

УДК 543.424; 577.1

СПЕКТРОСКОПИЯ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ *

Д. Л. Кениз

Впервые систематизированы результаты исследований некоторых классов биологических молекул (белков, полинуклеотидов и нуклеиновых кислот, углеводов) методом спектроскопии лазерного комбинационного рассеяния. Обсуждается взаимосвязь между спектрами КР и структурой биологических молекул. Обзор представляет интерес для биооргаников, физико-химиков и специалистов, занимающихся конформационным анализом и изучением строения биологических молекул.

Библиография — 60 наименований.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Спектры комбинационного рассеяния белков	1475
А. Общее рассмотрение	1475
Б. Лизоцим	1476
В. Рибонуклеаза	1478
Г. α -химотрипсин	1480
Д. Химотрипсиноген	1481
Е. Рубредоксин	1483
Ж. Кальцинированная ткань	1483
З. Ренатурированный коллаген	1483
II. Спектры комбинационного рассеяния полинуклеотидов и нуклеиновых кислот	1483
А. Пуриновые и пиримидиновые основания	1483
Б. Синтетические полирибонуклеотиды	1492
В. Спиральные комплексы синтетических полинуклеотидов	1500
Г. Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)	1501
Д. Рибонуклеиновая кислота (РНК)	1503
III. Спектры комбинационного рассеяния углеводов	1506
А. Водные растворы углеводов	1506
Б. Углеводы в твердом состоянии	1511

I. СПЕКТРЫ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ БЕЛКОВ

А. Общее рассмотрение

Спектры КР белков получить можно, но значительно более низкого качества, чем спектры аминокислот и полипептидов. Эдсол объясняет это тем, что с увеличением размера молекулы релеевское рассеяние возрастает, в то время как интенсивность КР практически не меняется, поскольку оно приблизительно пропорционально массе молекулы в единице объема. Поэтому отношение сигнал — шум уменьшается при переходе к высокомолекулярным системам, подобным белкам. Кроме того, большинство белков флуоресцирует, что приводит к беспрестанному изменению фона в получаемых спектрах. Всегда существует возможность, что лазерный луч повредит молекулу в растворе, поэтому требуются допол-

* Macromolecular Reviews, 6, part D, 121 (1972), перев. с англ. В. М. Тульчинского.

нительные исследования, чтобы убедиться в том, что образец неповрежден.

Наконец, можно ожидать, что спектры КР белков будут очень сложны из-за большого числа аминокислотных остатков и высокого молекулярного веса. Так как интенсивность линий в спектре КР линейно зависит от концентрации молекул, следует ожидать появления множества трудноразличимых слабых линий. По-видимому, когда в спектрах КР присутствует много перекрывающихся линий, суммарные спектры становятся диффузными, с сильно перекрывающимися слабыми линиями. Это не позволяет получить качественные спектры.

Эдсол¹ получил первый спектр КР белка — лизоцима, используя в качестве источника света ртутную лампу. В этом спектре авторы описали всего четырнадцать слабых линий. Недавно были получены спектры КР кристаллического лизоцима, пепсина и α -химотрипсина с помощью лазерного возбуждения², причем из двадцати одной линии в спектре КР лизоцима около половины соответствовали ранее наблюдаемым. Наконец, Лорд и Ю описали спектры КР рибонуклеазы, α -химотрипсина³ и лизоцима⁴.

Б. Лизоцим

Спектр КР лизоцима был получен в воде и D_2O при различных температурах, концентрациях и рН⁴. Частоты линий приведены в табл. 1. Концентрация менялась от 33 до 20%, при этом смещения линий не наблюдалось. Запись спектра при более низких концентрациях нельзя было произвести из-за использования малоомощного гелий-неонового лазера. В области рН 4—8,8 сколько-нибудь заметные различия в спектрах не наблюдались. При рН 2,0 белок образует агрегаты и дает высокое фоновое рассеяние. При рН > 11 молекула подвергается гидролизу. Несмотря на то, что лизоцим подвергался обратимой термической денатурации в области температуры 68—64°С, Лорд и Ю не смогли получить спектры КР денатурированной формы из-за сильного фонового рассеяния.

Спектр КР лизоцима был интерпретирован Лордом и Ю⁴ при сопоставлении со спектрами КР двадцати различных аминокислот, содержа-

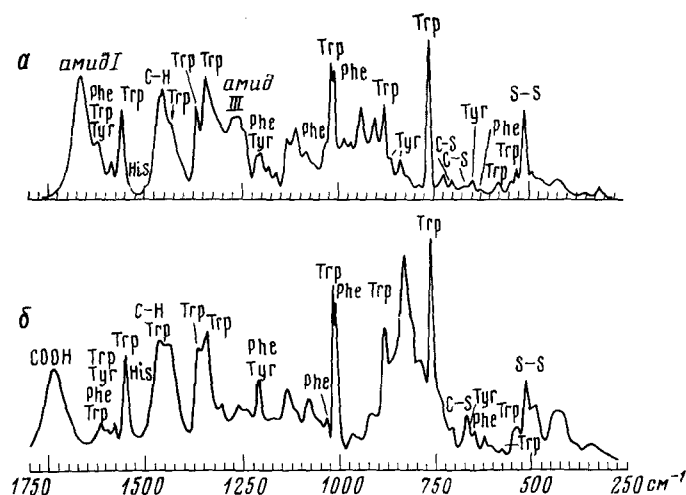


Рис. 1. Спектр КР лизоцима в воде

щихся в молекуле белка. Авторы свели в таблицы спектры аминокислот, причем интенсивности пиков проводили относительно внутреннего стандарта с учетом частотной зависимости постоянной времени прибора. Были приготовлены смеси аминокислот такого состава, чтобы их спектры можно было сопоставить со спектром полностью гидролизованного в кислом растворе лизоцима. Соответствие между спектром КР лизоцима и суммарным спектром составляющих его аминокислот весьма примечательно (рис. 1). Аминокислоты, триптофан, фенилаланин и тирозин с ароматическими боковыми цепями дают в спектре интенсивные пики с высоко характеристическими частотами и легко различимы в спектрах КР белков.

ТАБЛИЦА 1

Спектры КР нативного лизоцима в воде и D₂O (250—1800 см⁻¹)

Частота, см ⁻¹		Возможное отнесение	Частота, см ⁻¹		Возможное отнесение
H ₂ O	D ₂ O		H ₂ O	D ₂ O	
311			1035	1035	Phe
344			1055	1060	
429			1078	1080	
	450		1109	1110	C — N вал.
469			1128	1128	
491	489		1160	1161	
509	509	S — S вал.	1179	1183	Туг; О-дейтер. Туг; N—
529	524	Тгр; N-дейтер. Тгр.			D деф. дейтер. индола
544	544	Тгр; N-дейтер. Тгр.	1198	1200	
577	574		1210	1211	Туг и Phe
603?			1240		амид III
624	625	Phe		1253	
646	646	Туг; О-дейтер. Туг	1262		амид III
661	662	C — S вал.	1274		амид III
700	698	C — S вал. (Met)		1284	
724	723		1290		
761	760	Тгр; N-дейтер. Тгр	1304		
800?	804		1338	1337	Тгр; N-дейтер. Тгр
820			1363	1362	Тгр
836	835	Туг; О-дейтер. Туг		1385	N-дейтер. Тгр
	857	N-дейтер. Тгр.		1420	COO ⁻ сим. вал.?
858		Туг	1432		N — H деф. индола
	873		1448	1447	
879		Тгр.	1459	1459	C — H деф.
900	907	C — C вал.		1482	
936	934	C — C вал.	1494		His?
	950	амид III'	1553	1553	Тгр; N-дейтер. Тгр
964	965		1582	1580	Тгр; N-дейтер. Тгу
984			1622	1620	Тгр; Туг; Phe
1006	1006	Phe	1660	1658	амид I; амид I'
1014	1014	Тгр; N-дейтер. Тгр.			

В области 500—725 см⁻¹ в спектре КР лизоцима наблюдается слабая линия при 661 см⁻¹, отвечающая валентному колебанию C—S-связи в группе C—S—S—C, в то время как в спектре КР смеси аминокислот это колебание проявляется в виде интенсивной линии при 671 см⁻¹. Лорд и Ю объясняют это различие тем, что конформации дисульфидных связей в лизоциме отличаются от конформаций аналогичных связей в мономерных аналогах в растворе⁴. Известно, что углы C—S—S в лизоциме имеют значения, близкие к 114°, тогда как в галогенгидратах цистина они равны 104°. Это обуславливает различия и в спектрах КР между ча-

стотами симметричных и антисимметричных валентных колебаний С—S-связей, а также в относительных интенсивностях валентных колебаний S—S- и С—S-связей.

Пептидные группы лизоцима дают линии в областях: амид I при 1660 см^{-1} , амид II при 1567 см^{-1} , а амид III проявляется как триплет при 1240 , 1262 и 1274 см^{-1} . Колебание амид I характеризуется узкой полушириной линии (около 30 см^{-1}) по сравнению с обычной полушириной $\sim 50\text{ см}^{-1}$ в спектрах КР белков. Лорд и Ю объясняют это тем, что большинство амидных групп в основной цепи нативного лизоцима не сольватированы. Кроме того, они предположили, что три пика в области колебания амид III в спектре КР кристаллического лизоцима могут возникать от трех отдельных структурных компонентов — α -спирали из остатков 5—15, 24—34 и 88—96, антипараллельного складчатого слоя и неупорядоченных участков белка⁴.

В. Рибонуклеаза

Спектр КР нативной рибонуклеазы в растворе был получен Лордом и Ю⁵, а для твердого состояния и водного раствора Кенигом и Фрушором⁶. Спектры изображены на рис. 2 и 3, а частоты колебаний приведены в табл. 2. Спектр интерпретирован с помощью спектров смесей аминокислот, составляющих молекулу белка.

