

1982 г. Октябрь

Том 138, вып. 2

УСПЕХИ ФИЗИЧЕСКИХ НАУК

СОВЕЩАНИЯ И КОНФЕРЕНЦИИ

53(048)

**НАУЧНАЯ СЕССИЯ ОТДЕЛЕНИЯ ОБЩЕЙ ФИЗИКИ
И АСТРОНОМИИ И ОТДЕЛЕНИЯ ЯДЕРНОЙ ФИЗИКИ
АКАДЕМИИ НАУК СССР**

(24—25 марта 1982 г.)

24 и 25 марта 1982 г. в Физическом институте им. П. Н. Лебедева АН СССР состоялась совместная научная сессия Отделения общей физики и астрономии и Отделения ядерной физики АН СССР. На сессии были заслушаны доклады:

24 марта

1. Ю. Е. Нестерихин, С. Г. Раутиан, М. И. Штокман. Селективное лазерное воздействие на макромолекулы
2. В. Ф. Китаева, А. С. Золотко, Н. Н. Соболев. Самофокусировка лазерного излучения при переходе Фредерикса.
3. В. И. Белинчикер, В. К. Малиновский, В. И. Стурман. Новый класс фотогальванических эффектов в твердых телах.

25 марта

4. А. М. Балдин. Спиновые эффекты в инклюзивных процессах и кварковая плазма.

5. Э. В. Шуряк. Кварк-глюонная плазма.
Краткое содержание трех докладов публикуется ниже.

[539.199 + 621.378.325](048)

Ю. Е. Нестерихин, С. Г. Раутиан, М. И. Штокман. Селективное лазерное воздействие на макромолекулы. Исследования селективного взаимодействия лазерного излучения с макромолекулами ведутся в институте автоматики и электрометрии СО АН СССР с 1978 г. В 1979 г. было опубликовано сообщение^{1,2} об обнаружении явления нелинейного лазерного разрезания (НЛР) ДНК — расщепления двувитевых молекул ДНК на более короткие фрагменты при лазерном облучении. На базе этого явления были предсказаны и обнаружены новые кинетические эффекты: светоиндуцированная диффузия (СИД) ДНК³ и лазерный электрофорез (ЛЭФ) ДНК⁴. Обсуждаются также приложения явлений указанного круга как уже экспериментально подтвержденные, так и перспективные теоретически.

Проблема селективности взаимодействия лазерного излучения с макромолекулами (ДНК, белками и т. п.) весьма интересна в плане оптики, физики этих молекул и биофизики. Вместе с тем, селективные оптические методы представляются перспективными для приложений в биохимии и молекулярной биологии. Может рассматриваться селективность как по типам молекул (межмолекулярная), так и по месту внутри молекулы (внутримолекулярная). Трудность обеспечения селективности обусловлена тем, что спектры поглощения макромолекул, например ДНК и белков, в растворах широки и сильно перекрываются; также велико перекрытие спектров различных мономерных остатков в макромолекуле.

Общий подход к получению селективности был предложен в работах^{1,2,5}. Его идея заключается в использовании примесного центра — молекулы красителя, связанной с макромолекулой, например, ковалентно или водородными связями и т. п. Достаточно длинноволновое, например мягкое УФ, излучение макромолекулой непосредственно не поглощается, а красителем поглощается квазирезонансно. При лазерном

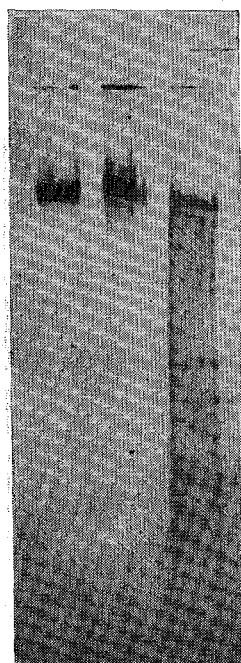


Рис. 1. Результат гель-электрофореза ДНК из фага T7^{1,2}.

Доза облучения 60 Дж/см². Дорожки (справа налево): первая — интенсивность света $I \approx 200$ МВт/см², вторая — $I \approx 0,1$ МВт/см²; третья — $I \approx 200$ МВт/см² в отсутствие красителя.

