

УДК 535.361.2

## СДВИГ ЧАСТОТЫ АКУСТИЧЕСКИХ КОЛЕБАНИЙ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ПАРАМЕТРОВ СУСПЕНЗИИ

М. В. Архипенко<sup>3</sup>, А. Ф. Бункин<sup>1</sup>, М. А. Давыдов<sup>1</sup>,  
О. А. Карпова<sup>3</sup>, В. Б. Ошурко<sup>1,2</sup>,  
С. М. Першин<sup>1</sup>, А. Н. Федоров<sup>1</sup>

*При возбуждении низкочастотного вынужденного комбинационного рассеяния (НчВКР) в суспензии вируса табачной мозаики (ВТМ) обнаружена аномалия величины сдвига частоты линии рассеяния: зависимость от концентрации ВТМ и трис-буфера при увеличении концентрации ВТМ. Предложено объяснение явления, основанное на представлении о формировании гидратной оболочки капсида вируса.*

**Ключевые слова:** вынужденное комбинационное рассеяние, суспензия наночастиц, вирус табачной мозаики, гидратная оболочка.

*Введение.* Несмотря на огромное количество экспериментальных данных, до сих пор не предложено убедительного физического механизма, описывающего нетепловое действие микроволнового излучения на биологические объекты [1–3]. Одной из особенностей экспериментов в этой области является плохая воспроизводимость результатов. Вместе с тем, проявление значимых факторов в некоторых случаях может быть весьма заметным [1]. В недавней работе [4] нами был обнаружен резонансный эффект модификации РНК вируса табачной мозаики при совпадении частоты электромагнитного излучения с собственной частотой продольных акустических колебаний вируса в области 6–9 ГГц при относительно низкой (исключающей нагрев) интенсивности. Заметим,

<sup>1</sup> ИОФ РАН, 119991 Россия, Москва, ул. Вавилова, 38.

<sup>2</sup> Московский государственный технологический университет “Станкин”, 127055 Россия, Москва, Вадковский пер., 1.

<sup>3</sup> МГУ им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра вирусологии, 119991 Россия, Москва, Ленинские горы, 1.

что собственные частоты акустических колебаний таких объектов, как вирусы в водном растворе, можно возбуждать и измерять оптическими методами – в частности, при наблюдении вынужденного комбинационного рассеяния света (ВКР) [5].

Целью настоящей работы является изучение влияния концентрации ионов (ионной силы) в суспензии трис-буфера на резонансную частоту радиальных колебаний вируса табачной мозаики ( $\sim 60$  ГГц), которая проявляется при возбуждении низкочастотного вынужденного комбинационного рассеяния (НчВКР) [4, 9].

*Эксперимент.* В качестве объекта исследования была использована водная суспензия вируса табачной мозаики с добавлением трис-НСI буфера (трис-гидроксиметиламинометанхлорид), которая обеспечивает  $\text{pH} \sim 7.5$  при начальной концентрации вируса  $\sim 0.5 \cdot 10^{12} \text{ см}^{-3}$  (образец “а”). Суспензия была залита в кварцевую кювету с рабочей длиной  $\sim 20$  мм. Кювету с суспензией подвергали воздействию излучения второй гармоники импульсного одночастотного ИАГ:Nd лазера (длина волны излучения  $\lambda = 532$  нм, длительность импульса излучения  $t \sim 10$  нс, энергия в импульсе  $E_{\text{pul}}$  – до 40 мДж). Излучение лазера фокусировали в середину кюветы линзой с фокусным расстоянием 30 мм. Измерения спектров ВКР проводили с помощью интерферометров Фабри–Перо (область дисперсии  $\Delta t = 2.5 \text{ см}^{-1}$ ). Подробно схема эксперимента и методика проведения измерений изложены в [6]. Концентрацию суспензии последовательно увеличивали путем испарения части раствора до  $\sim 1.0 \cdot 10^{12} \text{ см}^{-3}$  (образец “б”) и до  $\sim 2.0 \cdot 10^{12} \text{ см}^{-3}$  (образец “в”) по содержанию вируса. Соответственно изменялась концентрация ионов трис-буфера в растворе.