Линии при 836 и 855 см^{-1} в спектре рибонуклеазы принадлежат колебаниям *p*-оксифенильного кольца и обычно характеризуют его ионизованную форму. Несмотря на это, Лорд и Ю предположили, что полученные данные не связаны с наличием ионизованной формы *p*-оксифенильных колец тирозина, а могут быть обусловлены взаимодействиями

Рис. 2. Спектр КР рибонуклеазы в твердом состоянии

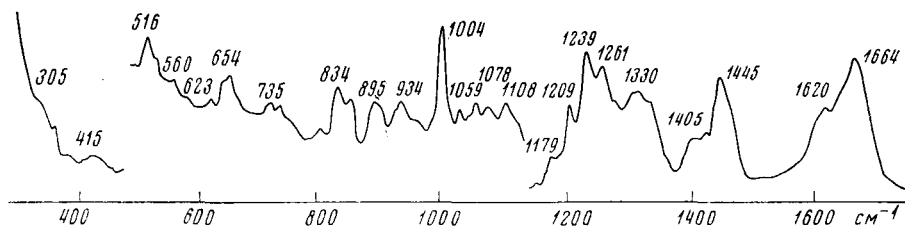
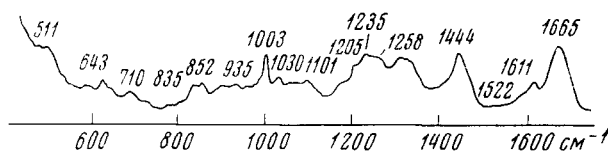


Рис. 3. Спектр КР рибонуклеазы в водном растворе

тирозилкарбоксилат-иона боковой цепи³. В рибонуклеазе имеется шесть остатков тирозина двух различных типов, однако в спектре КР нативной рибонуклеазы не обнаружено связанного с этим расщепления линий. Валентные колебания связей S—S и С—S в четырех дисульфидных мостиках проявляются при 516 и 659 см^{-1} соответственно с отношением интенсивностей линий, близким к 1. Это говорит о том, что углы С—S—S при связях S—S в рибонуклеазе близки к 104° , т. е. меньше, чем в лизоциме. Остаток метионина находится в трансформе, на что указывает линия при 725 см^{-1} .

ТАБЛИЦА 2

Колебательные спектры рибонуклеазы в водном растворе и твердом состоянии

Частота, см^{-1}			Отнесение
КР (раствор)	КР (тв. сост.)	МК (тв. сост.)	
		3300 с.	NH вал
		3200 ср.	
		3060 ср.	
	3052 ср.	2982 ср.	CH вал.
	2982 ср.	2965 ср.	
	2951 с.	2935 ср.	
	2902 ср.		амид I
	2832 сл.	2875 ср.	
1664 с.	1665 с.	1650 с.	
1620 ср.	1611 сл.		амид II
	1522 сл.	1525 с.	
	1444 с.	1445 сл.	
1445 с.			COO ⁻ сим. вал.
1426 ср.			
1405 ср.	1396 сл.	1395 сл.	
1330 ср.	1317 ср.	1340 сл.	амид III
1312 ср.		1305 сл.	
1283 сл.			
1261 с.	1258 ср.	1260 сл.	Tyr, Phe *
1239 с.	1235 ср.	1230 сл.	
1209 ср.	1205 ср.		
1179 сл.	1175 сл.	1180 сл.	вал. кол. скелета
1153 сл.			
1109 сл.	1101 сл.	1115 ср.	
1078 сл.			C—N вал., C—C вал,
1059 сл.			
1033 сл.	1030 сл.		
1004 с.	1003 ср.		Phe *
956 сл.	962		
934 сл.	935 сл.		
	901 сл.		C—C вал.
895 ср.			
853 ср.	852 сл.		
834 ср.	835 сл.		C—S вал. метионина
748 сл.			
737 сл.			
725 сл.	710 сл.		C—S вал. дисульфидная связь
654 ср.			
647 ср.	643 сл.		Phe *
623 сл.	618 сл.	620 ср.	
583 сл.			
560 сл.			S—S вал.
532 сл.			
516 ср.	511 сл.		
351 сл.			
305 сл.			

* Отнесения взяты из работы Лорда и Ю *.

Замечены различия между спектрами КР рибонуклеазы в водном растворе и в твердом состоянии. Колебание амид I проявляется при 1664 и 1665 см^{-1} в водном растворе и твердом состоянии и указывает на возможность присутствия в рибонуклеазе конформаций, подобных β -структурам. В спектре КР рибонуклеазы в водном растворе и в твердом состоянии в области амид III наблюдаются две линии при 1261 и 1239 см^{-1} . Интенсивность линий амид III согласуется с содержанием 20% α -спиральных участков в белке. При растворении рибонуклеазы интенсив-

ность линий амид III возрастает, что указывает на дальнейшее разупорядочивание молекулы. Линии в спектрах КР водного раствора более четкие, чем в спектрах рибонуклеазы в твердом состоянии, что означает, что белок в твердом состоянии был частично дегидратирован.

Г. α -химотрипсин

Спектр КР α -химотрипсина в твердом состоянии был впервые описан Тобином². Спектр водного раствора при pH 5,0 получили Лорд и Ю³ и сравнили со спектром КР смеси, состоящей из пяти аминокислот. Частоты колебаний и их отнесения в спектре КР α -химотрипсина приведены

ТАБЛИЦА 3
Спектры КР α -химотрипсина в H_2O и D_2O (250—1800 см^{-1})

Частота, см^{-1}		Возможное отнесение	Частота, см^{-1}		Возможное отнесение
H_2O	D_2O		H_2O	D_2O	
424	424		1033	1033	} C—N вал,
484	487		1078	1083	
511	511	S—S вал.	1098	1098	
537	537	Тгр; N-дейтер. Тгр	1128	1128	
574	573	Тгр; N-дейтер. Тгр	1157		
624	623	Phe		1179	N—D деф. (дейтер. индол.)
647	645	Туг; O-дейтер. Туг	1203	1204	Туг и Phe, O-дейтер. Туг и Phe
674?	666	C—S вал. дисульф. св.	1245	1247	амид III амид III? амид III
713	709		1260		
759	758	Тгр; N-дейтер. Тгр	1321	1321	
836	838	Туг?	1341	1337	Тгр, N-дейтер. Тгр
859	857	C—C вал.	1361	1361	Тгр
880	880	Тгр		1385	N-дейтер. Тгр
903		C—C вал.	1432		N—H деф. (индол)
941		C—C вал.	1448		
	950	амид III'		1451	} C—H деф.
959	965		1463		
983	983	SO_4^{2-}	1551	1550	Тгр, N-дейтер. Тгр
1004	1004	Phe	1580	1577	Тгр и Phe, N-дейтер. Тгр и Phe
1014	1014	Тгр, N-дейтер. Тгр	1610	1610	Тгр и Phe; O-дейтер. Тгр и Phe
			1621		Тгр и Туг
			1669	1664	амид I, амид I'

в табл. 3³. Слабая и широкая линия при 511 см^{-1} отнесена к валентному колебанию связи S—S; к валентному колебанию связи C—S отнесли линию при 674 см^{-1} , которая оказалась значительно слабее, чем ожидалось. По мнению Лорда и Ю, эти результаты указывают на то, что пять C—S—S—C-групп в α -химотрипсине имеют неодинаковую конформацию. К колебанию амид I отнесена линия при 1669 см^{-1} , а в области амид III находятся линии при 1245 и 1260 см^{-1} . Последние две линии отражают присутствие в белке участков с α -спиральной и неупорядоченной конформацией.

Д. Химотрипсиноген

Спектры КР химотрипсиногена в твердом состоянии изображены на рис. 4, в D_2O на рис. 5, и обратимо денатурированного белка на рис. 6, а частоты колебаний приведены в табл. 4⁶. Ввиду того, что аминокислотная последовательность химотрипсиногена очень похожа на таковую химотрипсина, их спектры КР весьма схожи и при отнесении линий могут быть использованы данные Лорда и Ю. Частота колебания амид I 1668 см^{-1} в спектре химотрипсиногена в твердом состоянии позволяет

Рис. 4. Спектр КР обратимо денатурированного химотрипсиногена в H_2O при 65°C (рН 2,0, концентрация 1%)

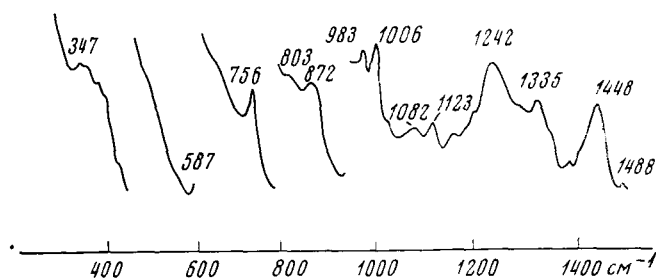


Рис. 5. Спектр КР химотрипсиногена в D_2O при 20°C (рН 2,0, концентрация 1%)

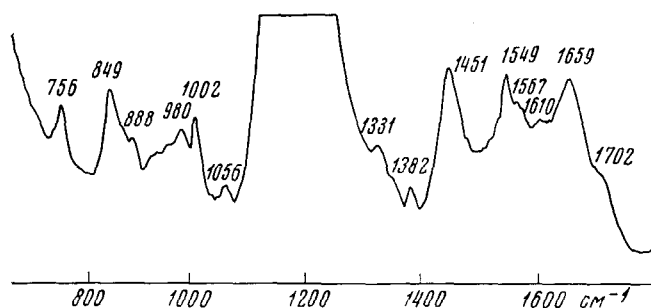
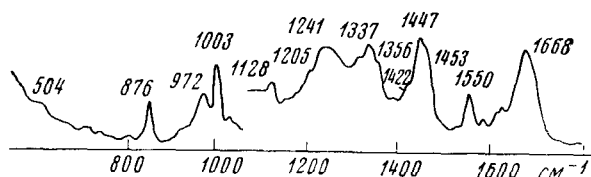


Рис. 6. Спектр КР химотрипсиногена в твердом состоянии



предположить присутствие в белке участков с β -конформацией. Уменьшение частоты колебания амид I до 1659 см^{-1} при растворении белка в воде может быть связано с образованием дополнительных водородных связей с водой.