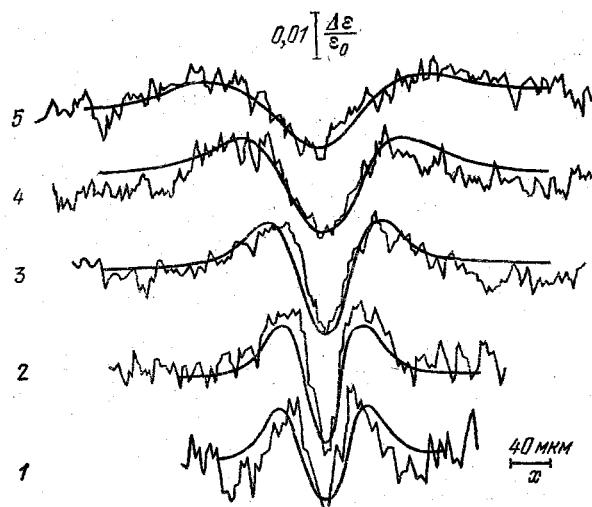


Рис. 2. Серия пространственных зависимостей оптической плотности ($\lambda = 256$ нм) ДНК при СИД. Гладкие кривые — теоретические. Поле — 2 В/см. Зависимости 1—5 зарегистрированы при временах 2, 5, 10, 30 и 65 мин после конца лазерного облучения длительностью 3 миц.

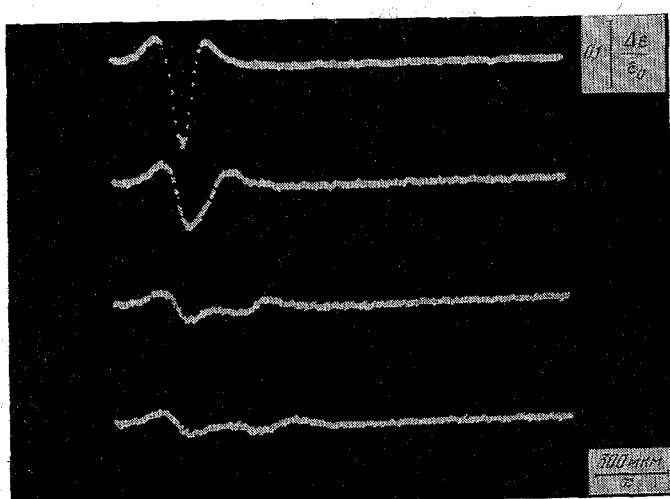


Рис. 3. Пространственные зависимости оптической плотности при ЛЭФ смеси ДНК из фагов T7 и λ (поле — 2 В/см).

Кривые (сверху вниз) зарегистрированы при временах 0, 2, 4 и 6 миц после конца облучения.

облучении с интенсивностью $\sim 100 \text{ МВт}/\text{см}^2$ (в импульсе) молекула красителя ступенчато поглощает два кванта света и переходит в высшее синглетное состояние с энергией возбуждения 6—8 эВ, соответствующей жесткой УФ или ВУФ области. Далее безрадиационным квазирезонансным переходом эта энергия переносится на макромолекулу в радиусе $\sim 5 \text{ \AA}$ вокруг молекулы красителя⁵. Диффузия возбуждения в случае ДНК не деллокализует его сильно⁶. Укажем, что близкий подход, также использующий молекулу красителя в качестве селективного и нелинейно-оптического элемента, одновременно с^{1,2} предложен группой итальянских исследователей⁷.

Наиболее просто обеспечивается межмолекулярная селективность. В частности, краситель 8-метоксисорален (8-МОП), использованный в¹⁻⁴, избирательно связывается с ДНК, но не с РНК и не с белками⁸. Посадка (адресация) красителя на заданное место внутри молекулы ДНК также возможна. Для этого можно, например, использовать метод комплементарной адресации⁹, основанный на селективности водородных связей Уотсона — Крика. Возможны и другие подходы к адресации красителя^{5,6}.

Переданной макромолекуле энергии 6—8 эВ достаточно для эффективной модификации, в частности для разрыва связей. Выделенными с точки зрения физических свойств являются разрывы цепи макромолекулы, приводящие к ее фрагментации. Действительно, такие разрывы сильно изменяют коэффициенты диффузии и электрофоретические подвижности молекул, в то время как другие повреждения на эти характеристики существенно не влияют. Теория предсказывает сильную зависимость вероятности разрезания от параметров облучения². В эксперименте фрагментация ДНК (явление НЛР) было обнаружено методом гельэлектрофореза (рис. 1^{1,2}). Длинная полоса на рис. 1, отсутствующая в контроле, обусловлена короткими молекулами, образовавшимися при НЛР, которые имеют в геле большую подвижность.

