

ЭВОЛЮЦИЯ СПЕКТРОВ ВЫНУЖДЕННОГО НЕУПРУГОГО РАССЕЯНИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В СУСПЕНЗИИ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ

А. Ф. Бункин, М. А. Давыдов, А. Н. Федоров

В серии экспериментов, имеющих целью проверить воспроизводимость спектров вынужденного неупругого рассеяния в суспензиях наночастиц вируса табачной мозаики, было зафиксировано, что “свежеприготовленные” образцы обладают идентичными спектрами, в том числе для различных концентраций вируса в жидкости. Приготовление образцов сопровождалось контрольными измерениями в рамках стандартных биохимических процедур. С помощью стандартных контрольных процедур с данными образцами суспензии вируса изменений обнаружено не было. Однако, в дальнейших лазерных экспериментах было обнаружено, что хранение суспензии вируса в течение трех лет при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ привело к заметному изменению спектра вынужденного неупругого рассеяния света. Отличия в спектрах могут быть обусловлены субструктурными изменениями вириона, для выявления которых стандартные методы, применяемые в вирусологических исследованиях, не подходят. Высказано предложение о применении спектроскопии вынужденного рассеяния лазерного излучения для диагностики малых изменений вирионов в нативной среде.

Ключевые слова: вынужденное неупругое рассеяние, суспензия наночастиц, вирус табачной мозаики.

Введение. В настоящее время изучению вирусов придается огромное значение. Используются различные методики их исследования – медицинские, биологические, а так-

же физические, напр. [1–3]. В частности, нами и рядом других авторов были выполнены работы по исследованию свойств вирусов с использованием методов нелинейной оптики [2–6]. Исследования показали свою продуктивность, был получен ряд интересных результатов: в [2, 3] сообщили о регистрации вынужденного низкочастотного рассеяния в ряде вирусов; в [4–6] были подробно изучены частотные характеристики вынужденного неупругого рассеяния в суспензии вируса табачной мозаики (ВТМ).

На наш взгляд, интерес представляет сохранение физической структуры вирионов после длительного времени хранения в среде, по своим биохимическим свойствам близкой к нативной. С целью выяснения данного вопроса была проведена настоящая работа.

Т а б л и ц а 1

*Частотные характеристики спектров рассеяния,
полученные в сходных условиях от различных образцов ВТМ.*

*Частотная погрешность вычислена на основании результатов измерений,
полученных в трёх работах*

Образец ВТМ	Буферный раствор	Концентрация вируса в образце, см ⁻³	Измеренные частоты рассеяния, ГГц	Ссылка на публикацию
“а”	Трис-НСI	$2 \cdot 10^{12}$	43.9 ± 0.4 31.2 ± 0.4	[4–6]
“б”	Трис-НСI	$2 \cdot 10^{12}$	41.0 ± 0.4 49.5 ± 0.4 33.8 ± 0.4	Новый результат

Измерения и результаты. В качестве объекта был использован образец вируса табачной мозаики (ВТМ) в буферном растворе трисаминометана ((НОСН₂)₃СNH₂·НСI, сокращенно Трис-НСI), с начальной концентрацией $\sim 2 \cdot 10^{12}$ см⁻³ [4–7]. Кварцевая кювета, содержащая суспензию вируса, была помещена в лазерную установку [4]. При воздействии на образец высокоинтенсивного импульсного лазерного излучения (параметры излучения: длина волны $\lambda = 532$ нм, ширина линии $\delta\nu \sim 0.005$ см⁻¹; длительность импульса $\tau_p \sim 10$ нс, частота повторения импульсов – 1 Гц, энергия в импульсе E_p – до 25 мДж, интенсивность до $I \sim 10^{14}$ W/cm²), были получены спектры вынужденного неупругого рассеяния (ВНР). Для измерения спектров рассеяния использовали интерферометр Фабри-Перо с областью дисперсии $\Delta t = 2.5$ см⁻¹. Отметим, что в процессе измерений в настоящей работе и ранее (например, [4]) в образцах суспензий вирусов оптический пробой не наблюдали, тогда как в контрольном образце буферной жидко-

