

**Спектроскопия комбинационного  
рассеяния света в замораживаемых  
биологических клетках и  
мембранах**

**Н.В. Суровцев**

**Институт автоматики и электрометрии**

**СО РАН**

Лаборатория «Спектроскопия конденсированных сред»  
Институт автоматки и электрометрии СО РАН

**Экспериментальные исследования  
конденсированных сред методами:  
Комбинационное рассеяния света и  
рассеяние Мандельштама-Бриллюэна  
(включая ГГц и ТГц диапазоны)**



*Неупругое рассеяние света  
как аналитический метод*

*Неупругое рассеяние света как  
«проба» динамического отклика*

**+ вспомогательные методики (спектры поглощения,  
калориметрия, диэлектрика, генерация второй гармоники)**

# Спектроскопия конденсированных сред

## Объекты исследований

жидкости  
стекла



проявление наноструктуры в динамическом отклике; описание колебательных и релаксационных спектров; явление стеклования

сегнетоэлектрические  
материалы



описание колебательных и релаксационных спектров; фазовый переход

фосфолипидные  
мембраны

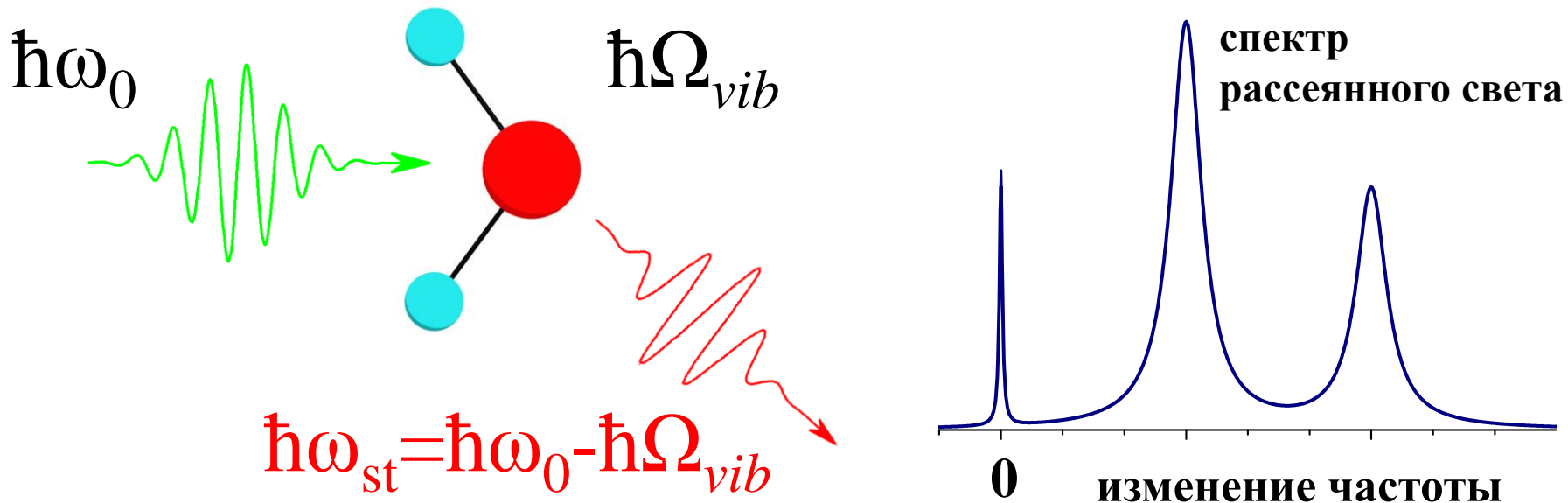
биологические  
клетки



При замораживании:  
- Фазовые переходы?  
- Явление стеклования?

Не «точить инструмент»,  
а применять его!

# Спектроскопия комбинационного рассеяния света (КРС)



- описание спектра КРС
- идентификация вещества, его фазового состояния

**Проблема больших молекул при детальной  
идентификации и при определении конформационного  
состояния**

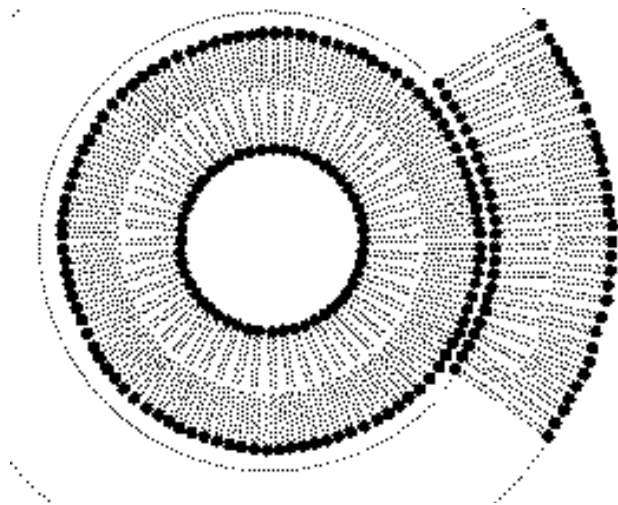
**Развитие новых методических приемов?**

# Фосфолипидные мембраны

При контакте с водой молекулы фосфолипида объединяются в **бислой** (мембрана)

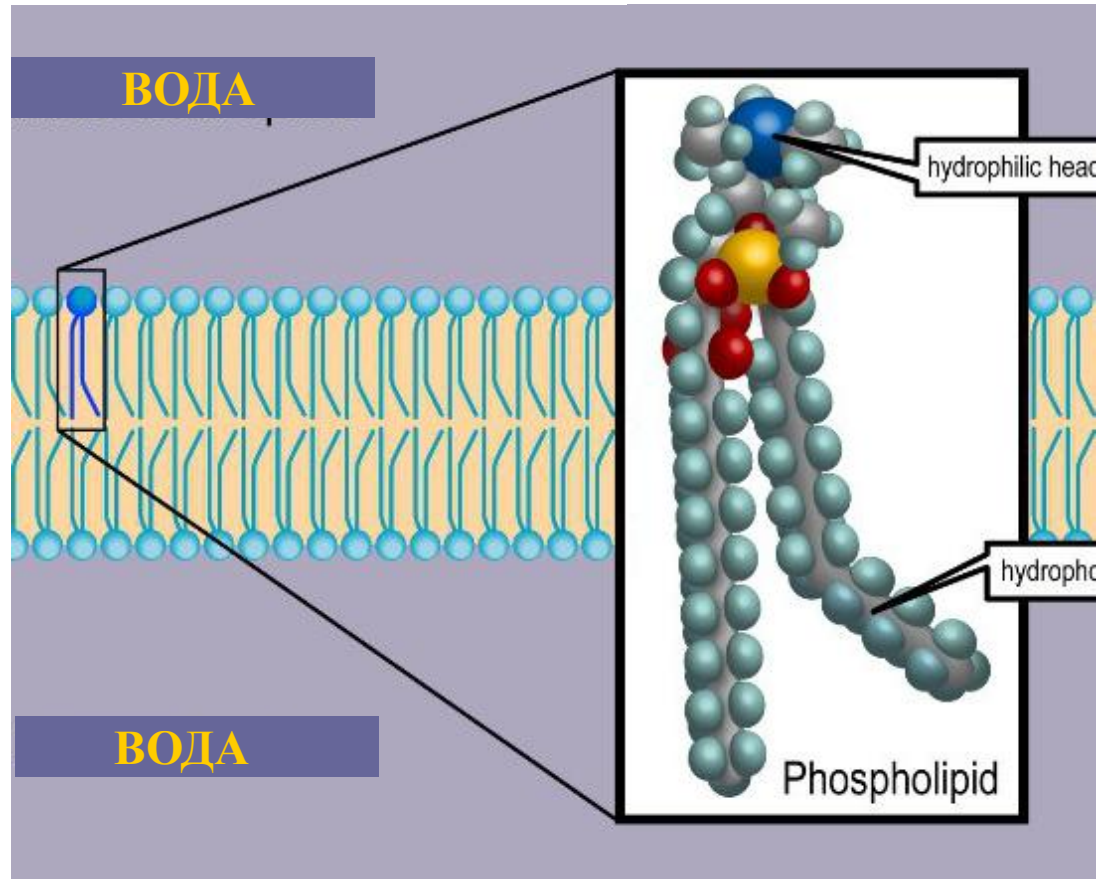
## Клеточные мембраны

исследования механизма  
воздействия различных веществ  
на мембраны клеток



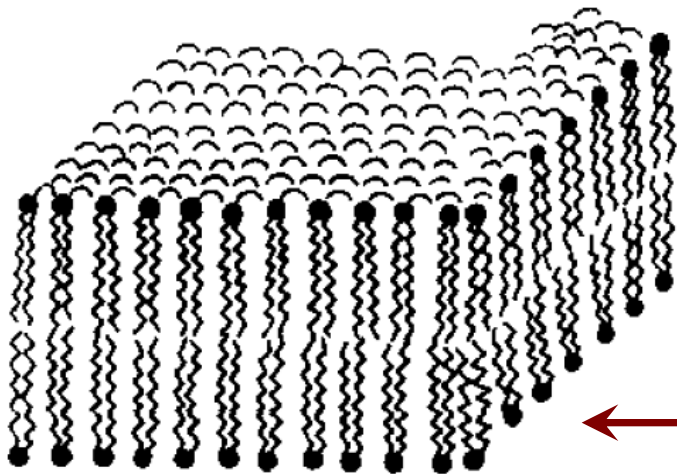
## Многослойные везикулы (липосомы)

