0	31,0	30,0	30,0	29,0	28,0
	1,21		54,0	39,0	32,0	31,0	30,5	30,5	29,5	29,0
	1,41		67,0	44,0	37,0	35,0	33,0	32,0	33,0	31,5
Акто-миозин	0,4	25	43,0	34,0	28,0	26,0	24,0	23,5	22,0	21,5
Альбумин	0,34	20	29,0	28,0	27,0	26,5	25,5	25,5	25,0	25,0

Для того, чтобы получить представление о форме релаксационных спектров для мышечных белков, мы вычислили релаксационную часть поглощения из выражения [5]:

$$(\alpha\lambda)_{\text{рел}} = (\alpha\lambda)_{\text{изм}} - V^* \omega.$$

На фиг. 2 представлены релаксационные спектры исследуемых мышечных белков (1 — актомиозин, 2 — Г-актин, 3 — миозин, 4 — Ф-актин). Как видно, максимумы релаксационных спектров актина и миозина лежат за пределами измеряемого диапазона частот и сдвинуты в область более низких частот. Что касается актомиозина, то максимум релаксационного спектра последнего в отличие от актина и миозина находится в измеряемом диапазоне частот. Размытость этого максимума, вероятно, связана со значительным изменением конформаций белков, участвовавших в образовании комплекса актина и миозина — актомиозина.

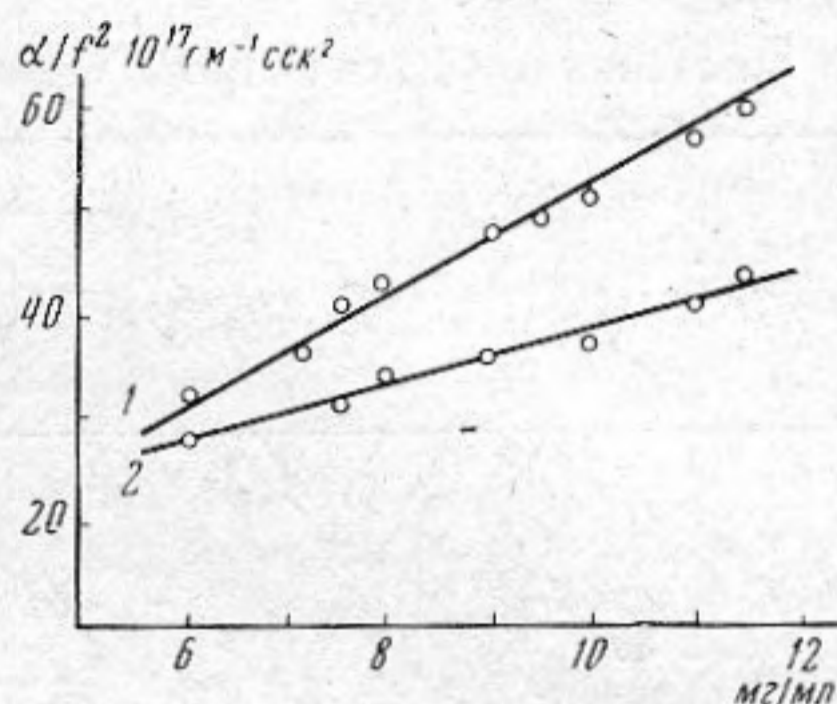
Мы определяли также коэффициент поглощения ультразвука в растворах нуклеиновых кислот, нативных и подвергшихся различным воздействиям (химические агенты, тепло, ультразвук большой интенсивности). Актуальность этих исследований заключается в том, что нуклеиновые кислоты являются носителями генетической информации. Передача этой информации осуществляется рибонуклеиновой кислотой. Изучение акустических параметров нуклеиновых кислот представляет интерес еще и потому, что ультразвуковые волны обладают определенным мутагенным действием. Для исследований нами использовались водные растворы РНК («Шухарт», молекулярный вес $0,6 \times 10^6$). Растворы РНК мы нейтрализовали щелочью NaOH до нейтрального pH.

Как показало изучение концентрационной зависимости величины α/f^2 для растворов РНК («Шухарт») в интервале 0,6—1,2 г / 100 мл, зависимость эта является линейной (фиг. 3), где 1 — 12 Мгц, 2 — 20 Мгц.

