

## ИЗУЧЕНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ БИОПОЛИМЕРОВ МЕТОДОМ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Ф. И. Брагинская, С. Х. Садыхова, И. Е. Эльпинер

Ряд быстропротекающих молекулярных процессов имеют времена релаксации меньше  $10^{-5}$  сек и поэтому недоступны для изучения обычными химическими методами. В этих целях можно использовать ультразвуковую абсорбционную спектроскопию, которая применяется для исследования химических и структурных реакций, длительность которых сравнима с периодом ультразвуковых волн ( $10^{-9}$ — $10^{-5}$  сек) [1]. Весьма актуальным является изучение акустических параметров биомакромолекул; последние, по-видимому, периодически переходят из одного конформационного состояния в другое в процессе их функционирования (ассоциация и диссоциация боковых цепей, взаимодействие фермент — субстрат, переходы спираль — клубок и т. д.).

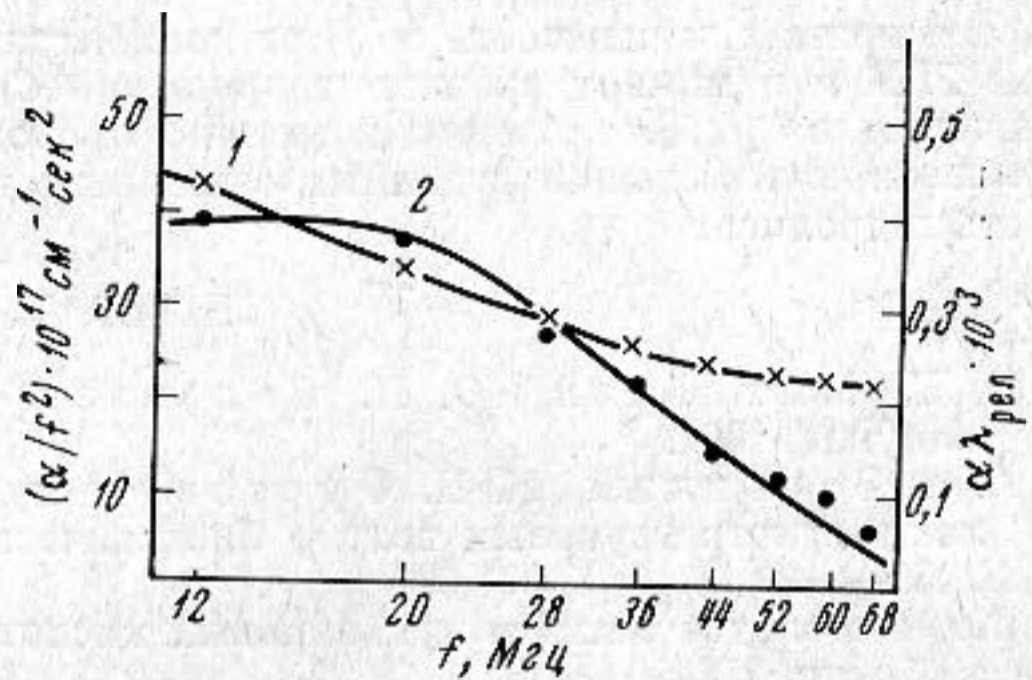
Ниже приводятся данные по изучению поглощения ультразвука в водных растворах биополимеров (белок и нуклеиновые кислоты). Измерения проводились на импульсной установке, описанной в работе [2]; диапазон частот составлял 12—68 Мгц.

На фиг. 1 представлены частотные зависимости удельного поглощения  $\alpha/f^2$  (кривая 1) и релаксационные спектры  $\alpha\lambda_{\text{рел}}$  (кривая 2) для мышечного белка актомиозина (0,4 г/100 мл). Для описания одиночного релаксационного процесса можно применить уравнение

