

§ 5.3. Методы ядерной физики

В качестве побочных выходов современной ядерной физики, пользующейся мощными пучками элементарных частиц — электронов, нейтронов и т. д. надо указать на рентгенографию, применяющую *синхротронное излучение*, и на *нейтронографию* кристаллических и растворенных биополимеров.

Магнитно-тормозное, или синхротронное, излучение (СИ) возникает при движении заряженных частиц, в частности, электронов в циклических ускорителях. В СИ происходит потеря энергии, затрачиваемой на ускорение частиц. СИ в рентгеновской области спектра имеет интенсивность на два порядка больше, чем современная рентгеновская трубка мощностью в 2 кВт. Применение специальной монохроматизации и коллимации позволяет повысить интенсивность рентгеновского СИ еще на два порядка, дальнейшее увеличение на 2—3 порядка достигается с помощью специальных накопителей. СИ характеризуется малой расходимостью пучка. Эти особенности позволяют воспользоваться СИ для рентгенографии быстро изменяющихся объектов.

Синхротронное излучение является весьма перспективным методом для исследования биологических процессов, связанных с конформационными и другими структурными превращениями на молекулярном и надмолекулярном уровнях.

Синхротронное излучение обеспечивает важные возможности рентгеновской спектроскопии. Рентгеновские кванты имеют энергию, как раз достаточную для ионизаций внутренних электронов в атомах. На краю поглощения рентгеновских лучей наблюдается тонкая структура полосы поглощения. Эта структура есть результат отражения сферической волны, испускаемой первичным поглотителем (скажем, тяжелым атомом, расположенным в центре молекулы), от окружающих атомов и интерференции с рассеянными ими волнами. С помощью такого метода, именуемого EXAFS (Extended X-ray Absorption Fine Structure), удалось, например, получить ценную информацию о структуре *нитрогеназы* — белка, содержащего атомы молибдена.

Микрочастицы испытывают дифракцию, если длина де-Бройлевской волны

$$\lambda = h/mv, \quad (5.2)$$

где h — постоянная Планка, m — масса частицы и v — ее скорость, имеет тот же порядок величины, что и расстояние между деталями объекта.

Разнообразные применения нашла нейтронография.

Пучок нейтронов из атомного реактора подвергается монохроматизации отражением от кристаллической пластинки (например, CaF_2). Дифрагирующие нейтроны регистрируются счетчиками. Нейтроны рассеиваются не электронной оболочкой атома, но его ядром, и атомный фактор рассеяния определяется протонно-нейтроновой структурой ядра, а не атомным номером. Поэтому атомные факторы изотопов существенно различаются. Атом-

ный фактор для водорода, т. е. для протона, далеко не минимален. Поэтому, в отличие от рентгенографии, нейтронография позволяет надежно локализовать атомы водорода. Так, например, с помощью нейтронографии была установлена детальная структура льда — показано, что каждый атом H, образующий ковалентную и водородную связи



может иметь два положения — указанное и такое:



Иными словами, протон может находиться как у «своего», так и у «чужого» кислорода. Водородная связь в воде характеризуется перескоками протонов между двумя эквивалентными минимумами. Нейтронография успешно применялась в исследованиях биополимеров. Что касается диффузного рассеяния нейтронов растворами биополимеров, то оно дает результаты, существенно дополняющие получаемые при рассеянии рентгеновских лучей. Меняя долю тяжелой воды в водном растворе биологического объекта, можно варьировать суммарную амплитуду рассеяния нейтронов. При этом выявляется избирательное рассеяние различных функциональных групп. Удалось, в частности, исследовать природу комплексообразования белка и ДНК в хроматине.