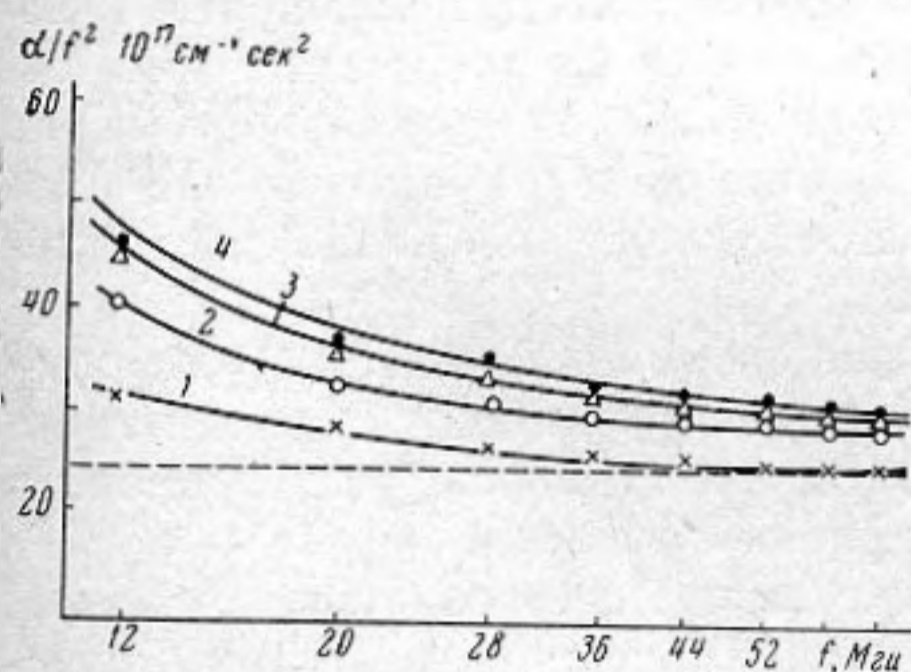
Дальнейшее увеличение концентрации не приводит к изменению величины коэффициента поглощения, что соответствует наблюдениям Михайлова [11—14] при изучении поглощения в концентрированных биополимерах.

В своих работах Михайлов и сотрудники использовали весовые концентрации полимеров 3—15% и более. По их сообщениям коэффициенты поглощения (по абсолютным значениям) растворов полимеров и чистого растворителя несколько отличаются между собой. Что касается величины макроскопической сдвиговой вязкости раствора полимера, то она во много раз превосходит вязкость растворителя. Эти наблюдения, согласно данным Михайлова, обусловлены явлениями структурообразования, имеющими место в концентрированных растворах макромолекул.

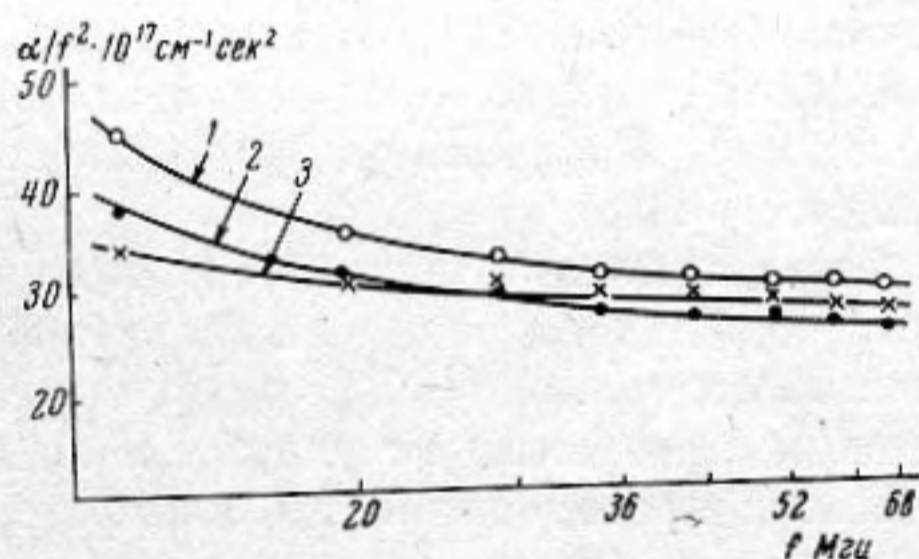
Механизм поглощения в концентрированных растворах предложен Волькенштейном и Готлибом [15], а также Готлибом и Салиховым [16]. Эти представления могут найти свое приложение и для объяснения приводимых нами экспериментальных данных, которые в значительной степени совпадают с наблюдениями Михайлова. К особенности наших данных относится то обстоятельство, что мы известными химическими агентами вызывали определенные (относительно хорошо изученные) конформационные изменения исследованных биомacroмолекул. Эти изменения закономерным образом отражаются на способности макромолекул, находящихся в свободном состоянии или участвующих в структурообразовании, поглощать ультразвуковые волны. Об этом



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

свидетельствуют и наши дальнейшие исследования, касающиеся изучения акустических параметров нуклеиновых кислот.