Высокая интенсивность линии амид III в спектрах химотрипсиногена согласуется с данными для полипептидов, где присутствие интенсивных линий амид III связывают с низкой степенью спирализации полипептида. Отношение интенсивностей линий амид III и деформационных колебаний метиленовых групп при 1448 см^{-1} возрастает от 0,7 в спектрах КР химотрипсиногена в твердом состоянии до 1,2 в спектре водного раствора белка, и указывает на увеличение разупорядоченности молекулы белка при растворении. Валентные колебания связей C—S и S—S при 607 и 509 см^{-1} соответственно, слабы в спектрах КР химотрипсиногена. Лорд

ТАБЛИЦА 4

Колебательные спектры химотрипсिनогена в водном растворе и в твердом состоянии

Частота, см^{-1}				Отнесение
КР (рН = 3,0)	КР (рD = 2,0)	КР(тверд. сост.)	ИК (тверд. сост.)	
		3052 сл.	3290 с.	N — H вал.
		2956 ср.	3065 сл.	
		2926 с.	2965 ср.	C — H вал.
		2872 ср.	2930 ср.	
		2814 ср.		
	1702 сл.			C = O вал.
	1659 с.	1668 с.	1645 с.	амид I
	1610 сл.	1617 сл.		Тгр, Phe *
	1567 сл.	1576 сл.		Тгр, Phe *
	1549 ср.	1550 ср.		
			1525 с.	амид III
1488 сл.		1453 с.	1445 сл. ш.	
1448 с.	1451 с.	1447 с.		CH деф. CH ₂ деф. CH ₃ деф.
		1422 сл.		
1390 сл.				
1390 сл.				
1379 сл.	1382 сл.		1382 сл.	Тгр *
1360 сл.		1356 ср.		
1335 ср.	1331 сл.	1337 с.	1330 сл.	Тгр *
1242 с.		1241 с.	1225 ср. ш.	амид II
1198 сл.		1208 ср.		
1172 сл.		1158 сл.	1140 сл.	
1123 сл.		1128 сл.		вал. колебания скелета
1082 сл.	1056 сл.		1095 ср.	C — C вал., C — N вал.
1029 сл.		1030 сл.		
1006 с.	1002 ср.	1003 с.		Phe *
983 ср.	980 сл.	982 ср.		SO ₄ ²⁻
	961 сл.			амид III
	931 сл.			
872 сл.	888 сл.	876 сл.		Тгр *
	869 сл.			
	849 ср.	832 сл.		
803 сл.				
756 ср.	756 ср.	759 ср.	730 сл.	Тгр *
		643 сл.		C — S вал.
		622 сл.		
587 сл.		572 сл.		
		504 сл.		S — S вал.

* Отнесения взяты из работы Лорда и Ю *.

и Ю считают, что слабая интенсивность этих линий указывает на то, что не все дисульфидные связи эквивалентны и это, по-видимому, относится к пяти дисульфидным мостикам в химотрипсिनогене.

Химотрипсिनоген был обратимо денатурирован с использованием 1%-ного раствора белка в D₂O при рD 2,0. Были изучены два одинаковых образца, дающие в спектре КР линию амид I при 1659 см^{-1} , при нагревании растворов эта линия смещалась до 1656 см^{-1} , тогда как в спектре контрольного образца она оставалась при 1659 см^{-1} . Смещение линии амид I является результатом увеличения количества водородных связей в обратимо денатурированной форме. Из спектров КР следует, что денатурация сопровождается небольшим изменением в локальной конформации пептидной цепи; доказательством этому является отсутствие изменения интенсивности или частоты колебания амид III. Денатурация

может вызвать изменение в структуре белка, достаточное для проникновения воды, однако незначительно влияет на изменение ближнего порядка пептидной цепи.

Е. Рубредоксин

Была предложена лазерная спектроскопия КР в качестве метода для изучения окружения железа в негемовых железосодержащих белках, простейшим представителем которых является ферродоксин. Атомы железа координированы четырьмя атомами серы, которые расположены в вершинах тетраэдра. В спектре КР твердого аморфного рубредоксина наблюдаются только две линии при 365 и 311 см^{-1} ⁷. Эти линии отнесены на основании сопоставления с линиями при 360 и 303 см^{-1} в спектре КР тиоферрита калия (KFeS_2), который содержит полимерные тетраэдры FeS_4 . Предположив, что частоты колебаний металл — лиганд могут быть перенесены из спектров простых модельных соединений в спектры сложных белковых систем, можно делать структурные предсказания подобного типа.

Ж. Кальцинированная ткань

Спектры КР кортекса голени буйвола были получены от поверхности целого куска голени, который был обезжирен в ацетоне и хлороформе и высушен⁸. Интенсивная линия при 955 см^{-1} в спектре КР кальцинированной ткани вызвана колебаниями фосфатной группы. На присутствие неорганического карбоната указывают линии при 1451 и 1417 см^{-1} . Спектры свидетельствуют о наличии в коллагене как пролина, так и фенилаланина. Интенсивная линия КР, принадлежащая фосфату кальция, дает возможность определения фосфата кальция в нормальной и патологической кальцинированной ткани. Следовательно, спектры КР могут быть полезны при изучении аномалий в зависимости от степени кальцинирования и природы органической матрицы.

И. Ренатурированный коллаген

В спектре КР ренатурированного коллагена, полученного экстракцией уксусной кислотой из сухожилий крысиного хвоста, выше фона флуоресценции наблюдались только несколько линий — при 1652, 1571, 1451, 1258, 1198 и 861 см^{-1} ⁸. Имеются существенные различия между частотами в спектрах КР ренатурированного и кальцинированного коллагена, которые могут быть вызваны реальными различиями в конформациях. Для получения качественных спектров КР образцов такого типа необходимо добиться отсутствия флуоресценции.

II. СПЕКТРЫ КР ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

А. Пуриновые и пиримидиновые основания

1. Идентификация оснований

Одним из возможных применений спектроскопии КР для изучения нуклеиновых кислот является идентификация пуриновых и пиримидиновых остатков оснований в водном растворе. В спектрах КР оснований аденина (А), урацила (У), гуанина (Г) и цитозина (Ц) присутствуют интенсивные характеристические линии, которые не изменяются заметно при протонировании, дейтерировании, депротонировании, ионизациях

ТАБЛИЦА 5

Характеристические частоты колебаний цикла урацила

Условия наблюдения	Частота см^{-1}					Интенсивность	
	урацил	уридин	5'-УМФ	1-метил-урацил	1,3-ди-метил-урацил	КР	ИК
Твердое состояние и растворы	790 ± 8	786 ± 4	786 ± 4	768 ± 13	691 ± 2	с., СП	оч. сл.
	822	830	810 ± 10	802 ± 10	804 ± 4	ср., СП	с.
	1390 ± 10	1392 ± 10	1391 ± 11	1388 ± 2	1382 ± 2	с., П	ср.—с.
Все формы, кроме щелочных растворов	не дейтериров,						
	дейтерир.						
	1236 ± 1	1233 ± 1	1233 ± 2	1237 ± 5	1273 ± 5	оч. с., П	оч. сл.
	1268 ± 2	1248 ± 1	1249 ± 1	1271	—	оч. с., П	оч. сл.
Щелочные растворы	1034 ± 1	1020 ± 2	1018 ± 2	1011 ± 1	—	ср., ДП	сл.
	1212 ± 2	1209 ± 1	1209 ± 1	1208 ± 3	—	с., ДП	сл.
	1284 ± 11	1296 ± 2	1296 ± 2	1275 ± 1	—	оч. с., ДП	ср.—с.

* В этой и последующих таблицах значение частоты является средней величиной, полученной при измерениях в разных условиях, указанных в левом ряду.

СП — сильно поляризованные линии, П — поляризованные, ДП — деполаризованные.

ТАБЛИЦА 6

Характеристические частоты колебаний цикла аденина

Условия наблюдения	Частота, см^{-1}				Интенсивность	
	аденин	аденозин	5-АМФ	9-метил-аденин	КР	ИК
Твердое состояние и растворы	714 ± 11 1338 ± 8	726 ± 7 1336 ± 12	723 ± 5 1337 ± 7	714 ± 11 1335 ± 5	с., с. П. оч. с., П,	сл. — ср. ср. — с.
Все кислые формы	1412 ± 2	1415 ± 2	1414 ± 1	1412 ± 9 *	оч. с., П	сл.
Некислые формы:						
1) твердое состояние и растворы	1313 ± 2 1456 ± 6	1308 ± 2 1485 ± 5	1309 ± 1 1478 ± 8	1313 ± 2 1487 ± 3	с. — оч. с., П ср. — с., СП	с. ср.
2) растворы	1388 ± 3	1383 ± 5 1425 ± 2	1383 ± 3 1426 ± 4	1388 ± 3 1427 ± 1	ср. — с., П сл. — ср. ?	— —

* Указанная линия в растворе С1 проявляется в виде триплета 1398, 1420 и 1452 см^{-1} .

фосфатных групп, при химическом замещении в экзоциклических группах или при изменениях во вторичной структуре⁹. Частоты колебаний приведены в табл. 5—8. Эти характеристические частоты были использованы Томасом¹⁰ при анализе спектров КР рибосомальной РНК. Пуриновые циклы дают в спектре очень интенсивные линии при 1575 см^{-1} , обусловленные колебаниями адениновых и гуаниновых остатков, и при 1484 см^{-1} , обусловленные в основном гуанином. Пиримидиновые циклы дают линии в спектре КР при более низких частотах, в области 1400—

ТАБЛИЦА 7

Характеристические частоты колебаний цикла цитозина

Условия наблюдения	Частота, см^{-1}				Интенсивность	
	цитозин	цитидин	5'-ЦМФ (динатриевая соль)	1-метилцитозин	КР	ИК
Твердое состояние и растворы	786 \pm 9	781 \pm 6	780 \pm 6	785 \pm 10	с. — оч. с., СП	ср. — с.
	1215 \pm 5	1218 \pm 7	1218 \pm 8	1209 \pm 9	с., П	сл. — ср.
	1282 \pm 13	1254 \pm 11	1254 \pm 11	1278 \pm 15	оч. с., П	оч. сл.
	1375 \pm 10	1302 \pm 10 1383 \pm 8	1306 \pm 6 1383 \pm 8	1392 \pm 7	оч. с., П сл. — ср., ДП	с. с.
Не дейтерированные формы	970 \pm 5	995 \pm 6	1000 \pm 5	985 \pm 10	сл. — ср., ДП	оч. сл.
Дейтерированные формы		1036	1037	1025 \pm 5	ср., ДП	—
Кислые растворы	1420 \pm 10	1430 \pm 20	1430 \pm 20	1445 \pm 20	ср. — с., П	сл.