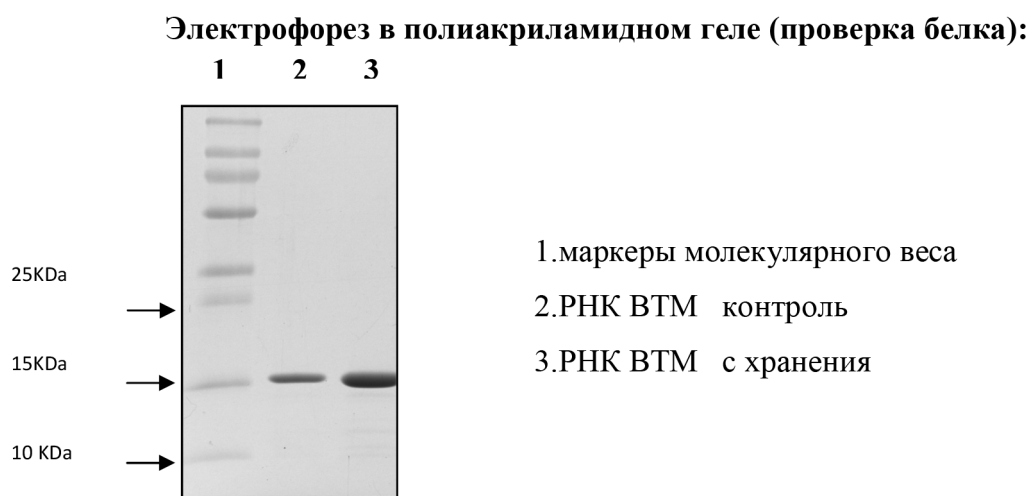


Рис. 1: Сравнение контрольного препарата ВТМ и ВТМ с хранения от 3.10.19 по электрофоретической подвижности.

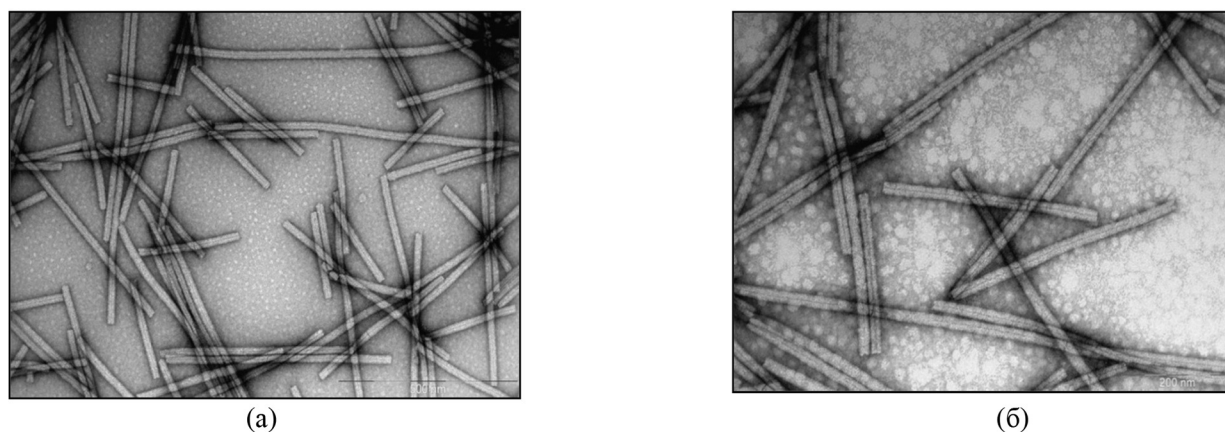


Рис. 2: Фотографии образцов ВТМ, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа: контрольного (а) и с хранения (б).

сти, пробой имел место – этот вопрос в настоящей работе не обсуждается. Величины частотных отстроек спектральных линий представлены в табл. 1, образец/строка “а”. По окончании измерений образец хранили при температуре +4 °С, без доступа света. Через 3 года данный образец был передан для контрольного исследования в лабораторию вирусологии биологического факультета МГУ, где он ранее был приготовлен (см. [4] и ссылки в ней). В результате проведённых исследований с использованием стандартных вирусологических методов, было получено: между контрольным препаратом ВТМ и переданным нами с хранения образцом ВТМ, нет различий ни в геометрии