Нами изучались нативные нуклеиновые кислоты и нуклеиновые кислоты, подвергшиеся действию тепла и химических агентов (формальдегид, гидроксилламин).

Исследование температурной зависимости величины α/f^2 для растворов РНК в температурном интервале 10—40° показало, что температурный коэффициент в этом интервале отрицательный.

Согласно литературным данным [17], формальдегид (CH_2O) реагирует, по-видимому, с неспаренными нуклеотидами, с аминогруппами азотистых оснований нуклеиновых кислот. При этом формальдегид взаимодействует только с NH_2 -группами, не участвующими в водородных связях между основаниями. При довольно высокой температуре (65—70°), когда большин-

ство водородных связей разорвано, почти все NH_2 -группы участвуют в реакции с формальдегидом [18].

Оказалось, что использованный нами метод измерения затухания ультразвука регистрирует нарушения вторичной структуры РНК, вызванные реакцией формальдегида с нуклеиновой кислотой.

Смесь полимерной РНК, выделенной из дрожжевых клеток (концентрация раствора 1,6 г / 100 мл, рН 7), с 6% формальдегидом, предварительно нейтрализованном до рН 7, мы инкубировали в течение часа при 65°. Измерения затухания ультразвука в исследуемых растворах проводились при 20°.

Таблица 2

Значения α/f^2 для водных растворов нативной и модифицированной РНК

Препарат	Концентрация, г/10 мл	Температура, Т°С	Частота f , мц							
			12	20	28	36	44	52	60	68
			Значения $\frac{\alpha}{f^2} \times 10^{-17} \text{см}^{-1} \text{сек}^2$							
РНК	1,6		41	33,0	31,5	30,0	29,5	29,0	28,0	27,5
РНК озвученная, 2 час	1,6		36	30,5	29,0	27,0	27,0	26,5	26,5	26,0
РНК озвученная, 2 час + 6% CH_2O		20	39,5	32,0	31,0	29,0	29,0	28,0	28,0	27,0
% CH_2O			25,5	25,5	25,0	25,0	25,5	25,0	25,0	24,5

На фиг. 4 представлены данные по измерению затухания ультразвука в водных растворах РНК нативной (кривая 2) и подвергшейся действию формальдегида (кривая 4). Изменение структуры РНК под действием формальдегида выражается в увеличении коэффициента поглощения в использованном диапазоне частот и в определенном сдвиге максимума релаксационного спектра. Инкубация раствора РНК без формальдегида не приводила к изменению величины поглощения, измеренной при 20°. (Поглощение в 6% растворе формальдегида почти такое же, как в дистиллированной воде.)

Отсюда можно заключить, что функция формальдегида как химического агента, сводится как бы к фиксации денатурационных изменений, вызванных теплом (65°) в молекуле РНК, что удалось зарегистрировать методом измерения затухания и спектрофотометрически.

Наши исследования по измерению затухания ультразвука показали, что фиксация денатурационного изменения РНК формальдегидом происходит не только под действием тепла, но осуществляется и при комнатной температуре, если исследуемую РНК подвергнуть действию ультразвука большей интенсивности. Известно [19], что ультразвук большой интенсивности не только разрывает полимер на отдельные фрагменты, но и «разрыхляет» водородные мостики азотистых оснований, что, по-видимому, сопровождается обнажением групп, участвующих во взаимодействии с формальдегидом.

В табл. 2 помещены результаты исследования влияния ультразвуковых волн большой интенсивности на РНК. Здесь же представлены данные о способности озвученной РНК взаимодействовать с формальдегидом.

Раствор РНК очень высокой концентрации (1,6 г / 100 мл) мы озвучивали в воздухе в течение 2 час на частоте 750 кГц при интенсивности 10—12 вт/см². В качестве источника ультразвуковой энергии служила пьезокварцевая пластинка диаметром 5 см и фокусным расстоянием 10 см. Озвучивание данного раствора производили в специальном стеклянном сосуде

при комнатной температуре (20—22°), что достигалось охлаждением сосуда, облучаемого ультразвуком, проточной водопроводной водой.