ТАБЛИЦА 8

Характеристические частоты колебаний цикла гуанина

Условия наблюдения	Частота, см^{-1}				Интенсивность КР
	гуанин *	гуанозин	5'-ГМФ	9-этилгуанин **	
Все формы в растворах	638 \pm 13	668 \pm 8	672 \pm 8	622 \pm 7	ср., С. П.
	1361 \pm 11	1367 \pm 5	1364 \pm 4	1350 \pm 2	ср. — с., П
Все кислые формы	1260	1285 \pm 10	1285 \pm 10	1280 \pm 10	ср. — с., С. П.
	1410	1405 \pm 10	1405 \pm 10	1414 \pm 4	с. — оч. с., П
Все не кислые формы	1326 \pm 3	1315 \pm 10	1313 \pm 12		ср., П.
	1457 \pm 2	1480 \pm 10	1481 \pm 9		оч. с., С. П.
Щелочные формы, ОН ⁻ , OD ⁻	1326 \pm 3	1341 \pm 4	1342 \pm 3		оч. с., П
Дейтерированные формы	1190 \pm 2	1170 \pm 5	1170 \pm 5	1172	сл. — ср.

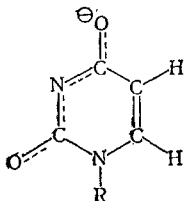
* Спектры нейтральных растворов отсутствуют.

** Спектры нейтральных и основных растворов отсутствуют.

1300 см^{-1} . Линия при 1340 см^{-1} принадлежит остатку урацила, а при 1300 см^{-1} — цитозину. В области 800—650 см^{-1} также находятся линии, характерные для определенных оснований. Линия вблизи 720 см^{-1} обусловлена, главным образом, колебаниями аденина, линия при 675 см^{-1} принадлежит гуанину, а при 785 см^{-1} — урацилу и цитозину. При дейтерировании эти линии смещаются незначительно.

2. Таутомерные формы оснований

В растворе основания могут существовать в различных таутомерных формах. Например, гуанин и его 9-N замещенные производные могут существовать в нейтральном растворе либо в кето-, либо в енольной формах, как это показано ниже:



В спектрах КР гуанина в воде линия при 1680 см^{-1} (1670 см^{-1} в D_2O) очень широкая и сильно поляризована⁹. Она отнесена к валентному колебанию $\text{C}=\text{O}$ -группы. Кетонная структура в этом случае преобладает, поскольку если бы производные гуанина существовали в растворе в енольной форме, валентное колебание $\text{C}=\text{O}$ -группы не было бы обнаружено. Если бы преобладал имино-таутомер, линию при 1680 см^{-1} надо было бы отнести к валентному колебанию $\text{C}=\text{NH}$ -группы, которое обычно не имеет такой высокой частоты и, кроме того, должно давать большее смещение полосы при изотопном замещении, чем обнаруженное смещение на 10 см^{-1} .

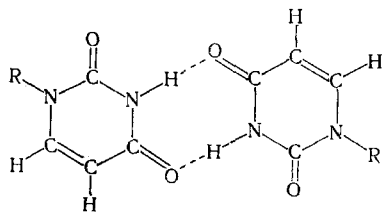
Более детальное изучение было проведено на производных гипоксантина¹¹. Для определения таутомера, присутствующего в водном растворе инозина, его спектры КР были сопоставлены со спектрами 1-метилюинозина (кетоаналог) и 6-метоксипурина (енольный аналог). В спектрах 1-метилюинозина наблюдались интенсивные линии при 1684 , 1585 , 1555 и 1512 см^{-1} , а в спектрах 6-метоксипурина — только две линии в этой области: при 1586 и 1508 см^{-1} . В спектре инозина наблюдаются четыре линии при 1684 , 1585 , 1555 и 1512 см^{-1} , и линия при 1684 см^{-1} может быть использована для идентификации кетонной формы. По-видимому, таутомерное равновесие практически полностью сдвинуто в сторону кетонной формы.

3. Влияние pH на структуру оснований

Область валентных колебаний двойных связей ($1500\text{--}1800\text{ см}^{-1}$) в спектрах КР рассматриваемых оснований особенно полезна для анализа, так как наблюдаемые здесь линии очень интенсивны. При этом частоты колебаний зависят от структурных изменений, вызванных изменением pH. Присоединение атома водорода к ядру вызывает повышение частоты валентных колебаний двойных связей и, наоборот, удаление протона из свободного основания — понижение частоты. В спектрах КР могут быть найдены частоты, которые чувствительны к различным структурам, реализующимся в нейтральных, кислых или основных растворах. Характерные линии, отвечающие различным структурам, приведены в табл. 5⁹. Например, урацил имеет три двойных связи, валентные колебания которых дают интенсивные линии в спектре КР. Для раствора в D_2O интенсивные линии при 1690 ± 10 , 1658 ± 5 и вблизи 1620 см^{-1} должны быть отнесены исключительно к валентным колебаниям двойных связей в урациле и его 1-N производных. Линия при 1690 см^{-1} отнесена, главным образом, к валентному колебанию несопряженной карбонильной группы у $\text{C}(2)$, линия при 1658 см^{-1} — к валентному колебанию со-

пряженной карбонильной группы у С(4) и линия вблизи 1620 см^{-1} — к валентному колебанию связи $\text{C}=\text{C}$ в кольце⁹. При понижении рD среды вследствие присоединения дейтерия (по-видимому, в 1-N положение кольца) частоты валентных колебаний карбонильных групп у С(2) и С(4) урацила возрастают. В водных растворах можно наблюдать только два разных колебания карбонильных групп: очень широкую линию при 1680 см^{-1} и плечо при 1635 см^{-1} . Это подтверждает наличие взаимодействия валентных колебаний $\text{C}=\text{O}$ и деформационных колебаний 3-NH-групп.

В основных растворах депротонирование, которое должно проходить в урациле из 3-N положения, приводит к анионной структуре типа

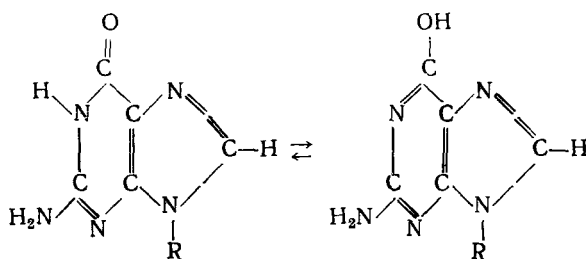


с высокой степенью делокализации π -электронов. В щелочных растворах (NaOH и NaOD) все частоты колебаний двойных связей уменьшаются. Для всех производных урацила (кроме метилурацила) наблюдаются линии при 1640 ± 5 , 1600 и 1505 см^{-1} . Они отвечают колебаниям групп $\text{C}=\text{O}$ и $\text{O}-\text{C}-\text{N}-\text{C}-\text{O}$ анионной формы урацила. Как и ожидалось, подобные спектральные изменения в основных растворах 1,3-диметилурацила не происходят⁹.

При переходе от нейтрального раствора к кислому происходит характерное смещение линий в области $1300-1200\text{ см}^{-1}$ в сторону низких частот в спектрах КР всех производных цитозина. Для линий в области частот выше 1500 см^{-1} тенденция носит противоположный характер. Колебания, частоты которых лежат в области $1300-1200\text{ см}^{-1}$, большей частью относятся к колебаниям ординарных связей, а подкисление приводит к локализации π -электронов и «фиксированию» двойных и ординарных связей в кольце; поэтому частоты колебаний в рассматриваемой области должны уменьшаться вследствие уменьшения степени двоесвязанности для этих связей.

4. Структура оснований в твердом состоянии

Спектры КР оснований должны быть полезны при изучении типов ассоциативных взаимодействий, которые влияют на частоты колебаний в твердом состоянии. У производных урацила, цитозина и аденина в твердом состоянии имеются сильные водородные связи. Значительные различия наблюдаются между спектрами КР кристаллического 1-метил-3-дейтероурацила и его раствора в D_2O , где межмолекулярное колебательное взаимодействие минимально. В ИК-спектрах и в спектрах КР кристаллических 1-N замещенных производных урацила наблюдается большое число несовпадающих частот⁹. Это предполагает присутствие центрально-симметричного димера с симметричными (КР) и антисимметричными (ИК) взаимодействующими колебаниями мономеров. Антисимметричные колебания должны быть активными только в ИК-спектрах, тогда как симметричные — в спектрах КР; предполагаемая структура димера имеет вид



Однако между спектрами КР и ИК-спектрами кристаллических производных аденина и цитозина нет таких значительных различий, поэтому отсутствуют доказательства образования centrosymmetric комплексов в этих кристаллах, хотя также имеет место образование ассоциатов с участием сильных водородных связей. Были получены низкочастотные спектры КР и ИК-спектры кристаллов урацила и аденина¹². Частоты валентных колебаний водородных связей в этих кристаллах лежат в области $125\text{--}70\text{ см}^{-1}$ и проявляются в виде слабых полос в спектре КР, тогда как неплоские молекулярные колебания достаточно сильны.

5. Образование пар оснований

Изучение взаимодействий между мономерными компонентами нуклеиновых кислот является необходимым этапом при определении химических и физических критериев стабильности и специфичности спаривания оснований двухспиральных нуклеиновых кислот. Лорд и Томас¹³ изучали спектры КР водных растворов смесей гуанозин-5'-фосфата, аденозин-5'-уридина и цитидина. Наблюдаемый спектр смеси почти совпадает с суммарным спектром компонентов. Отсутствие изменений в спектре означает, что между основаниями не имеется водородных связей. Результаты исследований методом ЯМР показывают, что циклы оснований располагаются между собой параллельно, один над другим («вертикальная упаковка»). Отсутствие изменений спектра КР в области $1750\text{--}1450\text{ см}^{-1}$ предполагает, что такая вертикальная упаковка не сопровождается заметным образованием пар оснований. По-видимому, энергия стабилизации обеспечивается иными силами, чем те, которые возникают при образовании связанных водородными связями пар оснований. Из этого следует, что необходимым условием спаривания оснований в водном растворе является геометрическое ограничение, налагаемое на основание при его присоединении к сахар-фосфатному скелету полимера.