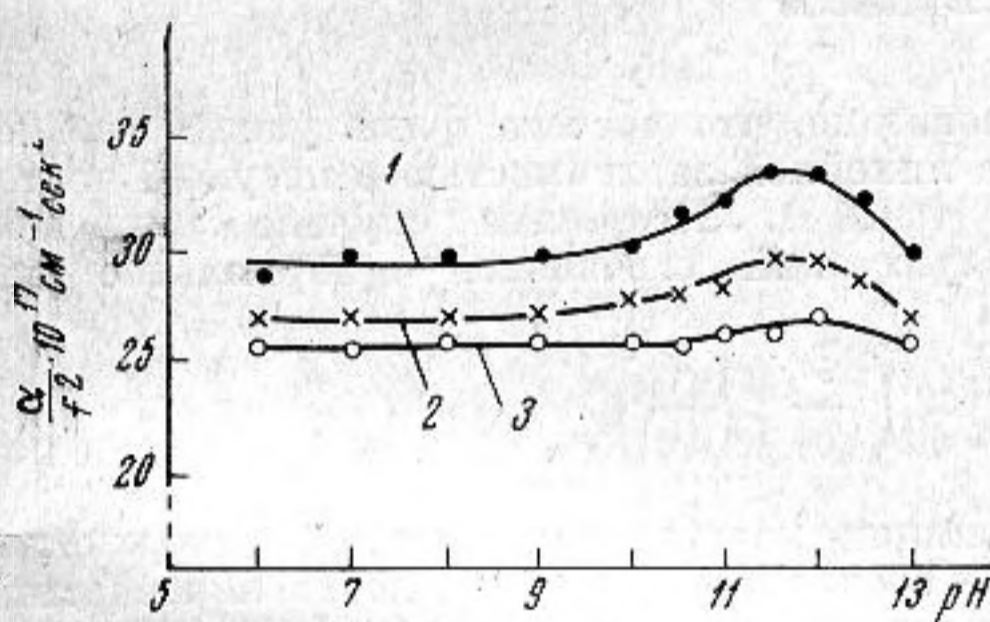
$$(\alpha/f^2)_{\text{измер}} = \frac{A}{1 + (f/f_0)^2} + B,$$

где  $f_0$  — характеристическая частота.

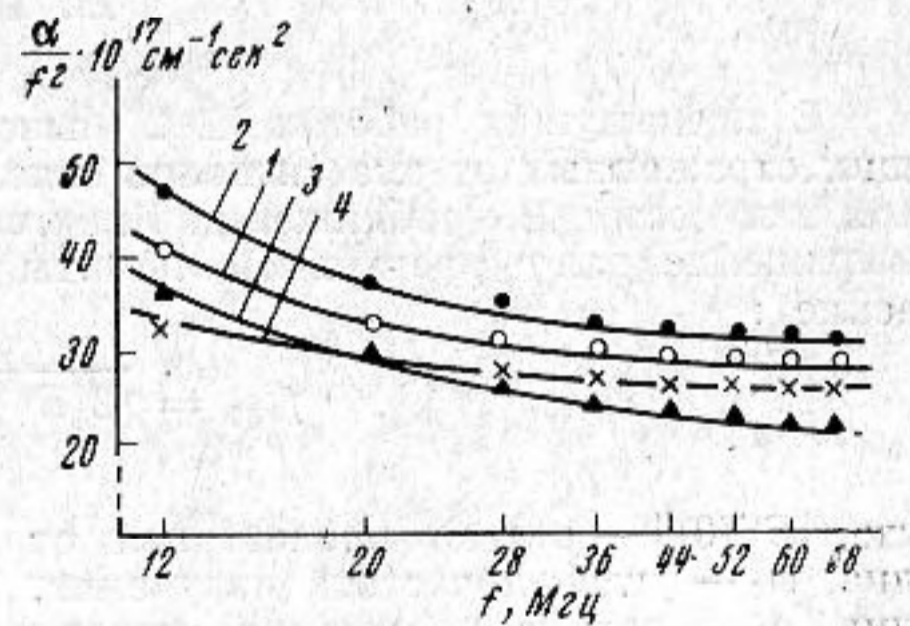
Вычисленные для актомиозина акустические параметры  $B = 22 \times 10^{-17} \text{ см}^{-1} \text{ сек}^2$ ,  $A = 34,4 \times 10^{-17} \text{ см}^{-1} \text{ сек}^2$ ,  $f_0 = 15 \text{ Мгц}$ . При прохождении ультразвуковых волн в водном растворе актомиозина наблюдается, по-видимому, конформационная релаксация без изменения во внутримолекулярных водородных связях.



Фиг. 1.



Фиг. 2



Фиг. 3

В растворах нуклеиновых кислот (ДНК или РНК), подвергнутых тепловой или щелочной денатурации, наблюдается в основном конформационная релаксация при изменении внутрицепочечных водородных связей.