контейнеры для лекарств, нанореакторы

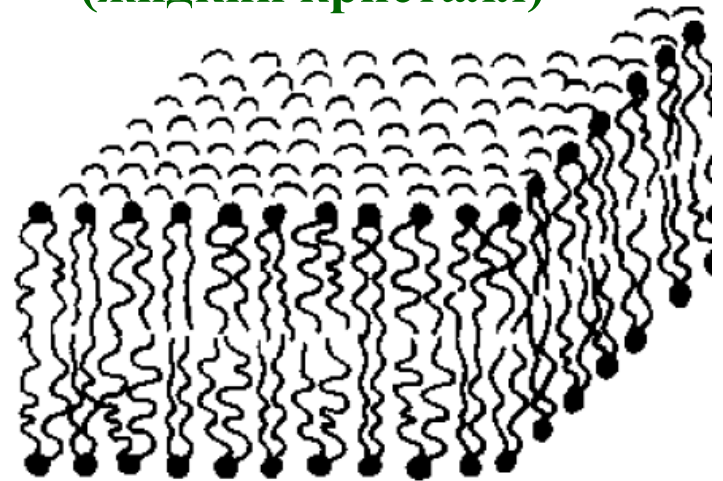


# Фазовый переход фосфолипидных мембран

гель



флюид  
(жидкий кристалл)

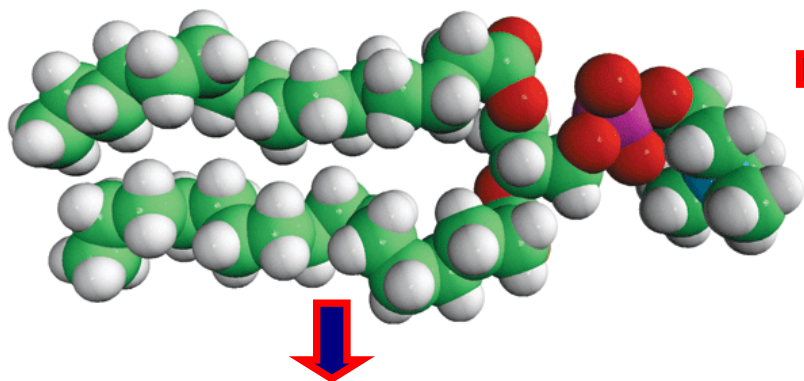


$T_m$

Как конформационные состояния неполярных хвостов  
меняются при изменении температуры ниже  $T_m$ ?

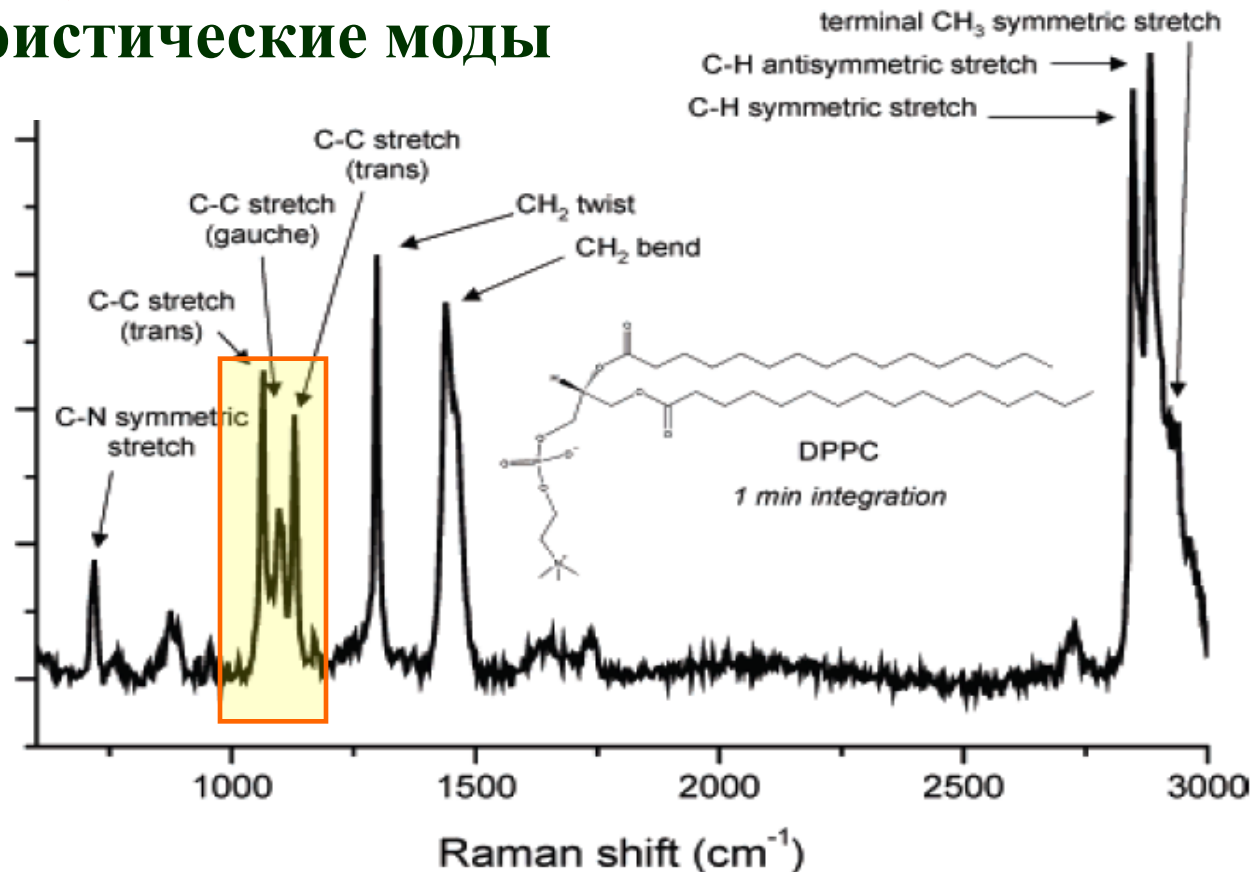
Можно ли на этот вопрос ответить  
с помощью спектроскопии КРС?

# Колебательная задача



➡  $3N-6$  колебаний ( $N = 130$ )  
распределение колебательных мод и их КР-интенсивность зависят от конформации