6. Образование комплексов с ионами тяжелых металлов

Для определения природы комплекса между ионами тяжелых металлов и нуклеотидами проведено исследование системы цитидин — HgCl_2 в воде методом спектроскопии КР¹³. Растворимость комплексов аденина, гуанина и инозина низка, что мешает получению хороших спектров КР. Предполагают, что связывание Hg^{2+} происходит по положению 3-N в кольце, так как происходящие при этом изменения в спектре КР аналогичны изменениям при протонировании цитидина по положению 3-N. Ион металла находится скорее в форме Hg^{2+} , чем в форме HgCl^+ или HgCl_2 , так как интенсивность линии при 322 см^{-1} в спектре HgCl_2 в присутствии цитидина значительно уменьшается.

Количество прореагировавшей Hg(II) примерно равно количеству исходного цитидина, т. е. комплекс имеет состав 1 : 1. Кажущаяся константа равновесия $K_1 = (50 \pm 20) \cdot 10^{-2}\text{ М}$; большой разброс значений

обусловлен трудностями проведения точных измерений интенсивности в спектрах КР в столь разбавленных растворах.

Производные урацила не взаимодействуют с HgCl_2 даже при пятикратном избытке соли; это согласуется с выводом о том, что сильное связывание происходит предпочтительно по атому азота при ненасыщенной связи¹³. Аналогичные исследования методом спектроскопии КР водных растворов цитидина и уридина в присутствии ZnCl_2 , ZnSO_4 , CdCl_2 , CuSO_4 и MgCl_2 не выявили каких-либо спектральных изменений, которые указывали бы на взаимодействие с этими ионами¹³.

7. Нуклеозиды и нуклеотиды

Поскольку остаток рибозы дает слабые линии КР, спектры нуклеозидов по существу такие же, как и спектры оснований. Описаны спектры D-рибозы⁹ и дезоксирибозы¹⁴, в которых наблюдались только очень сла-

ТАБЛИЦА 9

Частоты колебаний и их отнесение в спектрах КР рибозо-5-фосфата

Частота, см^{-1}			Отнесение для рибозо-5-фосфата	Частота, см^{-1}			Отнесение для рибозо-5-фосфата
рибозо-5-фосфат	рибоза	диметил-фосфат		рибозо-5-фосфат	рибоза	диметил-фосфат	
505	421		рибоза	981	968		O—P=O ⁻ сим. вал.
546	464			1050	1012	1040	
575	548			1086	1052	1056	
	588					1085	
	601		рибоза		1083		O—P—O сим. вал.
	650			1140	1125		
720	680				1159		
	729					1196	
806	798	759	O—P—O сим. вал.			1220	
				1263	1269		рибоза
851	832	816			1325		
902	879			1462	1467		рибоза
930	918						

ТАБЛИЦА 10

Частоты колебаний и их отнесения в спектрах КР дезоксирибозо-5-фосфата

Частота, см^{-1}			Отнесение для дезоксирибозо-5-фосфата	Частота, см^{-1}			Отнесение для дезоксирибозо-5-фосфата
дезоксирибозо-5-фосфат	дезоксирибоза	диметил-фосфат		дезоксирибозо-5-фосфат	дезоксирибоза	диметил-фосфат	
504	392		—O—P—O сим. вал.	980	984		дезоксирибоза
	422			1007	1009		дезоксирибоза
	510				1047	1040	
	560				1081	1056	
	619			1087		1085	O—P=O ⁻ сим. вал.
	643						
	676				1119		
	719				1142		
804	756		—O—P—O сим. вал.	1190	1190	1196	фосфат. гр.; дезоксирибоза
	802	759				1220	
					1270		
	817	816		1365	1325		дезоксирибоза
921	869		дезоксирибоза		1358		
	897				1388		
					1446		
	919			1463	1459		дезоксирибоза

бые линии по сравнению с линиями, соответствующими колебаниям циклов оснований. Наблюдаемые частоты колебаний представлены в табл. 9 и 10¹⁴. Слабая линия при 1465 см^{-1} появляется в спектрах КР всех нуклеозидов и нуклеотидов и, по-видимому, принадлежит колебанию остатка сахара.

Значительные различия обнаружены в спектрах аденозин-5'-монофосфата АМФ-5 и аденозин-3'-монофосфата АМФ-3, что может быть связано с чувствительностью колебательного спектра к месту положения

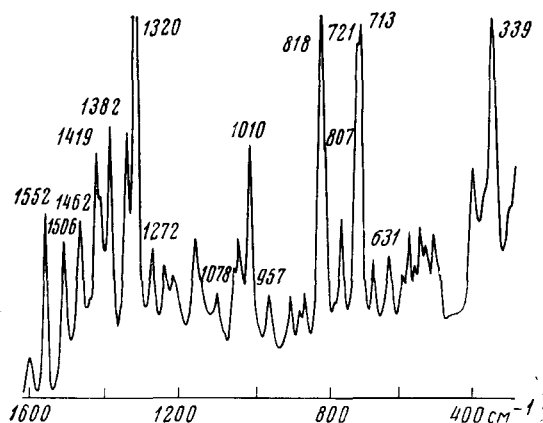


Рис. 7. Спектр КР свободной кислоты аденозин-5'-монофосфата в твердом состоянии

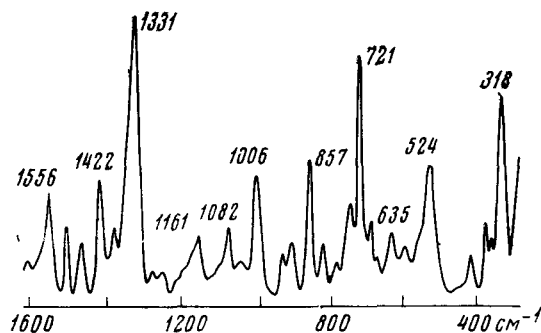


Рис. 8. Спектр КР свободной кислоты аденозин-3'-монофосфата в твердом состоянии

заместителя остатка сахара¹⁵ (см. рис. 7 и 8). В спектре АМФ-5' наблюдается две линии аденина при 1320 и 1342 см^{-1} , тогда как в спектре АМФ-3' одна линия при 1331 см^{-1} . Интенсивность линии при 957 см^{-1} в спектре АМФ-5' уменьшается, и появляется новая линия при 930 см^{-1} в спектре АМФ-3'¹⁵.

Предполагали, что гуанозин-5'-монофосфат может образовывать спираль за счет водородных связей. Когда получили спектры КР этого соединения при различных температурах, то обнаружили, что линии гуанина при 1325 , 1370 , 1490 и 1580 см^{-1} показывают сильный гипохромный эффект при образовании геля; это связали с межплоскостным «стэкинг» взаимодействием¹⁴. При аналогичных исследованиях дезоксигуанозин-5'-монофосфата не обнаружили значительных изменений в спектрах КР, что позволило сделать вывод, что 2'-ОН-группа выполняет стабилизирующую роль в агрегатах гуанозин-5'-монофосфата¹⁴.

Спектры КР нуклеозидов и нуклеотидов при заданных рН или рD имеют одинаковый вид, за исключением линии при 980 см^{-1} и очень слабой линии вблизи 1100 см^{-1} ¹⁵. Эти линии отнесены к симметричному и вырожденному валентным колебаниям группы PO_2 . Ион $(\text{ROPO}_2\text{OH})^-$ не дает заметных линий в спектре КР.

Изучали спектры КР трех аденозинфосфатов: аденозинмонофосфата (АМФ), аденозиндифосфата (АДФ) и аденозинтрифосфата (АТФ) в зависимости от рН¹⁶. Сопоставление спектров, приведенных на рис. 9, показывает, что указанные соединения могут быть легко различимы по интенсивности, частоте и контуру линий в области 1125 см^{-1} ¹⁶. Кроме того, аденозиндифосфат имеет линию при 710 см^{-1} , а аденозинтрифосфат — при 680 см^{-1} , тогда как аденозинмонофосфат не имеет линий в этой области спектра. Из табл. 11¹⁶, в которой указаны частоты колеба-

ний в зависимости от pH, следует, что линии при 817 и 1082 см^{-1} связаны с протонированной формой $(\text{PO}_2)\text{OH}$, тогда как линии при 882, 980 и 1005 см^{-1} соответствуют ионизованной форме PO_3 . Сильно поляризованные линии КР 980 и 1082 см^{-1} могут быть отнесены к симметричным валентным колебаниям связи PO в ионизованной и протонированной формах¹⁶. В спектрах КР аденозиндифосфата и аденозинтрифосфата линии, обусловленные ионизованной формой, появляются при 1108 и 1126 см^{-1} соответственно, а в случае протонированной формы — при 1090 и 1112 см^{-1} .

Две сильно поляризованные полосы в спектре аденозинмонофосфата при 980 и 1082 см^{-1} , появляющиеся при pH ниже и выше значения pK, соответственно отнесены к симметричным валентным колебаниям PO-группы ионизованной формы PO_3 (980 см^{-1}) и протонированной формы $(\text{PO}_2)\text{OH}$ (1082 см^{-1}). В полифосфатах рассматриваемые колебания должны взаимодействовать, что приведет к изменению частоты. В спектре КР аденозиндифосфата эти два поляризованные колебания наблюдаются при 1108 и 1090 см^{-1} , причем низкочастотная линия отнесена к полностью ионизованной форме. Аналогичные линии в спектре аденозинтрифосфата появляются соответственно при 1126 и 1112 см^{-1} . В спектрах поляризованных форм смещение линии симметричных колебаний фосфата уменьшается от 100 см^{-1} для моно- до 18 см^{-1} для ди- и до 13 см^{-1} для трифосфата. Такое изменение совпадает с изменением степени колебательного взаимодействия в зависимости от числа последовательно соединенных фосфатных групп¹⁶.