На фиг. 2 представлены зависимости  $\alpha/f^2$  от  $pH$  водных растворов тимусной ДНК (мол. вес  $7 \times 10^6$ , концентрация 0,05 г/100 мл). На частотах 12 (кривая 1), 20 (кривая 2) и 28 Мгц (кривая 3) наблюдаются максимумы поглощения, обусловленные щелочной денатурацией ДНК (разрушение двухтяжевой структуры). Распад вторичной структуры в результате денатурации РНК также приводит к увеличению  $\alpha/f^2$  в измеряемом диапазоне частот (фиг. 3, кривая 1 — водный раствор дрожжевой нативной РНК в концентрации 0,1 г/100 мл; кривая 2 — та же РНК, подвергнутая щелочной денатурации,  $pH$  11,0). Обработка РНК 6 М мочевиной (кривая 3), на-

оборот, приводит к уменьшению  $\alpha / f^2$ , несмотря на то, что мочеви́на является денатурирующим агентом. Гиперхромный эффект при этом составлял всего 7—10%. Наблюдаемое уменьшение ультразвукового поглощения РНК при денатурации мочевиной обусловлено, по-видимому, способностью последней влиять на связывание азотистых оснований с молекулами воды [3] и, отсюда, через посредство взаимодействия растворенное вещество — растворитель изменять структуру воды.

Разрывы фосфатуглеродной цепи биополимера приводят к уменьшению поглощения акустической энергии в исследованном диапазоне частот (кривая 4 — РНК, подвергнутая щелочному гидролизу 2 час при 100°, рН 9,0).

Если принять, что образование мононуклеотидов при щелочном гидролизе РНК является псевдомономолекулярной реакцией [4], и учесть наши данные по прямой зависимости  $\lg \alpha / f^2$  от времени гидролиза  $t$ , то можно рассчитать константу скорости гидролиза ( $K$ ) РНК как реакцию 1-го порядка:  $K = \frac{2,303}{\Delta t} \lg \frac{C_0}{C_t}$ . Так как наблю-

дается прямая зависимость  $\alpha / f^2$  от концентрации  $C$  РНК, то концентрации  $C_0$  исходной РНК и в момент времени гидролиза  $t$   $C_t$  можно заменять на соответствующие значения  $\alpha / f^2$ . Вычисления возможно проводить и в том случае, когда будут накоплены количественные данные о влиянии длины полинуклеотидной цепи на скорость гидролиза.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. И. Г. Михайлов, Ю. П. Соловьев. Основы молекулярной акустики. М., «Наука», 1964.
2. А. А. Зарецкий, К. П. Фурсов. Импульсная установка для измерения затухания ультразвуковых волн в биологических растворах. Ультразвук. техн., 1968, 2, 39—46.
3. Сб. «Биосинтез белка и нуклеиновых кислот», под ред. А. С. Спирина. М., «Наука», 1965, стр. 254.
4. Н. К. Кочетков и др. Органическая химия нуклеиновых кислот. М., «Химия», 1970, стр. 558.

Институт химической физики  
АН СССР  
Москва

Поступило в редакцию  
22 февраля 1971 г.

УДК 534.24;534.87

### О ЧАСТОТЕ ФЛЮКТУАЦИЙ ОГИБАЮЩИХ ЗВУКОВЫХ СИГНАЛОВ, ОТРАЖЕННЫХ ОТ ДНА ОКЕАНА

В. И. Вологов

В предыдущих работах [1, 2] было показано, что частота флюктуаций огибающих отраженных от дна сигналов связана линейной зависимостью с несущей частотой излучения. В приближении Кирхгофа [1] Ю. П. Лысановым получено следующее выражение для эффективной частоты флюктуаций огибающей\* (нормальное падение):

$$f_{\text{эфф}} = \sqrt{2|B''(0)|} \omega_0 \left( \frac{\xi_0}{\rho_0} \right) \left( \frac{v}{c} \right),$$

где  $|B''(0)|$  — вторая производная от функции корреляции неровной поверхности дна,  $\omega_0$  — угловая частота излучения,  $\xi_0$  — среднеквадратичная высота неровностей дна,  $\rho_0$  — радиус корреляции неровной поверхности дна,  $v$  — скорость движения приемно-излучающей системы в горизонтальной плоскости,  $c$  — скорость звука в воде. Эта формула во многих случаях получила хорошее экспериментальное подтверждение.

Вместе с тем в ряде экспериментов было замечено, что частотная зависимость эффективной частоты флюктуаций испытывает «насыщение», а иногда и спад с ростом частоты несущей. Пример тому представлен на фигуре, где  $I$  — частотная зависимость эффективной частоты флюктуаций, полученная в природных условиях в районе одной из холмистых зон Индийского океана. На графике эффективная частота флюктуаций приведена к одному узлу скорости движения приемно-излучающей системы и имеет размерность  $гц/узел$ . Из графика видно, что до частоты 10  $кгц$  эффек-

\* Эффективная частота флюктуаций определялась как величина, обратная интервалу корреляции огибающей.