*Результаты и обсуждение.* В спектре излучения, рассеянного образцом “а”, при увеличении энергии лазера от  $\sim 1$  мДж до  $\sim 30$  мДж присутствовала только линия вынужденного рассеяния Манделъштама–Бриллюэна (ВРМБ–“назад”, величина стокового сдвига  $\Delta\nu \sim 0.255 \text{ см}^{-1}$ , рис. 1).

В спектре излучения, рассеянного образцом “б”, при энергии импульса лазера  $\sim 20$  мДж зафиксирована линия низкочастотного ВКР (и “вперед”, и “назад”) со сдвигом  $\Delta\nu \sim 1.47 \text{ см}^{-1}$ , что соответствует частоте колебаний  $\sim 44.1$  ГГц (рис. 2). Линия ВРМБ при этом отсутствовала. Таким образом, впервые было обнаружено, что повышение концентрации суспензии наночастиц (вируса табачной мозаики) до величины  $\sim 1.0 \cdot 10^{12} \text{ см}^{-3}$  сопровождается подавлением ВРМБ.

В образце “в”, при энергии лазера  $\sim 20$ – $30$  мДж, в спектре зафиксирована линия НчВКР (и “вперед”, и “назад”) со сдвигом  $\Delta\nu \sim 1.046 \text{ см}^{-1}$  или  $\sim 31.38$  ГГц. Линия ВРМБ при этом также отсутствовала (рис. 3).

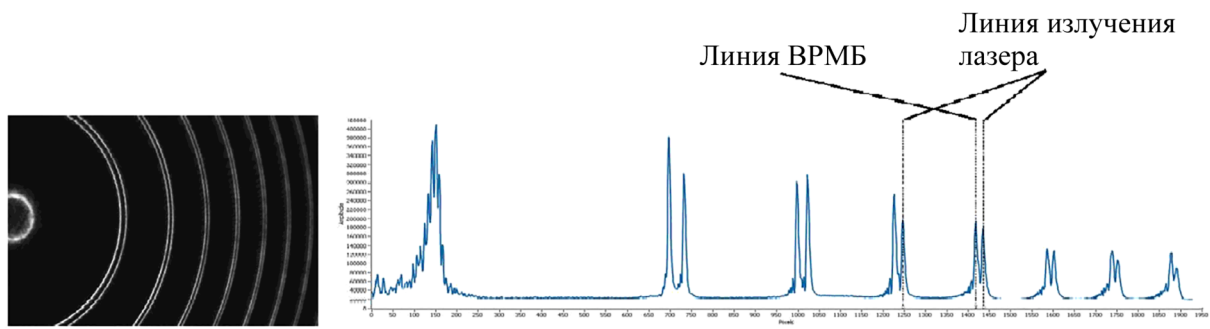


Рис. 1: Интерферограмма линий излучения лазера и сигнала ВРМБ-“назад” в суспензии ВТМ (образец “а”), величина стокова сдвига частоты рассеянного излучения  $\Delta\nu \sim 0.255 \text{ см}^{-1}$ .

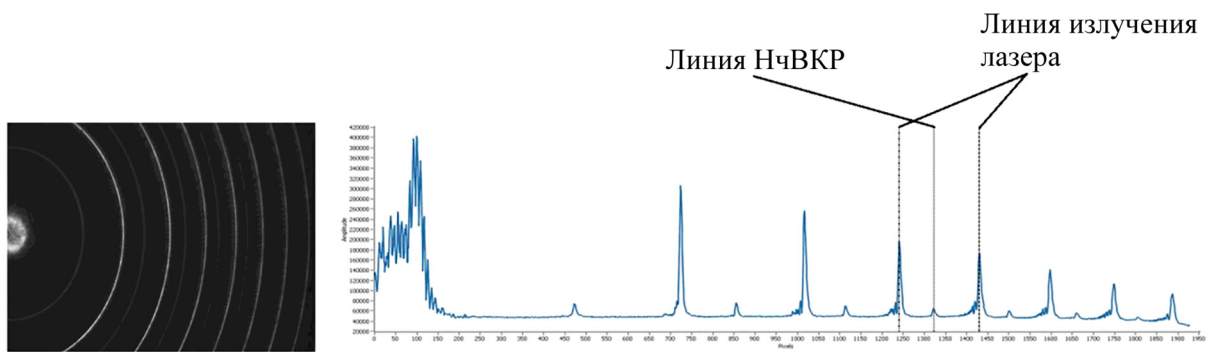


Рис. 2: Интерферограмма линий излучения лазера и сигнала НЧВКР в направлении “назад” в суспензии ВТМ (образец “б”), величина стокова сдвига частоты рассеянного излучения  $\Delta\nu \sim 1.47 \text{ см}^{-1}$ .