Специфическим методом структурных исследований биополимеров является *γ-резонансная спектроскопия*, основанная на эффекте Мессбауэра. Эффект состоит в резонансном поглощении атомным ядром монохроматического γ -излучения, испускаемого радиоактивным атомом. Во всех природных соединениях железа содержится 2,2% изотопа ^{57}Fe . Это дает возможность изучать Fe-содержащие белки (гемоглобин, миоглобин, цитохромы и т. д.) методом γ -резонанса. Образец подвергается действию γ -лучей, испускаемых радиоактивным ^{57}Fe (получаемым из ^{57}Co). Если сообщить источнику небольшую скорость движения относительно поглотителя, т. е. исследуемого образца, вдоль оси, соединяющей источник и образец, то частота γ -кванта немного изменится вследствие эффекта Доплера. При некотором значении собственной частоты ядра ^{57}Fe образца будут поглощаться γ -кванты резонансно, переходя из основного в возбужденное состояние. Резонансная частота ядра ^{57}Fe в геме и в других Fe-содержащих группах весьма чувствительна к воздействию соседних атомов и групп. Это позволяет получать информацию об электронной структуре Fe-содержащих атомных групп в различных их состояниях в белках. Эффект может быть усилен обогащением биополимера изотопом ^{57}Fe . Для этой цели увеличивается содержание этого изотопа в пище подопытных животных, являющихся источником соответствующих веществ. Наряду с гемсодержащими белками методом γ -резонансной спектроскопии эффективно изучаются железосерные белки (ферредоксин, рубредоксин и т. д.), а также механизмы химических реакций с участием железосо-

державших биополимеров. Можно использовать для структурных определений γ -излучающие изотопы в качестве меченых атомов и эффект Мёссбауэра как анализатор.

Наряду с абсорбционными γ -резонансными спектрами изучаются и эмиссионные. В этом случае источник содержит атомные ядра, материнские по отношению к мёссбауэровским. Эмиссионным методом изучено строение ряда порфириновых соединений кобальта — витамин В₁₂ и др. Чувствительность эмиссионного метода очень велика, с его помощью удается следить за быстропротекающими биологическими процессами.

Изучение белков, меченых ^{57}Fe , посредством этого метода показало, что подвижность их составных частей отлична от подвижности молекул в обычных кристаллах и жидкостях. О том же свидетельствуют исследования *рэлеевского рассеяния мёссбауэровского излучения* (Гольданский). Конформационная подвижность в белках сохраняется и при низких температурах.

Перспективы применения γ -резонансной спектроскопии связаны, во-первых, с созданием «мёссбауэрографии», т. е. рентгенографии на излучении мёссбауэровских ядер. Во-вторых, началась разработка γ -лазеров, что в принципе обещает возможность голографии на молекулярном уровне.

§ 5.4. Электронные спектры поглощения

В конечном счете все оптические и спектроскопические свойства молекул, дающие важнейшую информацию об их строении, определяются расстояниями между энергетическими уровнями молекулы и вероятностями перехода между ними. Эти уровни отвечают различным электронным, колебательным и вращательным состояниям молекул.

Электронные переходы полипептидных и полинуклеотидных цепей и, тем самым, белков и нуклеиновых кислот расположены в ультрафиолетовой области спектра. Полосы поглощения пептидной связи $-\text{CO}-\text{NH}-$ лежат в области 185—240 нм, здесь же и в более коротковолновой области расположены полосы алифатических боковых цепей аминокислотных остатков. Аромагические остатки Трп, Фен, Тир имеют полосы поглощения в области 280 нм. Азотистые основания в нуклеиновых кислотах поглощают свет в области 260 нм. Таким образом, белки и нуклеиновые кислоты бесцветны, они не поглощают видимый свет.

Это вполне согласуется с диэлектрической природой биополимеров и делает мало правдоподобными утверждения об их электронной проводимости. Мы уже говорили о том, что для свободного перемещения электронов вдоль полимерной цепи она должна быть жесткой сопряженной системой, состоящей из чередующихся двойных и единичных связей или из сопряженных ароматических циклов. Гибкость цепи несовместима с ее электропроводностью. Короткие сопряженные цепи окрашены (каротин — красный, см. с. 49), а достаточно длинные поглощают весь