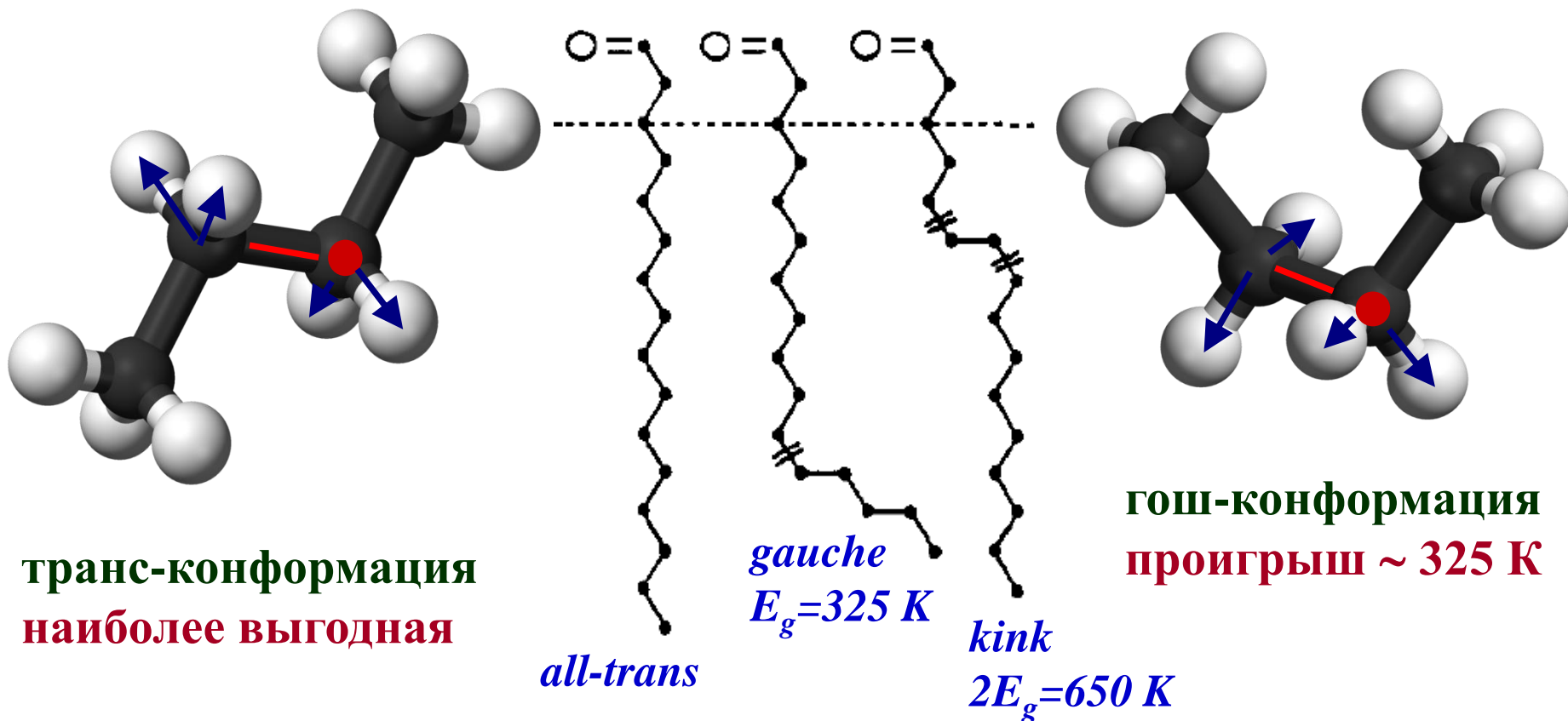
характеристические моды



C.B. Fox *et al*  
J.Phys.Chem.B  
2007

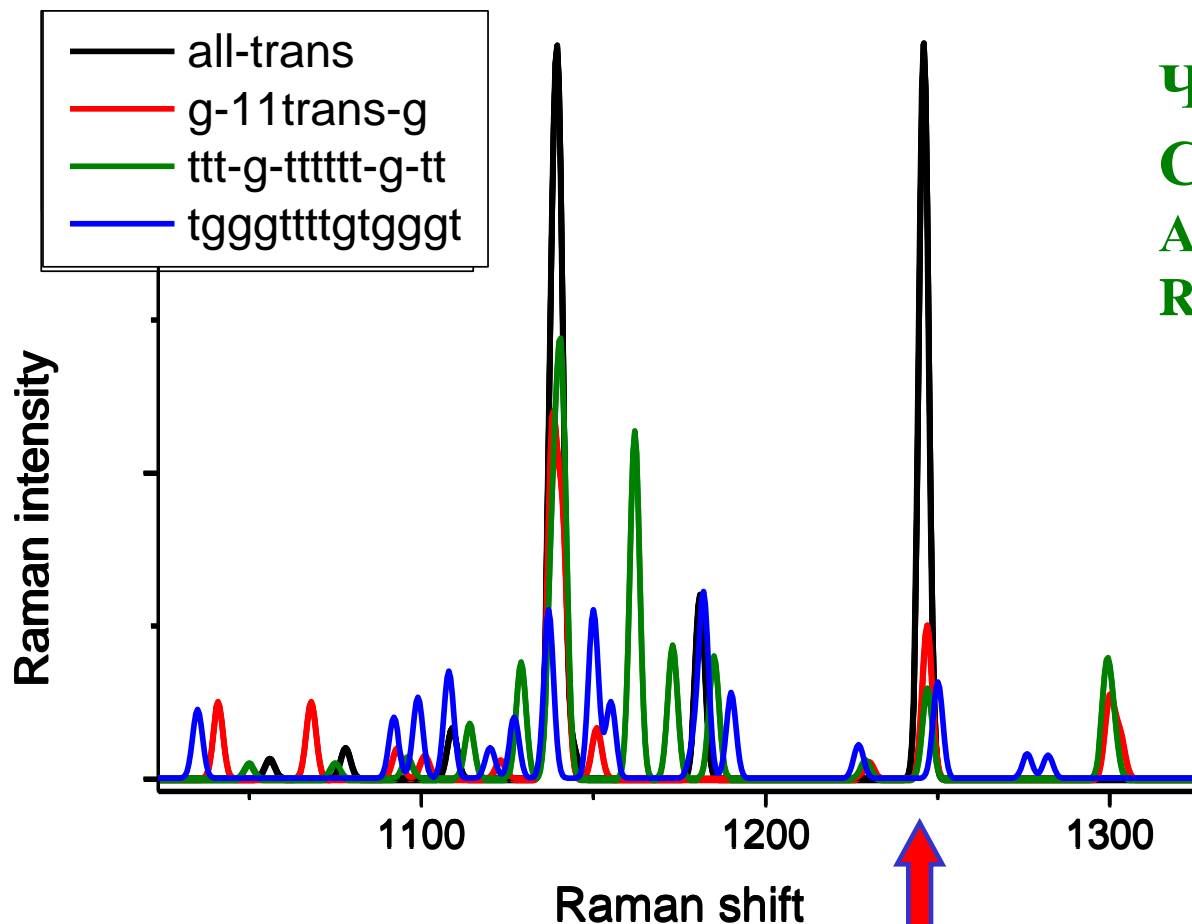
# «Дискретная» характеристика конформационного состояния

Есть наиболее выгодные взаимные ориентации мономеров углеводородной цепочки





# СС моды – зависимость от конформации



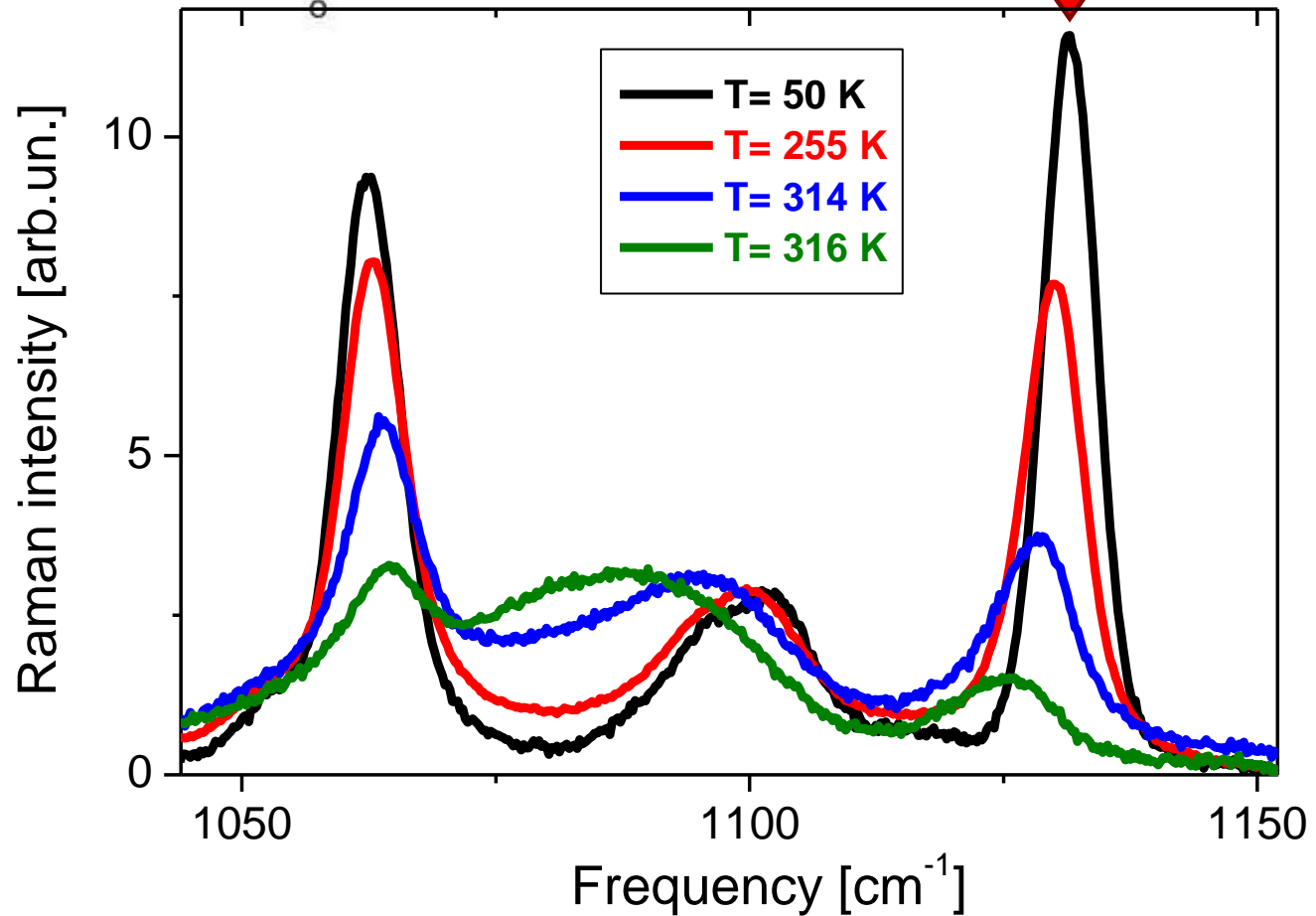
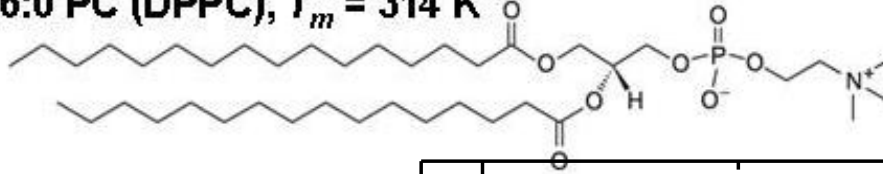
Численный счет для  
 $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$   
Адаптация из  
R.J. Meier // Polymer, 2002

Идея:

Интенсивность высокочастотной СС-моды отражает  
число молекул в «основном» состоянии

