

М. П. БУХМАН и С. Е. МАНОЙЛОВ

## ФОТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКА, АМИНОКИСЛОТ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА НИХ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМИ ЛУЧАМИ

(Представлено академиком С. И. Вавиловым 31 VIII 1949)

Применение молекулярной спектрографии для разрешения ряда биологических проблем за последнее время все более и более внедряется в практику различных лабораторий. Новые возможности этого метода для изучения химического состава и химических процессов, протекающих в клетках, возникли со времени применения для этих целей ультрафиолетового микроскопа, разработанного Е. М. Брумбергом<sup>(1)</sup>.

Уже первые работы<sup>(2, 3)</sup> на этом микроскопе указали на большую перспективность его применения при разрешении определенных биологических задач. Особенно убедительно это видно из работы Л. Ф. Ларионова и Е. М. Брумберга<sup>(3)</sup>. Оказывается, что у ядер клеток, подвергнутых действию ультрафиолетовых лучей, увеличивается способность поглощать лучи определенных длин волн в пределах от 2540 до 2800 Å. Усиление поглощения тканей при воздействии на них ультрафиолетовым светом можно трактовать различно.

В 1946 г. Е. М. Брумберг<sup>(2)</sup> наблюдал усиление поглощения ультрафиолетовых лучей различными участками фиксированных препаратов после их продолжительного облучения. Им было высказано предположение о возможности фотохимической реакции в клетке при освещении ее ультрафиолетовым светом в условиях фиксированного препарата. Авторы предлагаемой работы, исходя из этого же предположения, поставили перед собой задачу выяснить, какие белки или их составные части обуславливают изменение поглощения препаратов при их облучении ультрафиолетовыми лучами, наблюдаемое с помощью ультрафиолетового микроскопа\*. С этой целью были поставлены следующие опыты.

Кристаллические аминокислоты и белки, а также и химически чистые препараты нуклеиновых кислот в сухом виде помещались на кварцевые предметные стекла в каплю вазелинового масла и покрывались покровным стеклом. Фотографирование производилось в ультрафиолетовом микроскопе с зеркальным апохроматическим 40-кратным объективом (апертура 0,5). Источником света служила ртутно-кварцевая лампа ПРК-4 высокого давления. Рабочий ток 3,6 а.

\* Фотохимические опыты могут наиболее эффективно производиться с помощью ультрафиолетового микроскопа, так как в условиях микроскопа на точечном участке препарата, подвергающемся облучению, достигаются освещенности, трудно достижимые в других условиях.

Фотографирование препарата до и после его облучения производилось в трех длинах волн ультрафиолетовой области спектра (365, 313 и 280—254 м $\mu$ ). Линия 365 м $\mu$  выделялась при помощи светофальтра УФС-4, линия 313 м $\mu$  — раствором хромата калия и стеклом УФС-1, а область спектра 280—254 м $\mu$  — парами брома и хлора (4).

Экспозиция при фотографировании на диапозитивных пластинках была: для линии волны 365 м $\mu$  — 10 сек.; для 313 м $\mu$  — 30 сек. и для участка длин волн 280—254 м $\mu$  — 1 мин. Для исследования эффекта облучения изучаемые объекты освещались всем спектром источника света без светофильтров. В одних случаях они фотографировались до и после облучения в лучах трех длин волн, в других — только в лучах одной длины волны. Нами были засняты: кристаллический серум-альбумин, гистон, Na-соль тимонуклеиновой и рибонуклеиновой кислот, а также ряд аминокислот.

Оказалось, что кристаллический альбумин уже при 10-минутном облучении начинает поглощать длину волны 313 м $\mu$ . В связи с этим интересно было выяснить, за счет каких аминокислот обусловлено это поглощение.

В табл. 1 представлены данные поглощения некоторых белков и различных аминокислот в трех длинах волн до и после часового облучения.