Линия при 1125 см^{-1} в спектре АТФ была использована для изучения взаимодействия Ca^{2+} и Mg^{2+} с трифосфатом в водных растворах с различными pH¹⁷. В спектрах водных растворов эта линия непрерывно смещается в зависимости от pH.

В растворах Na_2 -трифосфата (концентрационная зависимость не наблюдалась) четко проявляется изменение спектра, заключающееся в смещении линии при 1125 см^{-1} , в области pH, где диссоциирует второй протон. Значение кажущейся константы диссоциации кислоты (pK) согласуется со значениями, измеренными другими методами. С помощью метода КР были получены сходные кривые титрования для Ca^{2+} и Mg^{2+} . Однако для эквимоллярных растворов двухвалентных катионов при увеличении концентрации было замечено заметное уменьшение ширины перехода. Этот результат указывает на кооперативный эффект, включающий взаимодействия между ионами аденозинтрифосфата и двухвалент-

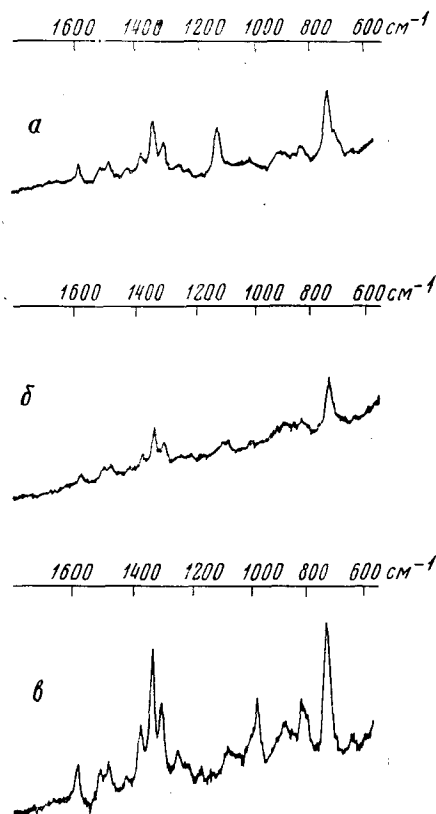


Рис. 9. Спектры КР АТФ, АДФ и АМФ: а) спектр АТФ, pH 6, концентрация 0,5 М; б) спектр АДФ, pH 6, концентрация 0,5 М; в) спектр АМФ, pH 6; концентрация 0,5 М

ТАБЛИЦА 11

Частоты колебаний фосфатной группы (см^{-1})

АМФ		АДФ		АТФ	
pH 5,5	pH 7,5	pH 5,5	pH 7,5	pH 5,5	pH 7,5
817 ^а	817 ^а	826	828	920	в
858	850	860		830	в
	882				
1082 ^д	980 ^г	1108 ^д	1090 ^д	1125 ^д	1112 ^д
100 ^б	1005 ^б	1005		1008	
	1123 ^е				
	1170 ^е	710			
				680 ^ж	

^а — линии более сильные при низких pH; ^б — линии более сильные при высоких pH; ^в — структура линий в этой области изменяется сложным образом от pH; ^г — симметричное валентное колебание PO_2 -группы;

^д — симметричное валентное колебание, включающее колебание O—P—O -группы;

^е — дважды вырожденное антисимметричное валентное колебание PO_2 -группы, расщепляющее при понижении симметрии в молекуле; ^ж — коллективное колебание.

ными катионами. Причем степень взаимодействия с Mg^{2+} меньше, чем с Ca^{2+} . Смещение определенных линий в спектрах КР при комплексообразовании с Mg^{2+} и Ca^{2+} наблюдалось как для диссоциированной, так и для протонированной форм. Полученные результаты имеют значение для биологии в связи с наблюдаемым активирующим влиянием ионов Ca^{2+} на АТФазную активность миозина¹⁷.

Б. Синтетические полирибонуклеотиды

1. Полиадениловая кислота (поли-А)

Полиадениловая кислота (поли-А) существует в двух формах — как двойная спираль при $\text{pH} < 6$ и как упорядоченная односпиральная конформация при высоких pH, ее строение широко изучалось с помощью спектроскопии КР^{15, 18–19}. Спектр КР поли-А в твердом состоянии в односпиральной форме изображен на рис. 10¹⁵. Рассматриваемый спектр очень похож на спектры других производных аденина и, как показано в табл. 12, имеет интенсивные линии аденинового цикла при 1335 и 725 см^{-1} . При растворении поли-А в воде большинство линий в спектре не смещается, исключая линию при 795 см^{-1} , которая смещается до 811 см^{-1} . Если водный раствор нагреть от 20 до 80°С, цепь переходит в конформацию с разрушенными межплоскостными взаимодействиями; эти изменения отражаются в существенном снижении интенсивности линий при 725, 1252, 1303, 1326, 1424 и 1500 см^{-1} ¹⁸.

Кривая плавления двойной спирали показывает, что плавление происходит некооперативным образом⁵. Спектр КР поли-А при 80°С приближается к спектру КР аденозинмонофосфата при 20°С (рис. 11). Гипохромные эффекты в спектре поли-А неоднократно изучались^{15, 18, 20}. Попытка теоретического объяснения гипохромного эффекта в спектрах КР была предпринята Петиколасом на основании теории интенсивностей²¹, но так как в теории используются бесконечные суммы по всем возбужденным состояниям, она не позволяет проводить количественные

ТАБЛИЦА 12

Частоты колебаний в спектрах КР поли-А и ее производных

Частота, см ⁻¹					Отнесение
поли-А (тверд. сост.)	поли-А (ИК)	аденин (тверд. сост.)	аденозин (тверд. сост.)	дезоксаденозин (тверд. сост.)	
	1644 оч. с.				
1578 ср.	1598 с.	1600	1600	1613 оч. сл.	цикл
	1571 с.		1575	1570	цикл
		1530			
1500 сл.	1500 сл.		1510		остаток сахара
1480 сл.	1472 ср.	1485	1480	1480 ср.	цикл
	1452	1462		1448 оч. сл.	
1415 сл.	1414 ср.		1420	1415 сл.	остаток сахара
			1388	1390 ср.	
1371 ср.	1366 сл.	1370	1375	1379 ср.	цикл
				1349 оч. с.	
1355 оч. с.	1326 ср.	1332	1335		цикл
				1324 сл.	
1309 с.		1312	1306	1302 ср.	цикл
	1294 ср.		1275		
1254 ср.		1252	1248	1250 ср.	цикл, C—NH ₂ вал.
	1238 с.				фосфат. O—P—O ⁻
1213 сл.			1215		антисим. вал.
				1198 оч. сл.	остаток сахара
			1180	1191 оч. сл.	
1172 оч. сл.	1166 сл.		1132	1176 оч. сл.	
	1125 ср.	1130			
1093 ср.				1112 оч. сл.	фосфат. O—P—O ⁻
					сим. вал.
1033 оч. сл.	1000—1100 с.		1037	1067 сл.	остаток сахара
		1025			C—O вал.
1006 сл.			1013	1014 сл.	остаток сахара
	990 ср.		988		
964 оч. сл.					
	925 сл.	945		949 сл.	
	924 сл.		912	911 сл.	
907 сл.	905 сл.	900			
876 сл.					
853 оч. сл.	858 сл.		846	849 сл.	
815 сл.	814 сл.	820	825	811 сл.	
795 ср.	790 сл.			795 сл.	
			763	756 с.	
				741 с.	
725 оч. с.	717 сл.	725	723		цикл
				698 оч. сл.	
				662 сл.	
635 сл.	638 сл.	620	640	639 оч. сл.	остаток сахара
583 оч. сл.			587		
564 сл.				568 оч. сл.	
532 сл.	530 сл.	535	537	535 оч. сл.	
				500 оч. сл.	
456 оч. сл.			414		
				416 сл.	
				379 сл.	
				351 ср.	
		334		335 с.	
318 сл.			320		
			290	298 сл.	
			275		

ТАБЛИЦА 12 (продолжение)

Частота, см^{-1}					Отнесение
поли-А (тверд. сост.)	поли-А (ИК)	аденин (тверд. сост.)	аденозин (тверд. сост.)	дезоксиаденозин (тверд. сост.)	
248 сл.			23 230 113	237 сл. 150 сл.	
		130			

предсказания. Недавно была предложена упрощенная процедура, позволяющая давать качественные предсказания²⁰.

Спектр КР двухспиральной поли-А показан на рис. 12. Он подобен спектру КР протонированной формы аденозин-5'-монофосфата. Изменения спектра согласуются с предположением, что протонирование происходит в положении N₁. Однако спектральные характеристики не могут быть связаны с образованием водородных связей между основаниями, как это было найдено для нуклеотидов.