# спектры КРС С-С мод фосфолипидных мембран

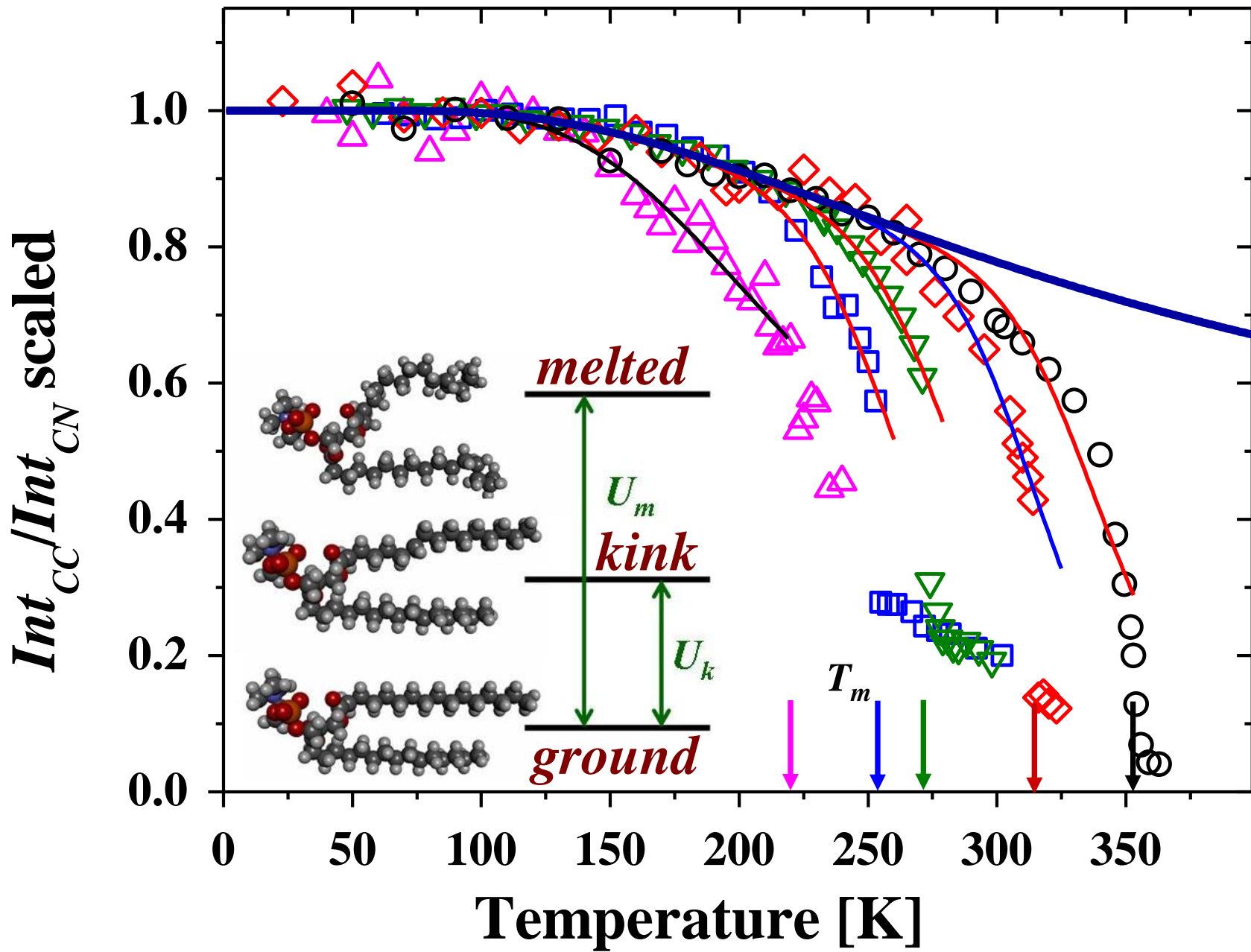
16:0 PC (DPPC),  $T_m = 314$  K



-Температурная зависимость

-Сравнение различных фосфолипидов

# Температурная зависимость интенсивности С-С моды



Использование идеи об основном конформационном состоянии как о состоянии с максимальным числом *trans* связей и эксклюзивным образом дающих