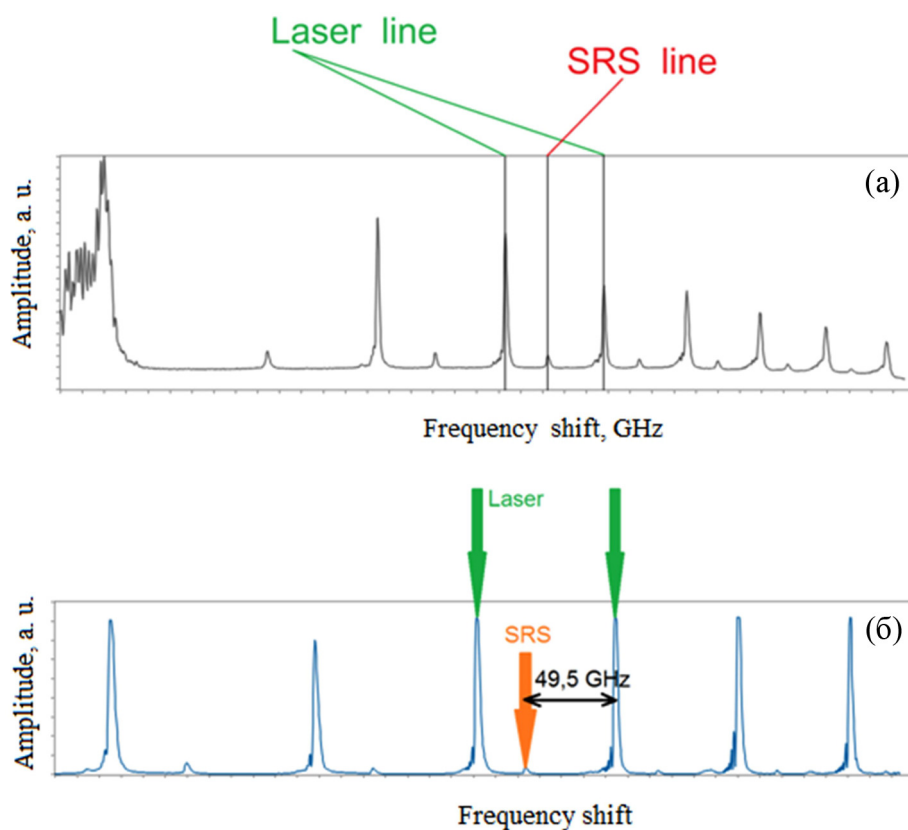


Рис. 3: (а) спектр ВНР, полученный в работе [5] в 2021 г. Концентрация вируса табачной мозаики $\sim 1.0 \cdot 10^{12} \text{ см}^{-3}$, $T_{\text{cell}} = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $\Delta\nu \sim 1.45 \text{ см}^{-1} = 43.5 \text{ ГГц}$; (б) спектр ВНР, полученный в 2022 г. с использованием образца, изготовленного в 2019 г., концентрация вируса $2 \cdot 10^{12} \text{ см}^{-3}$.

вириона (отсутствие деформации, дробления), ни в электрофоретической подвижности (изменение поверхностного заряда, массы). В частности, разница в интенсивности окраски полосы в пробах на электрофорезе связана с разной концентрацией препаратов; в контрольном препарате концентрация меньше, чем в препарате, находившимся на хранении (рис. 1; 2(а), (б)). По окончании микробиологических исследований кюветы с данными образцами были размещены на лазерной установке [4, 7], где были получены спектры вынужденного неупругого рассеяния (ВНР). Частоты этих спектров представлены в табл. 1 (образец/строка “b”). Типичные денситограммы некоторых линий рассеяния представлены на рис. 3(а) ([6]), (б) (ранее не было опубликовано).

Обсуждение и выводы. Спектры рассеяния у “свежеприготовленных” образцов и образцов “с хранения” отличаются как по количеству линий, так и по частотным от-

стройкам (табл. 1). Мы полагаем, что данные различия могут быть обусловлены изменениями в “механической” структуре вириона. Медленно протекающие биохимические реакции при длительном хранении штамма могут напрямую влиять на связи между субструктурами вириона и опосредованно через изменение pH среды. Остаётся открытым вопрос, как это будет сказываться на вирулентности ВТМ в силу его устойчивых биологических свойств [8]. На наш взгляд, важно провести дополнительное исследование на предмет взаимосвязи изменения частотного спектра вынужденного неупругого рассеяния и сохранения вирулентности образцов вирусов. Положительные результаты подобного исследования открывают возможность использования методов нелинейной спектроскопии в диагностике малых изменений в структуре вирионов, в том числе и мутаций, что важно для фундаментальной медицины.

Выражаем благодарность сотрудникам Биологического факультета МГУ Карповой О. В. и Архипенко М. В. за предоставленные образцы и проведённые биологические исследования.

Работа была поддержана грантом РНФ № 22-22-00153.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] A. A. Balandin, V. A. Fonoberov, *Journal of Biomedical Nanotechnology* **1**, 90 (2005). DOI: 10.1166/jbn.2005.005.
- [2] К. И. Земсков, А. Д. Кудрявцева, Т. В. Миронова и др., Сборник трудов X Международной конференции “Фундаментальные проблемы оптики – 2018”, Санкт-Петербург, 15-19 октября 2018, под ред. проф. В. Г. Беспалова, проф. С. А. Козлова (СПб: Университет ИТМО, 2018), с. 444-446.
- [3] O. V. Karpova, M. V. Arkhipenko, S. M. Pershin, et al., *Journal of Russian Laser Research* **42**(1), 106 (2021). doi.org/10.1007/s10946-020-09935-0.
- [4] М. В. Архипенко, А. Ф. Бункин, М. А. Давыдов и др., *Краткие сообщения по физике ФИАН* **45**(11), 8 (2018). DOI: 10.3103/S1068335618110027.
- [5] М. В. Архипенко, А. Ф. Бункин, М. А. Давыдов и др., *Письма в ЖЭТФ* **109**(9), 598 (2019). DOI: 10.1134/S0370274X19090054.
- [6] А. Ф. Бункин, М. А. Давыдов, А. Н. Федоров и др., *Письма в ЖЭТФ* **113**(11), 763 (2021). DOI: 10.31857/S1234567821110094.
- [7] А. Ф. Бункин, А. Н. Федоров, М. А. Давыдов и др., *Письма в ЖЭТФ* **115**(8), 528 (2022). DOI: 10.31857/S1234567822080109.

- [8] Richard Ellis Ford Matthews, *Plant Virology* (Academic Press, 1970). ISBN: 0124805566, 9780124805569.

Поступила в редакцию 25 мая 2023 г.

После доработки 30 августа 2023 г.

Принята к публикации 31 августа 2023 г.