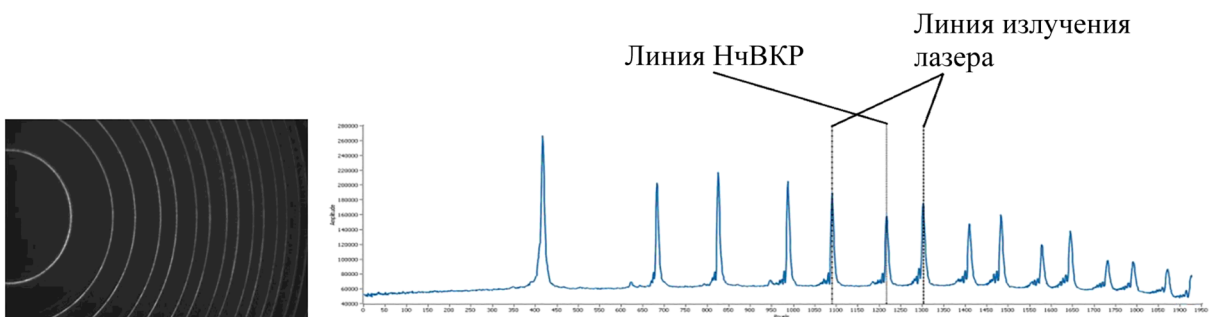


Рис. 3: Интерферограмма линий излучения лазера и сигнала НЧВКР в направлении “назад” в суспензии ВТМ (образец “в”), величина стокова сдвига частоты рассеянного излучения  $\Delta\nu \sim 1.046 \text{ см}^{-1}$ .

Отметим, что наблюдаемое сильное снижение резонансной частоты вряд ли связано с появлением взаимодействия между отдельными частицами вируса, поскольку при указанных концентрациях характерные расстояния между вирусами составляют 0.8–1.2 мкм. Трудно предположить какое-либо взаимодействие на таких больших расстояниях. Однако, как следует из полученных данных, этого расстояния (толщины слоя трис-буфера в суспензии) недостаточно для развития ВРМБ. Можно было бы предположить, что наблюдаемый эффект обусловлен, например, увеличением вязкости раствора при повышении концентрации трис-буфера. Однако оценки показывают, что вязкость буферного раствора при этом меняется с 1.001 сР по 1.0037 сР. Скорее всего, это увеличение не может вызвать столь значительного изменения частоты.

Более вероятным представляется объяснение, предложенное ниже. В нашем случае, при испарении концентрация ионов трис-буфера увеличивается вдвое. А, как известно, по отношению к структуре гидратных оболочек ионы делятся на космотропные (увеличивающие упорядоченность молекул вокруг себя) и хаотропные (увеличивающие “хаотическую” упаковку) [7, 8]. Для космотропных ионов наблюдается увеличение толщины гидратной оболочки с ростом концентрации ионов [7, 8]. Гидроксил-ионы (ОН-) в трис-буфере обеспечивают слабощелочную среду (рН  $\sim 7.5$  в начальной концентрации) и относятся к космотропным ионам. Это значит, что увеличение концентрации ионов может приводить к росту толщины гидратной оболочки вируса и, тем самым, снижать собственную частоту акустических колебаний при увеличении геометрических размеров образца.