вклад в

КР-интенсивность высокочастотной СС моды

**ПОЗВОЛИЛО** описать

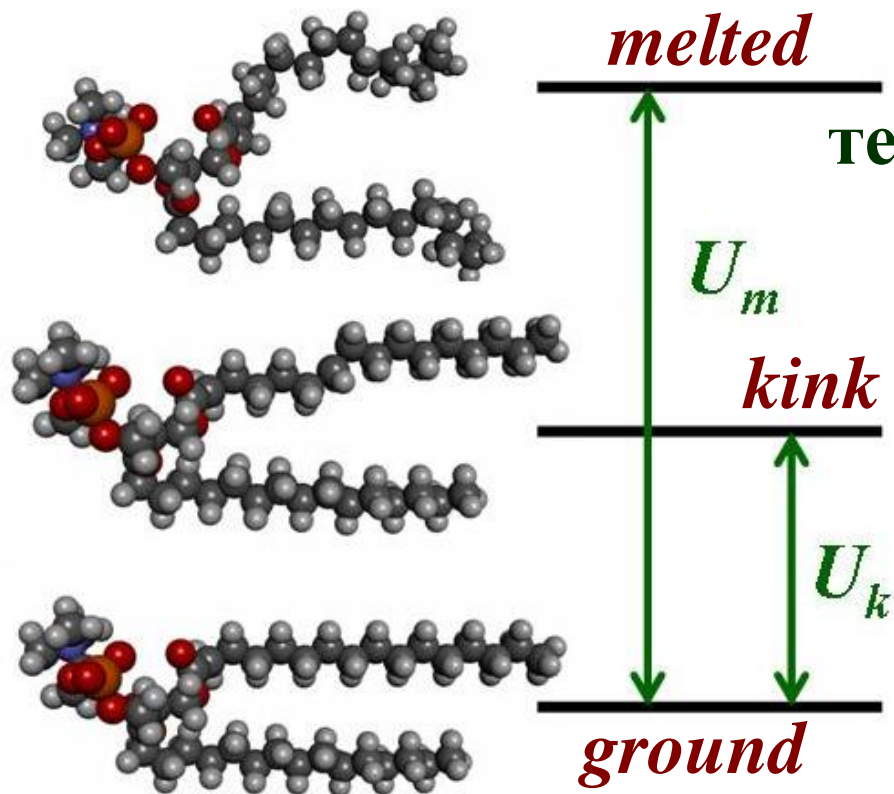
температурную зависимость

конформационных

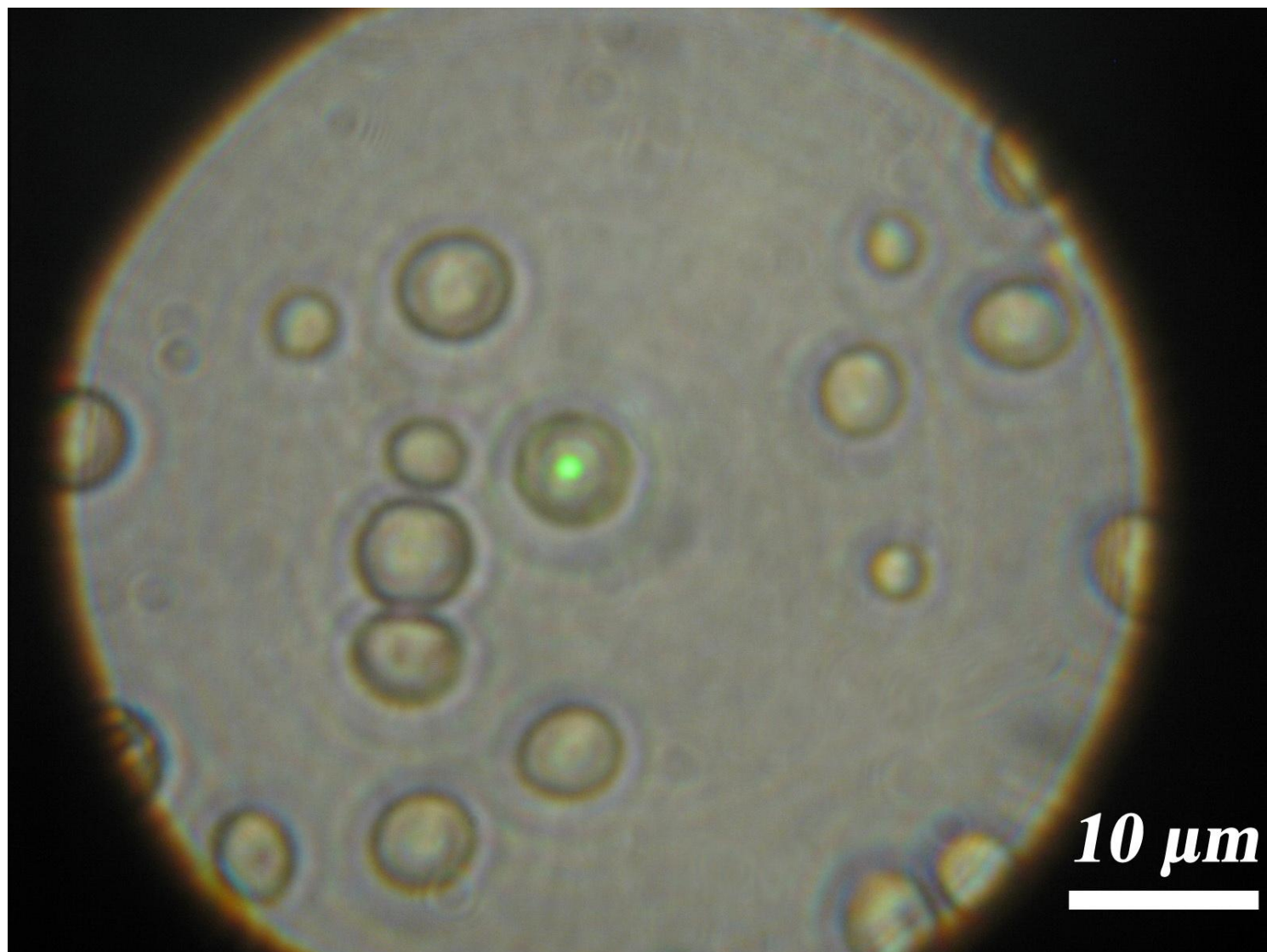
состояний неполярных

хвостов фосфолипидных

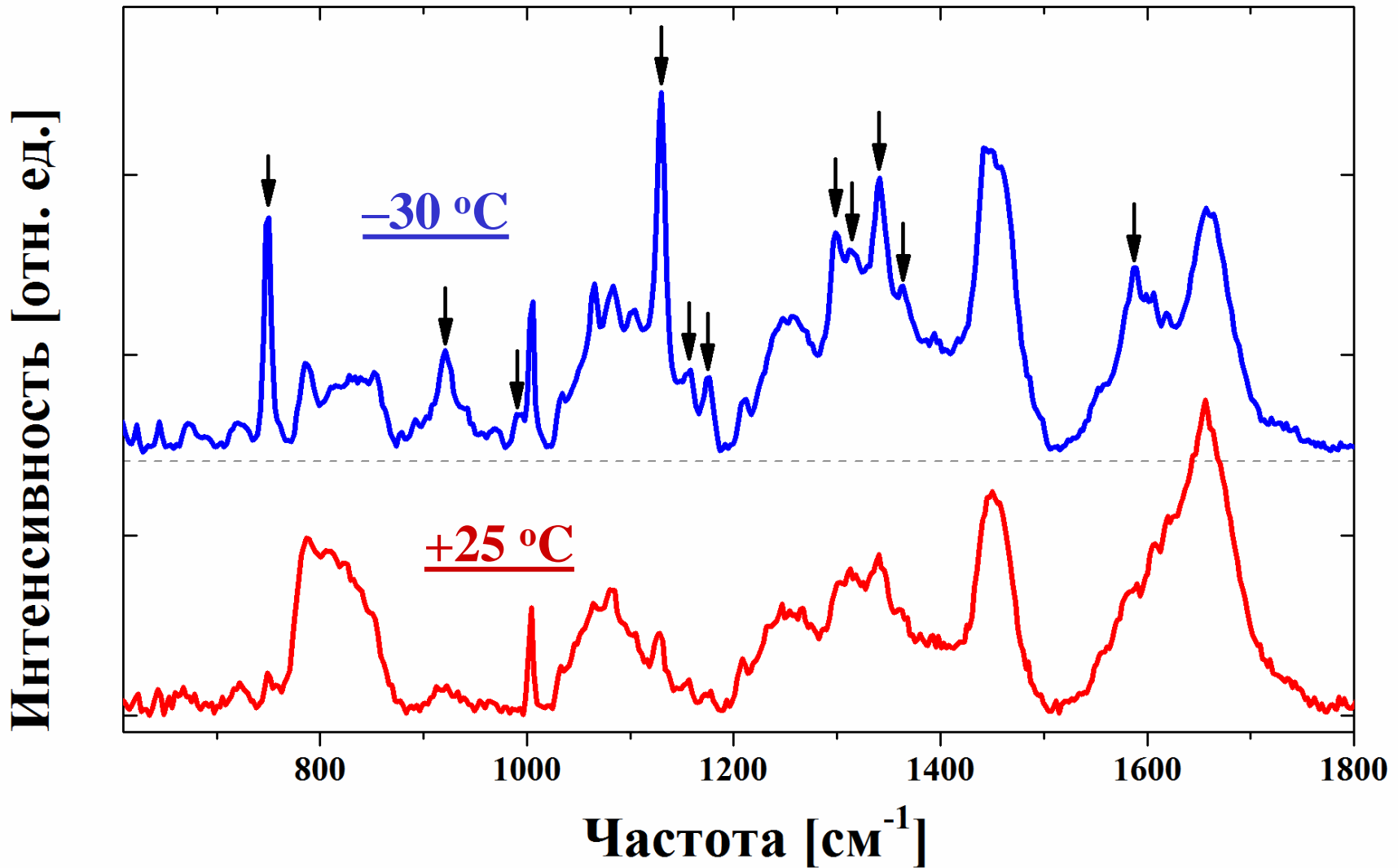
мембран



# Исследование дрожжевых клеток методом КРС

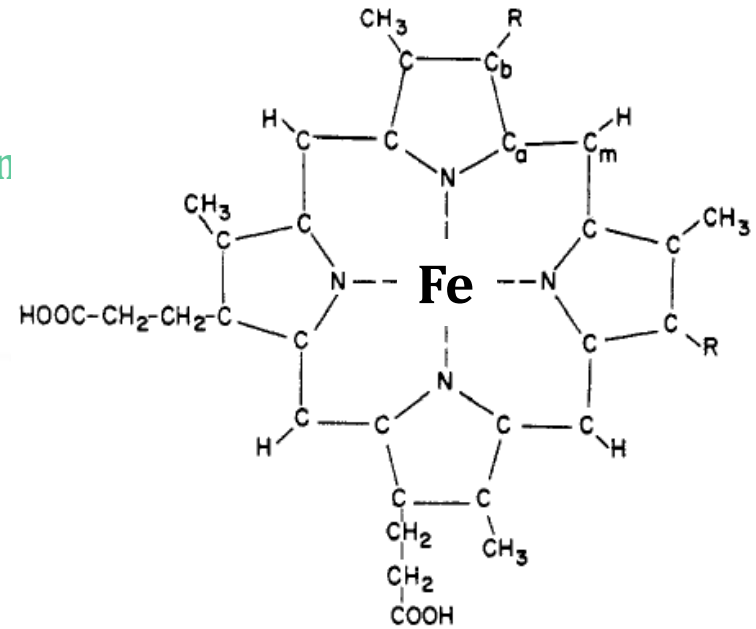
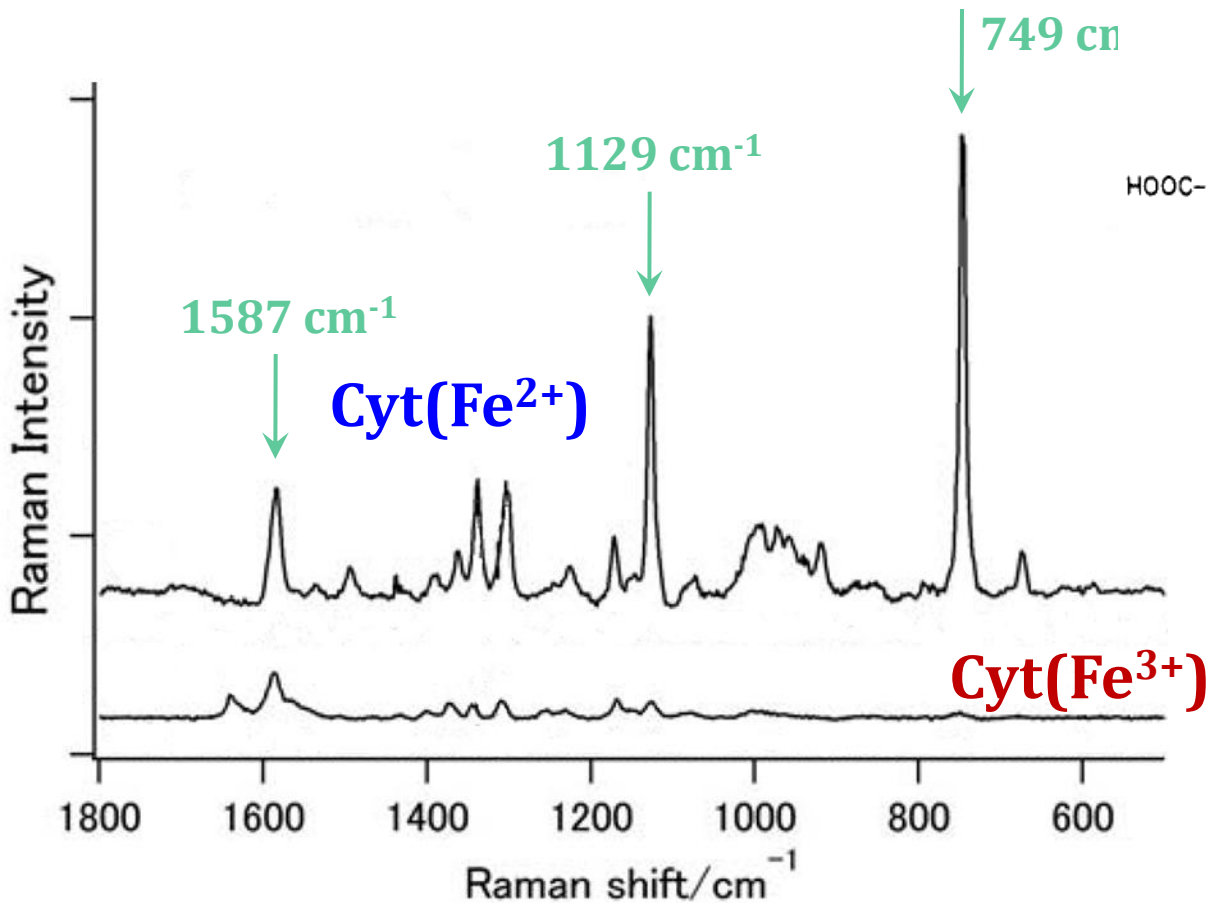