Таблица 1\*

Препарат		$\lambda = 365 \text{ \AA}$	$\lambda = 313 \text{ \AA}$	$\lambda = 280-254 \text{ \AA}$	Препарат		$\lambda = 365 \text{ \AA}$	$\lambda = 313 \text{ \AA}$	$\lambda = 280-254 \text{ \AA}$
Аланин . . . .	до облуч.	—	—	—	Глутаминовая кислота	до облуч.	—	—	—
	после »	—	—	—		после »	—	—	—
Лейцин . . . .	до облуч.	—	—	—	Фенил-аланин	до облуч.	—	—	+
	после »	—	—	—		после »	±	+	+
Лизин хлор-гидрат . . . .	до облуч.	±	±	±	Тирозин . . . .	до облуч.	—	—	+
	после »	±	±	±		после »	—	—	+
Цистеин . . . .	до облуч.	—	—	—	Триптофан . . . .	до облуч.	—	—	+
	после »	±	±	±		после »	±	+	+
Аргинин . . . .	до облуч.	±	±	±	Альбумин яичный	до облуч.	—	—	+
	после »	±	±	±		после »	±	+	+
Гистидин . . . .	до облуч.	—	—	—	Гистон . . . .	до облуч.	+	+	+
	после »	—	—	—		после »	+	+	+

\* Знак — показывает на прозрачность объекта, ± слабое поглощение, + сильное поглощение.

В табл. 2 приведены результаты облучения нуклеиновых кислот и их составных азотистых компонентов.

На рис. 1 приводится выборочно ряд микрофотографий, полученных до и после облучения кристаллического альбумина, аминокислот и нуклеиновых кислот.

Как видно из табл. 1 и рис. 1, начиная уже с 10-минутного облучения кристаллический альбумин приобретает способность поглощать лучи с длиной волны 313 м $\mu$ , не поглощаемые им до облучения. Интенсивность поглощения увеличивается по мере удлинения срока облучения.