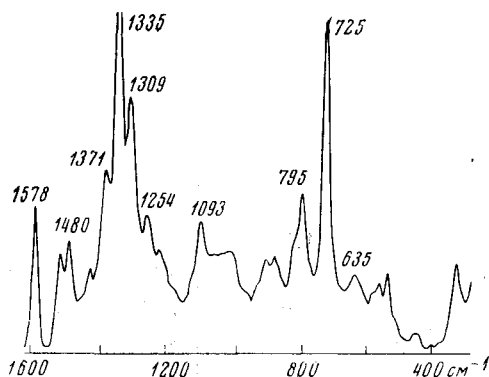


Рис. 10

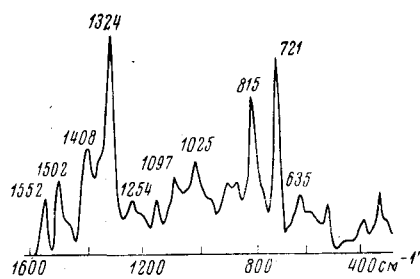


Рис. 12

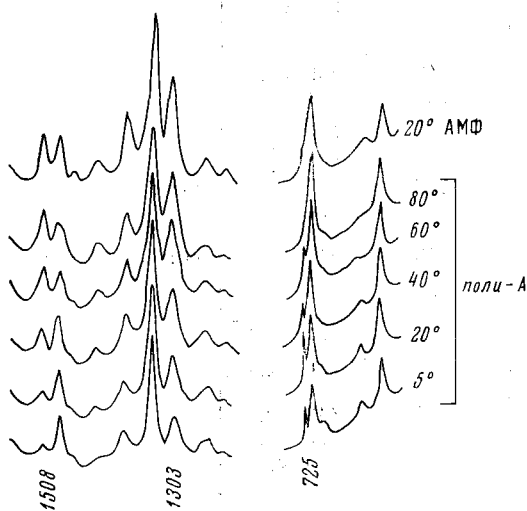


Рис. 11

Рис. 10. Спектр КР калиевой соли полиадениловой кислоты в твердом состоянии

Рис. 11. Температурная зависимость спектра КР полиадениловой кислоты

Рис. 12. Спектр КР двойной спирали полиадениловой кислоты в твердом состоянии

2. Полицитидиловая кислота (поли-Ц)

Спектр КР поли-Ц изображен на рис. 13, а частоты колебаний сопоставлены с частотами колебаний некоторых производных цитозина в табл. 13²². Частоты колебаний цикла 1645, 1606, 1524, 1364, 1287, 1243, 987 и 789 см^{-1} являются общими в сравниваемых спектрах. Спектр КР поли-Ц в водном растворе, изображенный на рис. 14, очень сходен со спектром КР твердой поли-Ц. Смещение линии при 1243 см^{-1} в спектре цитозин-5'-монофосфата до 1254 см^{-1} в спектре поли-Ц может быть обусловлено «стэйкинг»-взаимодействием между основаниями, водородной

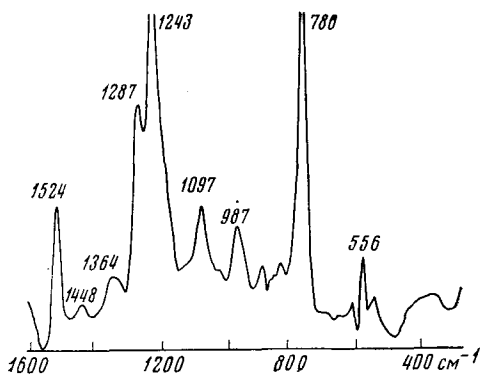


Рис. 13

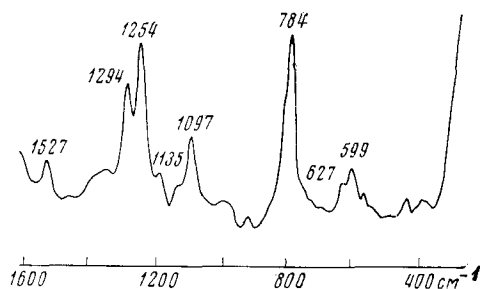


Рис. 14

Рис. 13. Спектр КР калиевой соли полицитидиловой кислоты в твердом состоянии

Рис. 14. Спектр КР водного раствора калиевой соли полицитидиловой кислоты; pH 7,0 (20% по весу)

Рис. 15. Спектр КР насыщенного водного раствора полицитидиловой кислоты, pH 3,5

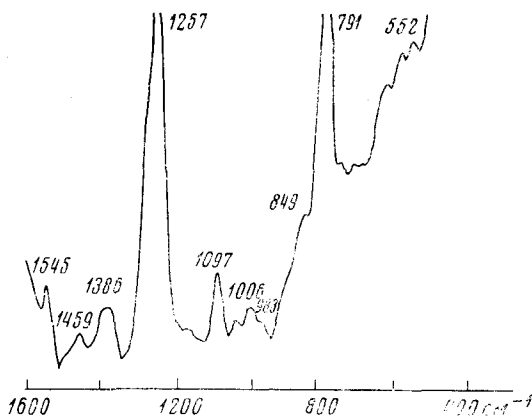


Рис. 15

связью или конформационным изменением остатка сахара. При понижении pH поли-Ц образует полупротонированный комплекс, при этом спектры КР изменяются (рис. 15). Линия при 1379 см^{-1} смещается до 1364 см^{-1} при pH 5,5 и до 1386 см^{-1} при pH 3,5. Последняя частота почти равна частоте протонированного основания в спектрах КР мононуклеотидов. При образовании двойной спирали при pH 5,5 линия при 1294 см^{-1} смещается до 1283 см^{-1} . Такое изменение спектра является признаком образования двойной спирали²².

ТАБЛИЦА 13

Частоты колебаний в спектрах КР поли-Ц и ее производных

Частота, см ⁻¹					Отнесение
цитозин	цитидин (тверд. сост.)	дезоксцитидин (тверд. сост.)	дезоксцитидин-5'- фосфат	поли-Ц (тверд. сост.)	
		212 оч. сл. 224 оч. сл.			
		274 оч. сл. 306 оч. сл.		241 оч. сл.	
	300 316		302 оч. сл.		
		347 оч. сл. 359 оч. сл. 383 оч. сл.			
420	408	399 оч. сл.	399 сл.		
440	430	424 оч. сл. 440 оч. сл.	420 оч. сл. 440 оч. сл.		
	467				
		480 оч. сл. 504 оч. сл.	496 оч. сл. 512 оч. сл.		
		536 оч. сл.	532 сл. 540 оч. сл.		
552				556 сл.	цитозин
	565				
603	603	576 оч. сл. 595 сл.	583 сл.		
	630	615 сл. 639 оч. сл. 651 оч. сл. 670 оч. сл. 678 оч. сл. 741 оч. сл. 656 оч. сл.	623 сл. 655 оч. сл.	623 оч. сл.	цитозин
794	760		729 оч. сл. 756 оч. сл. 795 оч. сл.	721 оч. сл. 780 оч. сл.	NH ₂ веер. пульсирующее кол. цикла
	790	787 оч. с.			
820	820	818 сл. 842 сл.	811 оч. с.		
850	859	865 оч. сл.	857 оч. сл. 884 оч. сл.	849 сл.	
		899 оч. сл. 934 оч. сл. 945 оч. сл. 961 оч. сл. 968 оч. сл. 995 сл.	926 оч. сл.		
965			968 оч. сл. 995 оч. сл.	987 ср.	цитозин
1015	990		1018 оч. сл. 1037 оч. сл. 1063 сл.		C—O вал. C—O вал.
		1037 оч. сл. 1052 оч. сл. 1078 оч. сл. 1097 оч. сл.		1097 ср.	
1110		1127 оч. сл. 1146 оч. сл.	1135 оч. сл. 1149 оч. сл.		CN маятник
1160		1157 оч. сл.	1164 сл.		
	1194	1202 сл. 1220 ср. 1246 с.	1198 оч. сл. 1213 оч. сл.	1198 ср.	
1255	1249			1243 оч. с.	одинарная связь в цикле
	1265		1265 с.		
1278	1292	1287 ср.	1284 оч. сл.	1287 с.	одинарная связь в цикле
		1298 ср.			

ТАБЛИЦА 13 (продолжение)

Частота, см^{-1}					Отнесение
цитозин	цитидин	дезокситидин (тв. сост.)	дезокситидин-5- фосфат	поли-Ц (тв. сост.)	
	1310		1324 оч. сл. 1353 оч. сл. 1386 оч. сл.		одинарная связь в цикле
1366	1370	1375 сл.		1364 сл.	
1415	1400 1438	1422 оч. сл.	1437 сл.		
1465		1451 оч. сл. 1473 сл.	1488 оч. сл.	1448 сл.	
1500	1498		1506 оч. сл.		C=N вал. C=C вал. C ₂ =O вал.
1540	1532	1524 сл.	1549 сл.	1524 ср.	
1575	1600	1592 ол.	1592 оч. сл.	1606 сл.	
1635	1635	1631 сл.	1645 сл.	1645 оч. сл.	
1660	1665	1670 оч. сл.	1681 оч. сл. 1720 оч. сл.		

При нагревании водного раствора поли-Ц от 30 до 80°С линии при 790, 1256 и 1547 см^{-1} проявляют гипохромный эффект¹⁰, (рис. 16), указывающий на разупорядочивание структуры при возрастании температуры.

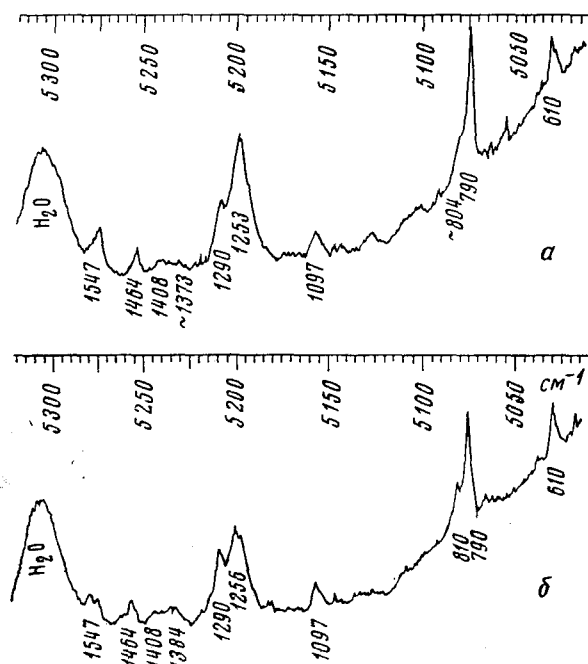


Рис. 16. Спектр КР полицитидиловой кислоты (1,5%) при 30 (а) и 80° (б)

3. Полигуаниловая кислота (поли-Г)

Спектр КР поли-Г изображен на рис. 17²³. Частоты колебаний сопоставлены с соответствующими частотами гуанозинмонофосфата (ГМФ) в табл. 14²³. При переходе от мономера к полимеру значительно смещаются линии при 683, 855, 1091, 1409 и 1478 см^{-1} ¹⁹.