## Спектр КРС дрожжевой клетки



# Влияние зарядового состояния цитохромов на интенсивность КРС

Водный раствор цитохромов,  $\lambda_0=532$  nm



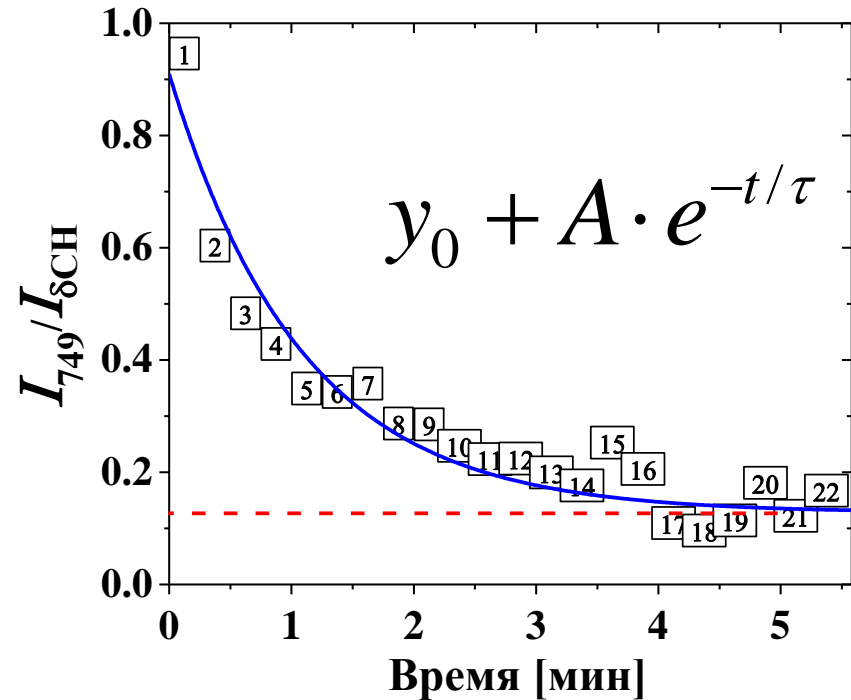
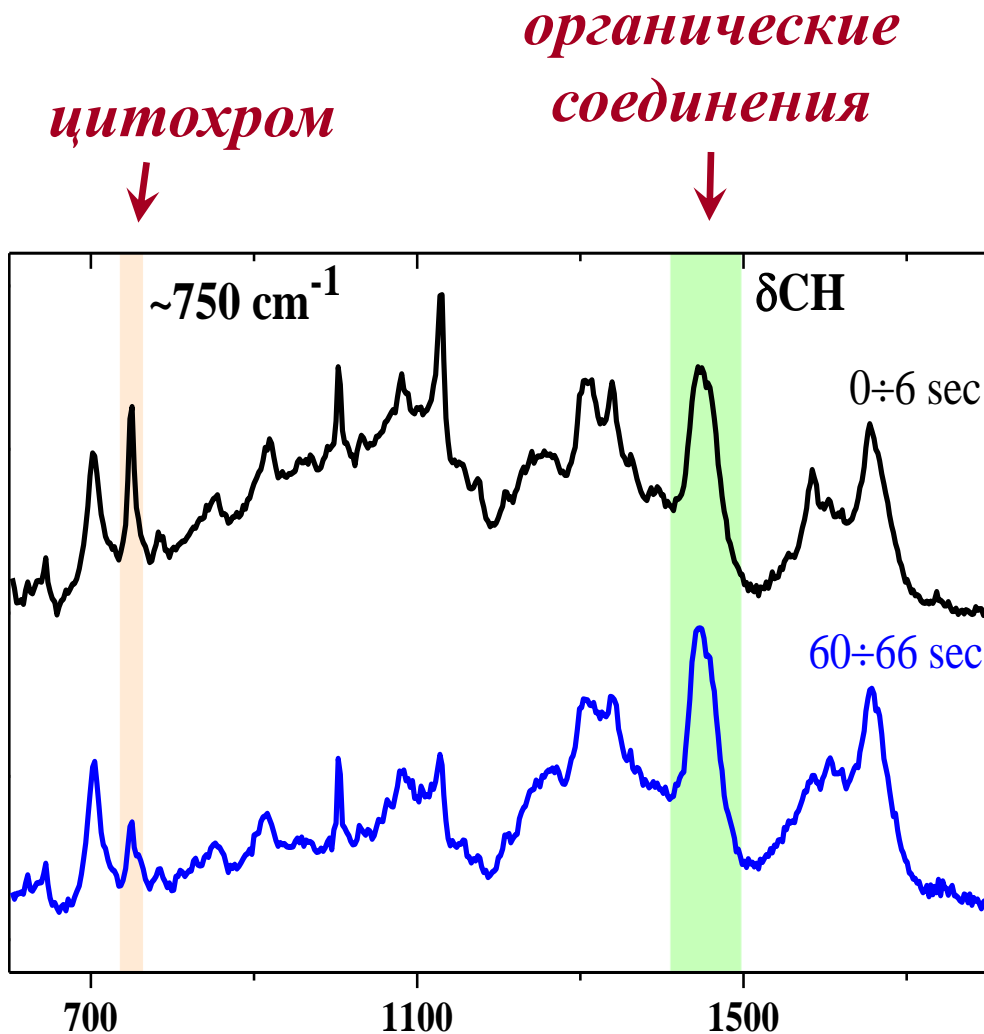
**Восстановленное состояние**

**Окисленное состояние**

[Kakita M et. al. J Biophotonics 5(1):20-24 (2012)]

[Spiro TG & Streckas TC, J Am Chem Soc 96: 338-345 (1974)]

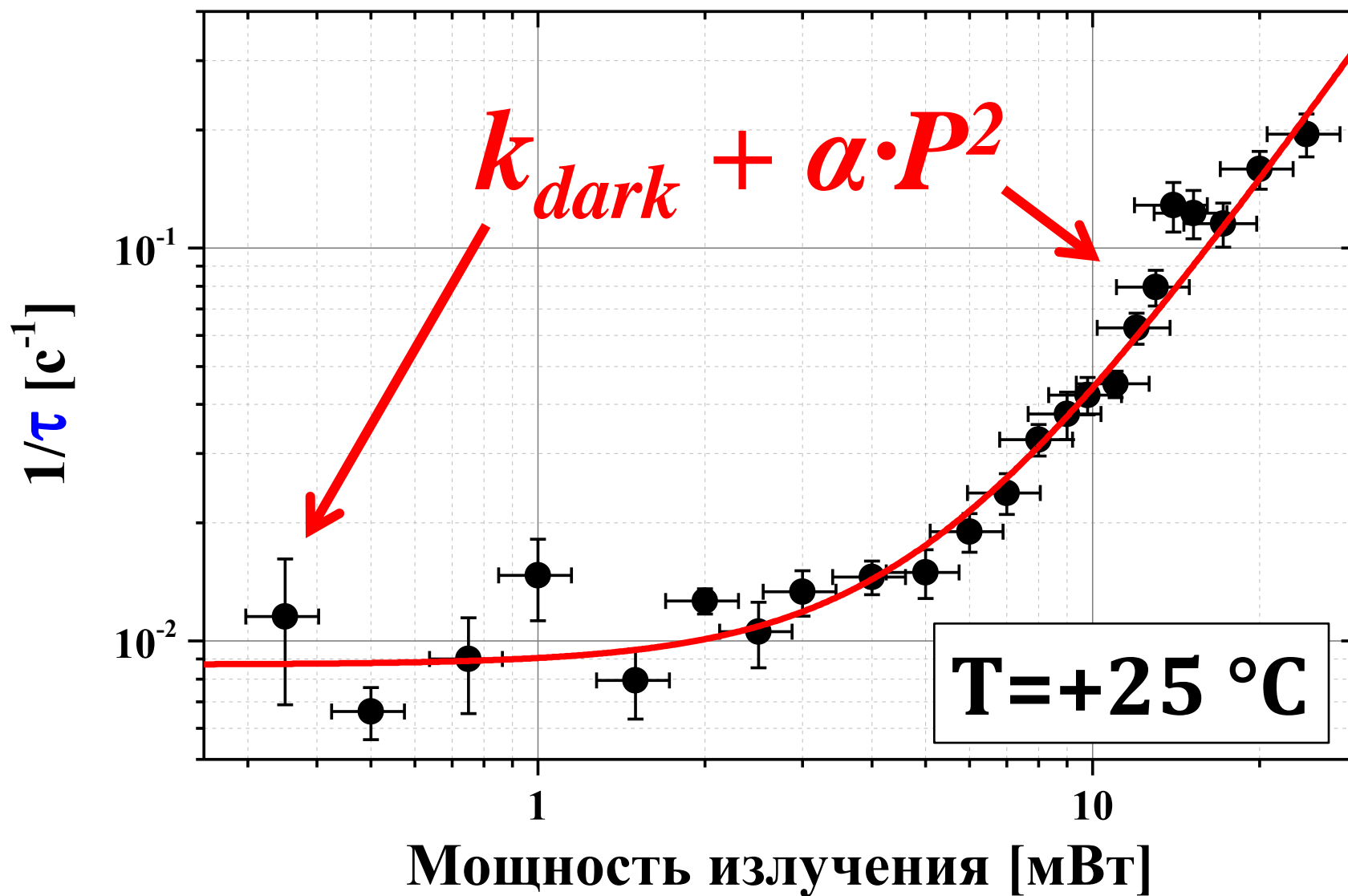
# Зависимость интенсивность резонансного КРС цитохрома в клетках дрожжей от времени облучения