Как видно из табл. 2, 2-часовое озвучивание водного раствора РНК, вызывающее распад макромолекулы РНК (об этом свидетельствует уменьшение вязкости озвученного раствора РНК и наши данные по спектрофотометрии), приводит к уменьшению затухания ультразвука в растворе озвученной РНК. Прибавление же к последней формальдегида вызывает увеличение затухания до уровня, отвечающего исходной РНК (табл. 2).

Модификацию нативной РНК мы проводили также и другим химическим агентом — гидроксиламином (NH_2OH). Имеются указания [20] на то, что гидроксилламин взаимодействует с цитозином, разрывая Г — Ц (гуанин — цитозин) пары оснований нуклеиновой кислоты. Следует отметить, что химический метод специфического расщепления РНК и ДНК с помощью гидроксиламина применялся, в частности, для изучения мутагеназа, а также действия NH_2OH на акцепторную активность так называемой транспортной РНК.

Для исследований нами использовался раствор РНК (концентрация 1,6 г / 100 мл, рН 7) с 0,1 М гидроксиламином, нейтрализованным с помощью NaOH до рН 7.

Данные по измерению затухания ультразвука в водных растворах РНК, нативной и подвергшейся действию гидроксиламина, представлены на фиг. 4 (кривые 2 и 3 соответственно). Как видно из фиг. 4, изменение структуры РНК, вызванное инкубацией РНК с 0,1 М гидроксиламином при 65° в течение 23 час, приводит к увеличению затухания ультразвука (измерения затухания проводились при 20°). Инкубация РНК без гидроксиламина при тех же условиях не приводит к изменению величины затухания. Затухание в 0,1 М растворе гидроксиламина близко к поглощению в растворителе (фиг. 4, кривая 1).

Согласно нашим предварительным исследованиям, используемый метод измерения затухания ультразвука оказался чувствительным и к процессам гидролиза РНК. Щелочной гидролиз мы проводили 1н NaOH в течение 2 час на кипящей водяной бане. В этих условиях происходит распад макромолекулы РНК до нуклеотидов [21]. Гиперхромный эффект после гидролиза составляет около 47%; падение удельной вязкости 58%.

В данном случае в отличие от предыдущих (действие на РНК формальдегида и гидроксиламина) имеет место уменьшение затухания ультразвука в использованном диапазоне частот (фиг. 5, кривая 1 — водный раствор РНК нативной, кривая 3 — водный раствор РНК гидролизованной). Следует отметить, что после 2-часового щелочного гидролиза нелинейность зависимости поглощения ультразвука от частоты сохраняется.

Аналогичный эффект получен нами при применении в качестве денатурирующего РНК агента мочевины. Раствор РНК концентрации 1,6 г / 100 мл подвергался действию 6 М мочевины. Поглощение α / f^2 при этом с увеличением частоты уменьшается (фиг. 5, кривая 2) так же, как и в случае щелочного гидролиза РНК. Согласно литературным данным [22], 6—7 М мочевина разрушает вторичную структуру РНК.

Итак, в результате проведенных нами исследований водных растворов нуклеиновых кислот удалось наблюдать следующие явления.

Изменение вторичной структуры макромолекулы РНК некоторыми химическими агентами (формальдегид, гидроксилламин) приводит к увеличению затухания ультразвука, разрывы же цепи полимера в результате гидролиза, а также действия ультразвука большой интенсивности и мочевины приводят к уменьшению затухания ультразвука.

Что касается специфики механизма релаксационной части поглощения ультразвука в водных растворах исследованных биополимеров, то здесь, по-видимому, имеет место наложение ряда релаксационных процессов. Причем максимумы спектра релаксационных частот исследованных нами биополимеров лежат за пределами использованного диапазона частот и

сдвинуты в область более низких частот. Среднее время релаксации, вычисленное нами для актомиозина, максимум релаксационного спектра которого лежит частично в использованном диапазоне частот, порядка 10^{-8} сек. Можно предположить, что для других исследованных нами биополимеров среднее время релаксации будет такого же порядка.