Применимость данной гипотезы можно проверить прямым вычислением (формат кратких сообщений ограничивает изложение деталей расчёта, которые будут предметом следующей публикации). Для этого в приближении классического подхода были рассчитаны собственные частоты радиальных колебаний цилиндрического стержня (вируса) в водной среде с учетом слоя льдоподобной гидратной оболочки. Здесь общим решением волнового уравнения для акустического потенциала (потенциала скорости), как и для акустического давления, является линейная комбинация функций Бесселя первого рода нулевого порядка, для акустической скорости – первого порядка. Отбросив функции, расходящиеся в нуле координат, и применив граничные условия на поверхностях гидратации “белок–лед” и “лед–вода” (а именно, условие непрерывности, т.е. равенства скоростей акустических колебаний и равенства акустических давлений), получим систему алгебраических уравнений для определения амплитуд звуковых волн в каждой среде. Условие существования решения этой системы уравнений выглядит как равенство нулю

соответствующего определителя, образованного коэффициентами перед амплитудами. Это и есть уравнение на собственные частоты  $\omega$  и, более того, мнимая часть комплексного решения этого уравнения  $\text{Im}(\omega)$  определяет добротность такого осциллятора. Это трансцендентное уравнение, которое содержит функции Бесселя, решалось численно методом касательных. При решении использовались следующие параметры: скорость звука в капсиде (цилиндре) – 2000 м/с, во льду (оболочке) – 3950 м/с, в воде – 1450 м/с, диаметр цилиндра – 18 нм, толщина оболочки  $dL = 0.8$  нм.

Как оказалось, при отсутствии оболочки ( $dL = 0$ ) характерная частота радиальных колебаний цилиндра  $\nu = 55.8$  ГГц ( $\text{Im}(\omega) = 0$ ) хорошо совпадает с частотой ВКР вируса табачной мозаики, измеренной в предыдущих экспериментах ( $\sim 60$  ГГц) [4, 5]. С ростом гидратной оболочки от 0 до 8.0 нм собственная частота почти линейно уменьшается до  $\nu = 32.5$  ГГц. Следует заметить, что во всех случаях решение было получено в предположении высокой добротности осциллятора ( $\text{Im}(\omega) = 0$ ).

Итак, классический расчет в рамках описанной модели (цилиндр–оболочка) дает значения частот, близкие к экспериментальным, хотя показывает несколько завышенную толщину льдоподобной гидратной оболочки вируса ( $\sim 8$  нм). Это небольшое расхождение (обычно толщина оболочек не превышает 1–2 нм) может быть обусловлено неточными значениями скоростей звука, использованными в расчете.

Таким образом, при двукратном увеличении концентрации суспензии обнаружено значительное снижение частоты ( $\sim 25\%$ ) радиальных акустических колебаний вируса табачной мозаики по смещению линии низкочастотного вынужденного комбинационного рассеяния (НчВКР). Предложена модель обнаруженного явления, основанная на механизме формирования многослойной гидратной оболочки капсида вируса с льдоподобной структурой.

Работа была частично поддержана Министерством образования и науки РФ № 3.6634.2017/6.7; РФФИ Бел-а №18-52-00038 и РФФИ № 18-14-00044.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] B. J. Klauenberg, J. Whitmore, R. Escobar, et al., Proceedings of BioEM 2018, Portoroz, Slovenia, PB-148 (ICNIRP RF Guidelines Project Group, University of Wollongong, Australia, 2018) p. 184, <http://www.bioem2018.org/>.
- [2] Martin L. Pall, Rev. Environ. Health **30**(2), 99 (2015).
- [3] Q. Sheppard, A. R. Swicord, and M. L. Balzano, Health Phys. **95**, 365 (2008).

- [4] O. V. Karpova, A. D. Kudryavtseva, V. N. Lednev, et al., “Stimulated low-frequency Raman scattering in tobacco mosaic virus suspension”, arXiv:1605.07063v1 (Submitted on 23 May 2016).
- [5] O. V. Karpova, A. D. Kudryavtseva, V. N. Lednev, et al., *Laser Phys. Lett.* **13**(8), 085701 (4pp), (2016).
- [6] А. Ф. Бункин, М. А. Давыдов, В. Н. Леднев и др., *Краткие сообщения по физике ФИАН* **45**(6), 37 (2018).
- [7] S. J. Suresh, K. Kapoor, S. Talwar and A. Rastogi, *Journal of Molecular Liquids* **174**, 135 (2012).
- [8] Y. Marcus, *Chemical Reviews* **109**, 1346 (2009).
- [9] Szu-Chi Yang, Huan-Chun Lin, Tzu-Ming Liu, et al., *Scientific Reports* **5**, 18030 (2015).

Поступила в редакцию 2 октября 2018 г.