Если НЛР произвести в ограниченном объеме раствора, то при этом будет наблюдаться пространственное перераспределение плотности ДНК. Его причиной является то, что разрезанные молекулы, имеющие большие значения коэффициента диффузии, покидают облученный объем быстрее, чем целые молекулы из соседних областей успевают туда проникнуть. В результате в облученном объеме возникает провал плотности ДНК, а в соседних областях — ее повышение (эффект СИД ДНК^{3,4}). Эта структура видна на рис. 2⁴; она хорошо согласуется с теорией⁶. Из подобного эксперимента можно очень точно определить коэффициент диффузии исходных молекул ДНК, зависимость коэффициента диффузии от длины молекулы, а также квантовый выход разрывов (ср.^{4,6,10}). Температурные эффекты и стрикционные силы как причина СИД ДНК были исключены путем проведения контрольного эксперимента с заменой красителя³.

При наложении на раствор электрического поля в ходе указанного выше эксперимента электрофоретический дрейф приводит к разделению разрезанных и целых молекул, что выражается в характерном пространственном распределении оптической плотности ДНК (эффект ЛЭФ^{4,6}). В случае полидисперсного исходного раствора провал оптической плотности расщепляется на компоненты, число которых равно количеству сортов ДНК в растворе (рис. 3⁴, два сорта ДНК). Эффект ЛЭФ может использоваться для анализа смесей ДНК. При сравнимом разрешении он обеспечивает сокращение времени измерения на два порядка по сравнению с обычно применяемым гель-электрофорезом, требующим часов или десятков часов.

Селективность НЛР может быть использована для разрезания ДНК (или РНК) в заданном месте (по методу комплементарной адресации) в процессе получения рекомбинантной ДНК. Другое возможное применение — воздействие на ядро живой клетки с целью направленного мутагенеза, для изучения радиационной чувствительности и т. п.

Разрезание внутривирусной ДНК (РНК) приведет к инактивации вирусов при неизменной их белковой оболочке, что требуется для производства эффективных вакцин. Селективность НЛР внутривирусной ДНК уже использовалась для исследования ее упаковки¹¹. НЛР белков может, в принципе, использоваться для исследования структуры активных центров ферментов. Авторы благодарны Д. Г. Кнорре за стимулирующие обсуждения.

ЛИТЕРАТУРА

- Штокман М. И., Пархоменко А. И.— В кн.: Труды 6-й Вавиловской конференции по нелинейной оптике. Новосибирск, 1979.— Ч. 2, с. 85.
- Пархоменко А. И., Раутлан С. Г., Штокман М. И.— ДАН СССР, 1980, т. 250, с. 225.
- Козинцов А. Л., Новожилов С. Ю., Соловьев В. Е., Штокман М. И.— Письма ЖЭТФ, 1980, т. 31, с. 606.
- Бенимецкая Л. З., Козинцов А. Л., Новожилов С. Ю., Штокман М. И.— В кн.: Труды 7-й Вавиловской конференции по нелинейной оптике. Новосибирск, 1981.

5. Stockmann M. I.—Phys. Lett. Ser. A, 1980, v. 76, p. 191.
6. Раутман С. Г., Штокман М. И.—Цит. в ⁴ сб.
7. Andreoni A., Sacchi C. A., Svelto O.—In: Chemical and Biochemical Applications of Lasers.—New York e. a.: Academic Press, 1979.
8. Hearst J. E.—Ann. Rev. Biophys. and Bioeng., 1981, v. 10, p. 69.
9. Бенимецкая Л. З., Герасимова Л. М., Гриневан Н. И., Карпова Г. Г.—Мол. биология, 1978, т. 12, с. 988.
10. Козионов А. Л., Новожилов С. Ю., Соловьев В. Е., Штокман М. И.—Автометрия, 1981, № 6, с. 73.
11. Шурдов М. А., Шишаев А. В., Садовский А. П., Кищенко Г. П.—Цит. в ⁴ сб.; Биофизика, 1982.