Изучение затухания ультразвука в растворах биологически активных веществ в области частот ниже 12 Мгц с целью более детального выяснения механизма релаксационного поглощения является предметом наших дальнейших исследований. Они должны расширить наши представления о молекулярной организации биополимеров, о чем свидетельствуют приведенные наши данные об акустических параметрах исследованных биомакромолекул, которые выявили возможность регистрации тончайших различий между ними, в частности в отношении их конформационных особенностей.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. Г. Михайлов, Ю. П. Соловьев. Основы молекулярной акустики. М., «Наука», 1964.
2. Л. Д. Розенберг, И. Е. Эльпинер. Ультразвук в медицине. «Природа», 1960, 10, 35—41.
3. E. L. Carstensen, H. P. Schwan. Absorption of sound arising from the presence of intact cells in blood. J. Acoust. Soc. America, 1959, 31, 2, 185—189.
4. E. L. Carstensen, H. P. Schwan. Acoustic properties of hemoglobin solutions. J. Acoust. Soc. America, 1959, 31, 3, 305—311.
5. P. D. Edmonds. Ultrasonic absorption of hemoglobin solutions. Biochim. Biophys. Acta, 1962, 63, 216—219.
6. S. A. Harwey, L. W. Kessler, F. Dunn. Ultrasonic absorption in aqueous solutions by high-molecular-weight polysaccharides. J. Acoust. Soc. America, 1965, 38, 521—523.
7. Y. Wada, H. Sasabe, M. Tomono. Viscoelastic relaxations in solutions of polyglutamic acid and gelatin on ultrasonic frequencies. Biopolymers, 1967, 5, 887—897.
8. А. А. Бердыев, Н. Б. Лежнев. К вопросу об измерении поглощения ультразвука в жидкостях. Акуст. ж., 1963, 9, 1, 113—115.
9. А. А. Зарецкий, К. П. Фурсов. Импульсная установка для измерения затухания ультразвуковых волн в биологических растворах. Ультразвуковая техн., 1968, 2, 39—46.
10. W. W. Kielely, W. F. Harrington. A model for the myosin molecule. Biochim. Biophys. Acta, 1960, 41, 401—421.
11. И. Г. Михайлов, Л. И. Тарутин. Поглощение ультразвуковых волн в растворах желатины. Докл. АН СССР, 1950, 74, 41—43.
12. И. Г. Михайлов, Л. А. Шагалова. Распространение ультразвуковых волн в растворах полимеров. Докл. АН СССР, 1953, 89, 829—833.
13. И. Г. Михайлов, Н. М. Федорова. Изучение структурных изменений концентрированных растворов полимеров при помощи ультразвука. Акуст. ж., 1963, 9, 1, 50—53.
14. И. Г. Михайлов. Поглощение ультразвуковых волн в концентрированных растворах некоторых полимеров. Акуст. ж., 1962, 8, 4, 478—479.
15. Ю. Я. Готлиб, М. В. Волькенштейн. О поглощении ультразвука в растворах полимеров. Докл. АН СССР, 1953, 89, 821.
16. Ю. Я. Готлиб, К. М. Салихов. Теория поглощения ультразвука в концентрированных растворах полимеров. Акуст. ж., 9, 3, 301—308.
17. R. Haselkorn, P. Doty. The reaction of formaldehyde with polynucleotides. J. Biol. Chem., 1961, 236, 10, 2738—2745.
18. М. К. Куханова, Л. Л. Киселев, Л. Ю. Фролова. Изменения акцепторной активности транспортных рибонуклеиновых кислот при их взаимодействиях с формальдегидом. Биохимия, 1963, 28, 6, 1053—1058.
19. Ф. И. Брагинская, И. Е. Эльпинер. Метахроматическая реакция нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), нативных и облученных ультразвуковыми волнами. Биофизика, 1964, 9, 40—47.
20. Н. А. Кочетков, Э. И. Будовский, В. П. Демускин. Химическая модификация нуклеиновых кислот. Влияние вторичной структуры на скорость гидроксиламинолиза s-РНК. Докл. АН СССР, 1966, 163, 1, 102—103.
21. Нуклеиновые кислоты. Под ред. Э. Чаргаффа и Дж. Дэвидсона, М., ИЛ, 1962.
22. J. Brandts, L. Hunt. The thermodynamics of protein denaturation. III. The denaturation of ribonuclease in water and in aqueous urea and aqueous ethanol mixtures. J. Amer. Chem. Soc., 1967, 89, 19, 4826—4838.

Институт химической физики АН СССР

Москва

Поступила в редакцию
6 октября 1969 г.