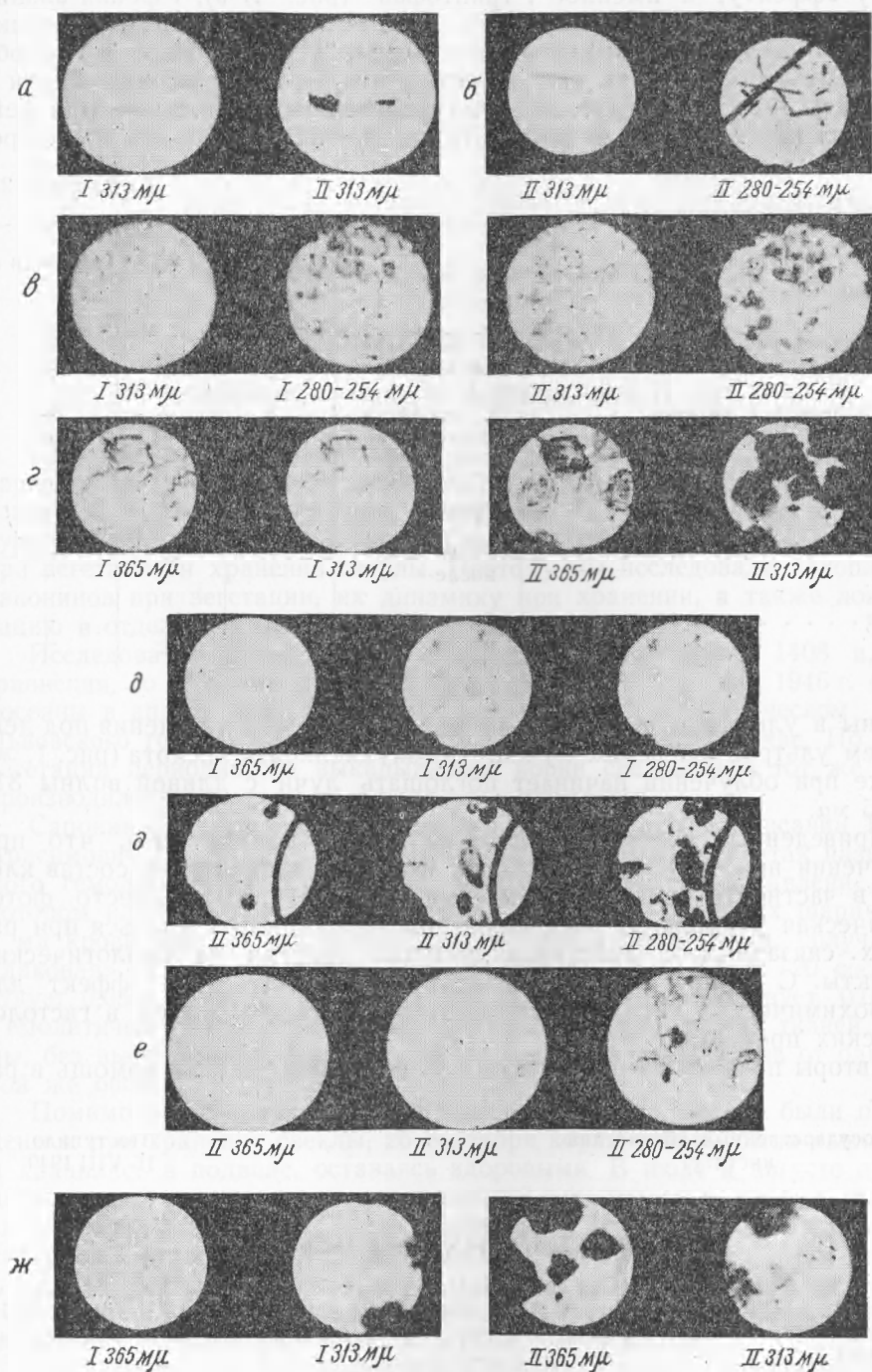


Рис. 1. Изменение поглощения при облучении. *I* — снимки до облучения, *II* — после облучения. *а* — альбумин, *б* — тирозин, *в* — триптофан, *г* — фенилаланин, *д* — цистеин, *е* — гистидин, *ж* — тимонуклеиновая кислота

При облучении составных частей белка — аминокислот выяснилось, что только часть аминокислот обладает способностью к фотохимическому эффекту, а именно: *l*-триптофан (рис. 1, *в*), *l*-фенил-аланин (рис. 1, *з*) и *l*-цистеин (рис. 1, *д*). При облучении цистеина наблюдаются выделения пузырьков газа ( $H_2S$ ). На этот факт мы особо обращаем внимание, так как известно, что серусодержащие белки и ферменты более подвержены денатурационным изменениям при действии на них лучистой энергии. Другие аминокислоты или вовсе про-

Таблица 2

Препарат		$\lambda = 335 \text{ м}\mu$	$\lambda = 313 \text{ м}\mu$	$\lambda = 280-254 \text{ м}\mu$
Тимонуклеиновая кислота . . . . .	до облуч.	—	±	+
	после »	±	+	+
Рибонуклеиновая кислота . . . . .	до облуч.	+	+	+
	после »	+	+	+
Аденин . . . . .	до облуч.	—	±	+
	после »	—	±	+
Гуанин . . . . .	до облуч.	—	±	+
	после »	—	+	+
Тимин . . . . .	до облуч.	±	±	+
	после »	±	±	+

зрачны в ультрафиолете либо не меняют своего поглощения под действием ультрафиолетовых лучей. Тимонуклеиновая кислота (рис. 1, *ж*) также при облучении начинает поглощать лучи с длиной волны 313 и 365 м $\mu$ .

Приведенный материал свидетельствует в пользу того, что при облучении некоторых органических веществ, входящих в состав клеток, в частности белков и нуклеиновых кислот, имеет место фотохимическая реакция. С этим моментом необходимо считаться при работах, связанных с действием лучистой энергии на биологические объекты. С другой стороны, можно использовать этот эффект для микрохимических определений некоторых веществ клеток в гистологических препаратах (2).

Авторы приносят благодарность Е. М. Брумбергу за помощь в работе.

Государственный оптический институт

Поступило 16 VIII 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Е. М. Брумберг. Изв. АН СССР, сер. физ., 6, 32 (1942). <sup>2</sup> Е. М. Брумберг, ДАН, 51, № 8 (1946). <sup>3</sup> Л. Ф. Ларионов и Е. М. Брумберг, ДАН, 54, № 3 (1947). <sup>4</sup> И. И. Брейдо и М. П. Бухман, Журн. Оптико-мех. пром., 22 (1946).