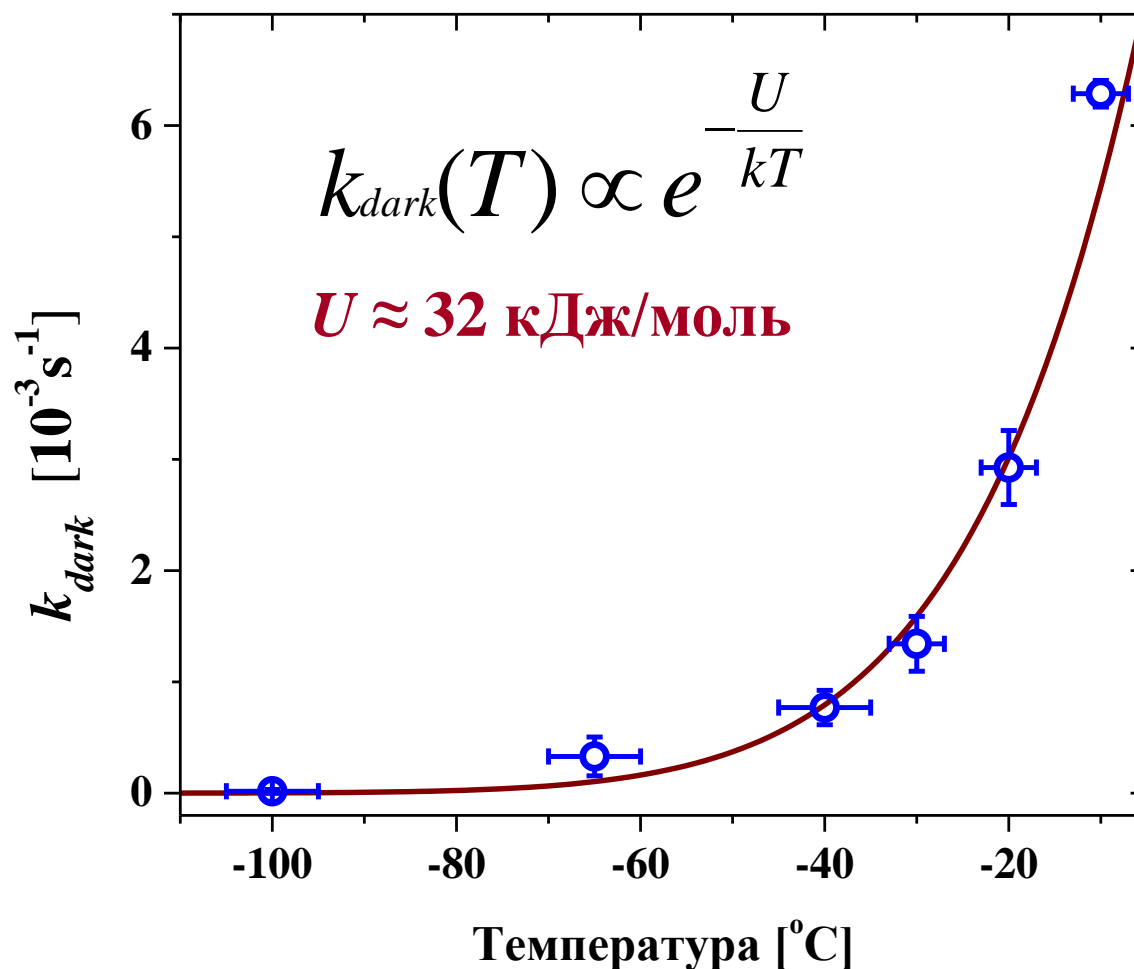
**интенсивность линий КРС  
цитохрома пропорциональна  
концентрации белка в  
восстановленном состоянии**



# Влияние мощности излучения на скорость фотовыцветания линий цитохрома



# Зависимость скорости окислительно-восстановительных реакций от температуры



Изучая температурную зависимость времени фотовыцветания, мы получаем информацию о скорости окислительно-восстановительных реакций в клетке

**Применение спектроскопии КРС для биологических объектов требует преодоления некоторых экспериментальных трудностей и развития методических приемов,**

**Но** спектроскопия КРС способна бесконтактным неразрушающим способом получить новую информацию о структуре объекта и биологических процессах, протекающих в нем.

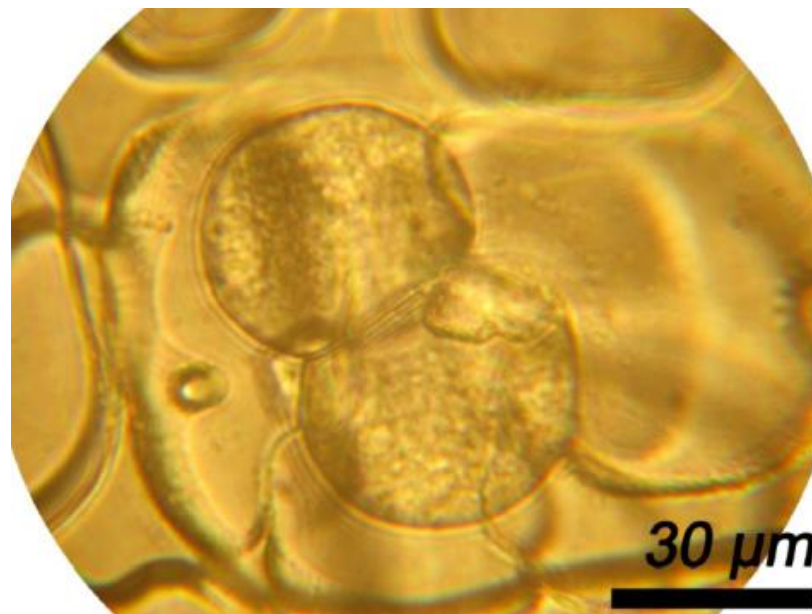
# Применение спектроскопии КРС для характеризации замораживаемых эмбрионов мыши

Совместно с Сектором криоконсервации и  
репродуктивных технологий ИЦиГ СО РАН

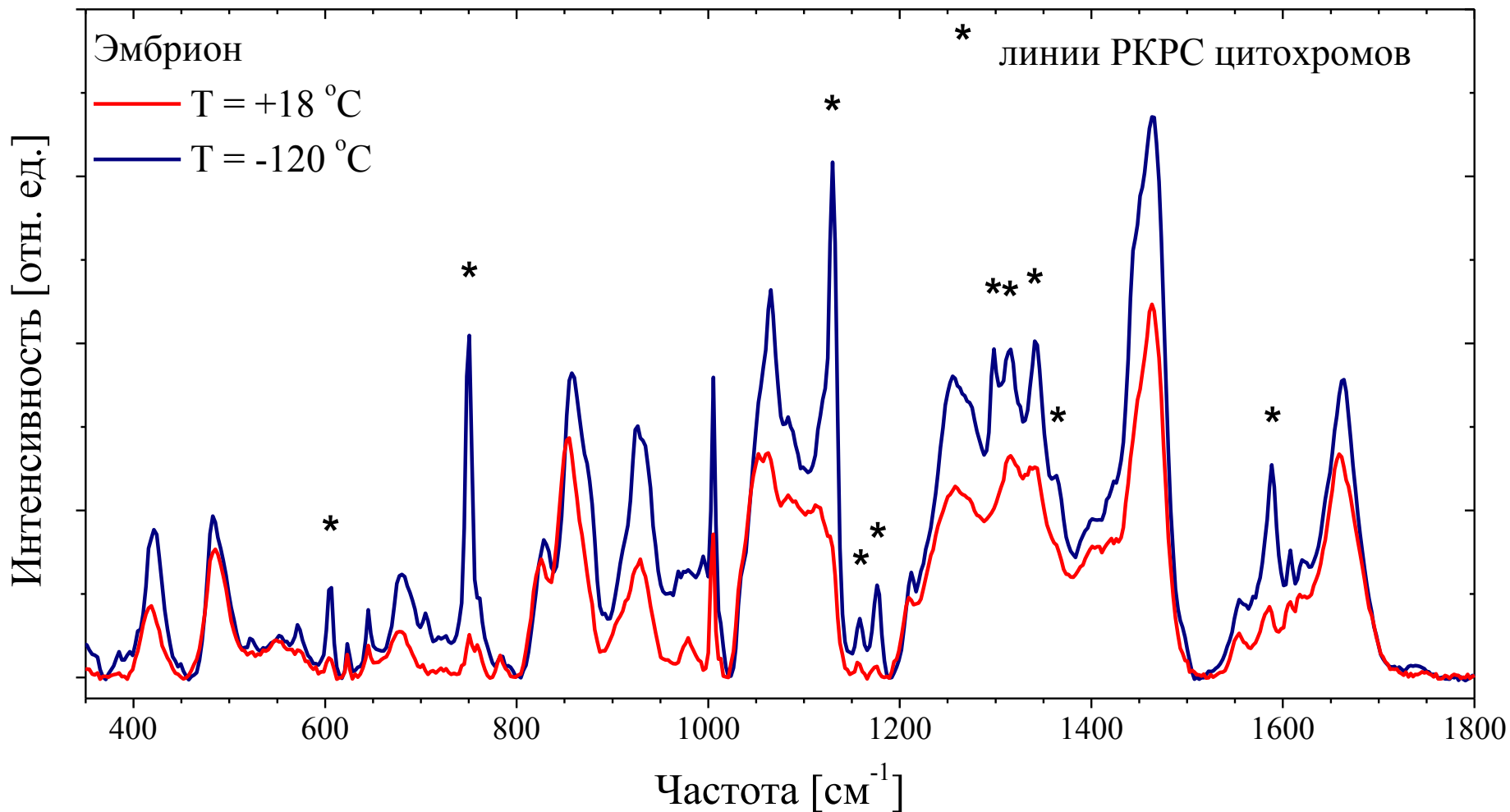
**T=+18 C**



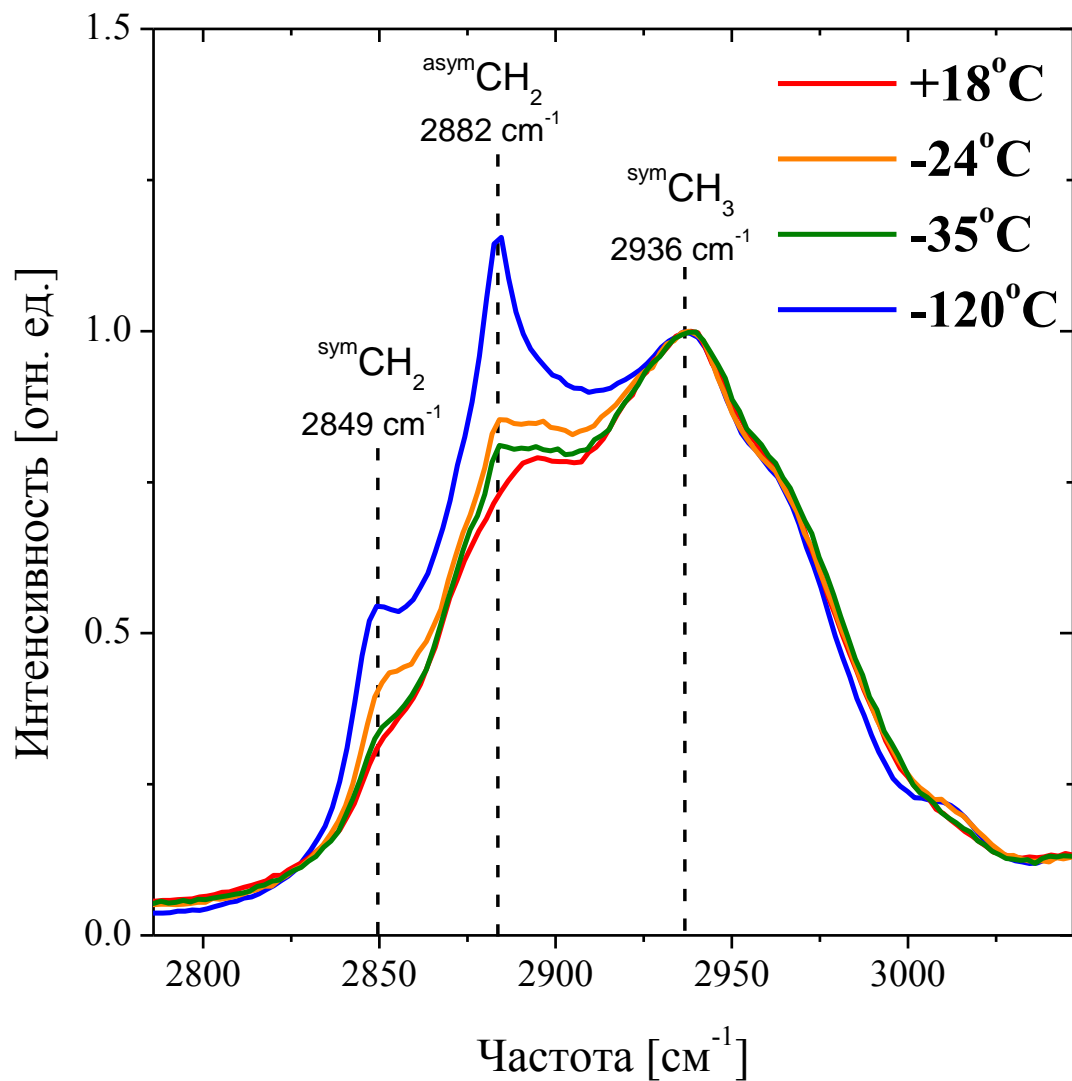
**T=-120 C**



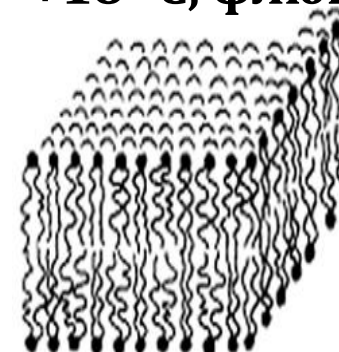
# Изменение зарядового состояния цитохромов в эмбрионах при изменении температуры



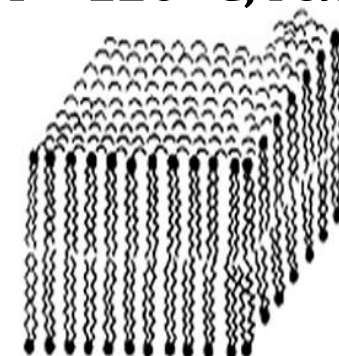
# Изменение фазового состояния мембранных структур в эмбрионах при изменении температуры

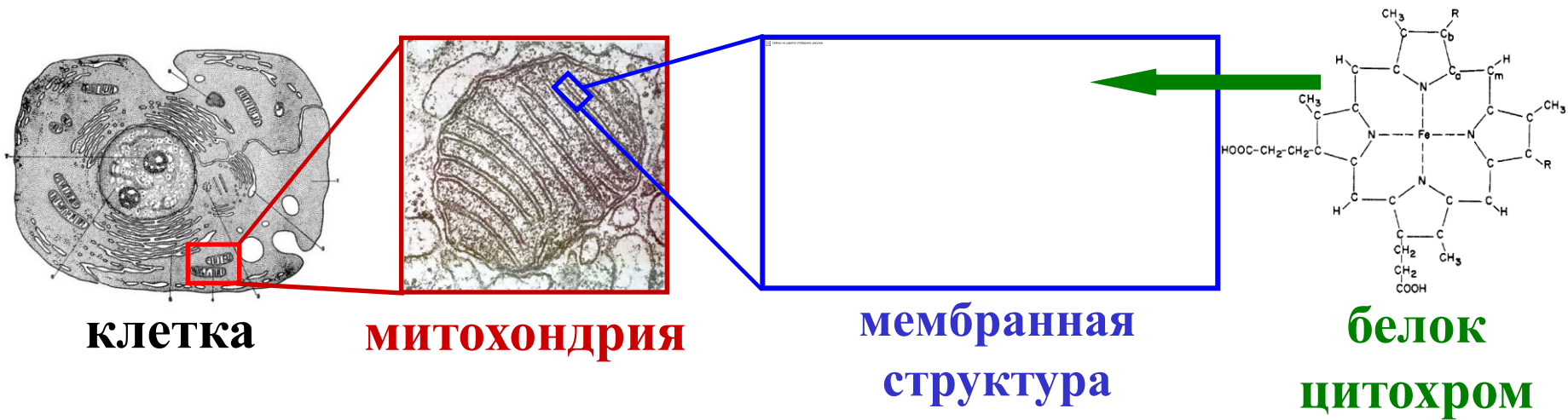


**T=+18 С, флюид**



**T=-120 С, гель**





Процессы, происходящие в биологических объектах, остаются в многом неописанными на микроскопическом уровне.

Это открывает широкие перспективы для применения экспериментальных методов, развитых в физике конденсированных сред, и, в частности, для спектроскопии комбинационного рассеяния света.