ТАБЛИЦА 14

Спектры КР поли-Г и ее производных

Частота, см^{-1}					
поли-Г, Na^+ (тв. сост.)	ГМФ-5' Na^+ (тв. сост.)	ГМФ-3' (тв. сост.)	2'-д ГМФ-5 (тв. сост.)	2-д ГДФ-5 (раствор)	дезоксигуанин (тв. сост.)
1839 оч. сл.	1720	1684 ср.			1695
1723 оч. сл.					
1702 оч. сл.					
	1677 сл.				
	1620 сл.			1638 ср.	
1578 с.	1574 ср.	1585 оч. с.	1578с.	1578 с.	1585
	1545 оч. сл.	1538 оч. сл.	1527 оч. сл.	1538 сл.	1538
1470 оч. с.	1499 оч. с.	1488 ср.	1480 оч. с.	1488 оч. с.	1495
	1466 ср.				
1419 ср.	1422 ср.	1426 ср.	1415 ср.	1415 ср.	1419
	1412 ср.				
	1371 с.				1364
1360 ср.		1364 оч. с.	1353 с.	1360 с.	1353
1327 с.	1331 с.		1327 с.	1327 с.	1335
	1265 сл.	1287 ср.		1268 сл.	
1179 сл.	1179 ср.	1176 оч. сл.	1179 сл.	1176 сл.	1183
	1149 ср.				
	1131 оч. сл.				
1093 ср.	1101 ср.	1086 оч. сл.	1104 ср.	1082 сл.	1093
	1067 ср.				1071
	1014 сл.	1021 оч. сл.		1025 сл.	
	980 сл.	980 оч. сл.			
888 сл.	899 оч. сл.				
	869 оч. сл.	869 оч. сл.	857 сл.		
	830 сл.				876
818 оч. сл.					
780 оч. сл.	787 сл.	784 оч. сл.	787 оч. сл.		
717 сл.					
686 ср.	694 оч. сл.	686 сл.	690 с.	682 ср.	694
	682 сл.				
583 сл.	591 оч. сл.		583 сл.		595
	579 оч. сл.				
504 сл.	504 оч. сл.		504 сл.	500 сл.	
	460 оч. сл.				
	395 сл.				
	375 сл.				

При охлаждении растворов гуанозин-3'-монофосфата или гуанозин-5'-монофосфата с pH 5 образуется спираль из правильных плоских тетрамеров, расположенных стопкой друг над другом, с направленными в сторону растворителя остатками рибозы и фосфатными группами. В спектре КР такой структуры для 3'-изомера наблюдается сильный гипохромный эффект для колебаний цикла гуанина с частотами 1325, 1370, 1490 и 1580 см^{-1} , который является результатом «стэйкинг»-взаимодействия¹⁴. В спектре КР 5'-изомера появляются новые линии при 620 и 814 см^{-1} .

Поли-Г в разбавленном растворе имеет высоко упорядоченную устойчивую структуру, которая не плавится при температуре ниже 100°C. Сравнение спектра поли-Г со спектром гуанозинмонофосфата, не участвующего в «стэйкинг»-взаимодействии, показывает, что в спектре поли-Г линии, соответствующие колебаниям цикла гуанина, имеют пониженную интенсивность¹⁴. При повышении температуры до 90°C наблюдались незначительные изменения в интенсивности линий. Аналогично измене-

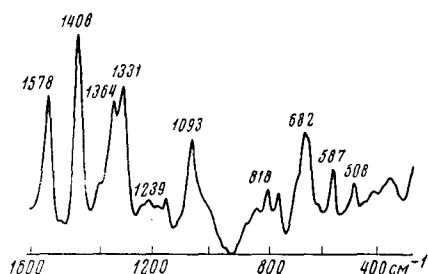


Рис. 17

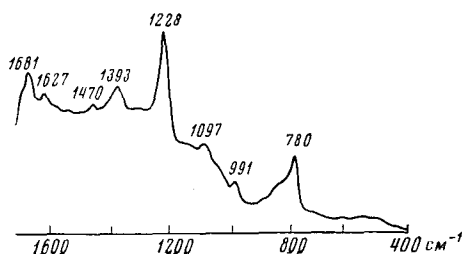


Рис. 18

Рис. 17. Спектр КР водного раствора натриевой соли полигауниловой кислоты, рН 7,0

Рис. 18. Спектр КР полиуридиловой кислоты

ниям в спектре гуанозин-5'-монофосфата при плавлении некоторые линии в спектре КР смещаются. Линия при 819 см^{-1} обусловлена колебаниями фосфата. Предполагается также, что линии в области $670\text{—}690\text{ см}^{-1}$ конформационно чувствительны. В спектре КР родственного полимера поли-А²⁰ интенсивность линии при 722 см^{-1} возрастает при увеличении температуры.

4. Полиуридиловая кислота (поли-У)

Спектр КР поли-У изображен на рис. 18²³, частоты колебаний сопоставлены с соответствующими частотами в спектре уридинмонофосфата (2', 3') в табл. 15, видно, что многие частоты колебаний цикла в спектрах мономера и полимера совпадают¹⁹. При переходе от мономера к полимеру некоторые линии смещаются. Так, линия при 785 см^{-1} в спектре КР мономера смещается до $777\text{—}780\text{ см}^{-1}$ в спектре полимера. Интересно, что степень деполяризации линии 1233 см^{-1} мономера изменяется от 0,51 до 0,24.

При нагревании водного раствора поли-У от 20 до 80°С гипохромный эффект в спектре КР не наблюдается¹⁰. Этого надо было ожидать, поскольку при нагревании поли-У не претерпевает конформационных изменений. Однако в присутствии Mg^{2+} в спектре КР наблюдается гипохромный эффект для линий при 791 , 1236 и 1403 см^{-1} . По мере прибли-

ТАБЛИЦА 15

Спектры КР уридинмонофосфата (2', 3') и поли-У

Частота, см^{-1}		Частота, см^{-1}	
УМФ (2', 3')	поли-У	УМФ (2', 3')	поли-У
533 (1) *	549 (1)	983 (3) [0,7]	
577 (0)	573 (0)	1233 (10) [0,5]	1233 (10) [0,2]
644 (0)	632 (0)	1292 (0)	
785 (6) [0,1] **	777 (7) [0,1]	1402 (2) [0,5]	1384 (3)
878 (1)		1629 (2)	1625 (3)

* Интенсивность по отношению к полосе 1233 см^{-1} , для которой интенсивность принята за 10.

** Степень деполяризации.

жения к температуре перехода структура поли-У сохраняется, а затем внезапно претерпевает конформационное изменение, достигая постоянной степени разупорядоченности¹⁰.

5. Сополимер с чередующимися дезоксиаденозином и дезокситимидином (поли-(дАТ))

Спектры КР поли-(дАТ) синтетической ДНК, включающей чередующиеся остатки дезоксиаденозина и дезокситимидина, были изучены выше и ниже их кооперативного температурного перехода¹⁴. При образовании спирали линии при 733, 1306 и 1485 см^{-1} , отвечающие колебаниям цикла аденина, показывают гипохромный эффект. Заметим, что рассматриваемые линии отличаются по частоте от линий аденина в спектре КР поли-А. Это различие скорее отражает «стэйкинг»-взаимодействие аденина с соседними циклами тимина, чем с другими циклами аденина. Линии тимина, показывающие гипохромный эффект в спектре КР, проявляются при 1186 и 1242 см^{-1} .

В. Спиральные комплексы синтетических полинуклеотидов

1. Поли-(А+У)

Поли-А и поли-У образуют двойную спираль, которая претерпевает переход при 57°С в 2%-ном растворе в нейтральной среде. Спектр КР этого спирального комплекса изображен на рис. 19²³. Спектры КР изучались при температурах выше и ниже точки плавления¹⁴. При образовании спирального комплекса поли-А(А+У) линии аденина при 730,

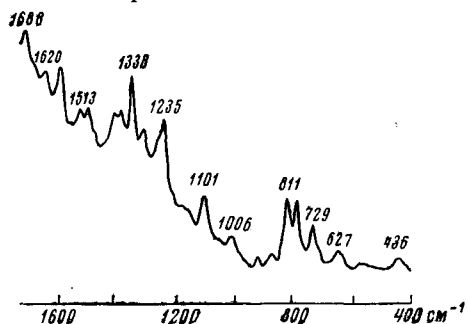


Рис. 19

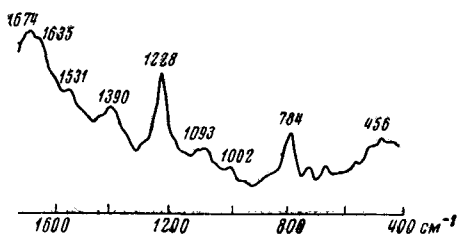


Рис. 20

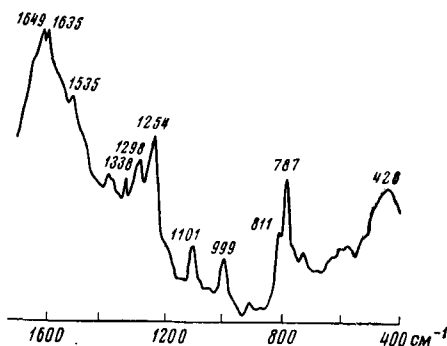


Рис. 21

Рис. 19. Спектр КР комплекса поли-(А+У)

Рис. 20. Спектр КР комплекса поли-(А+2У)

Рис. 21. Спектр КР комплекса поли-(Г+Ц)

1300 и 1500 см^{-1} уменьшаются по интенсивности. Однако уменьшение интенсивности линии при 1510 см^{-1} не такое сильное, как в спектрах КР растворов одноцепочечной поли-А. Гипохромный эффект наблюдается и для линий урацила при 781, 1236 и 1403 см^{-1} в спектре комплекса поли-(А+У). Частоты, указывающие на отсутствие «стэйкинг»-взаимодействий, различны для аденина и урацила в комплексе, и при увеличении температуры можно проследить за поведением каждого из них. В спектре поли-(А+У) наблюдается сильно поляризованная линия при 814 см^{-1} , которая отнесена к симметричному валентному колебанию фосфодиэфирной связи. Эта линия может возникать при особой конформации сахар-фосфатного скелета, и Смолл и Петиколас¹⁴ предположили *гош-гош* конфигурацию связи R—O—P—O—R. В области валентных колебаний групп C=O двойная спираль имеет одну линию при 1681 см^{-1} , которая исчезает при плавлении. Одновременно появляются две новые линии при 1698 и 1660 см^{-1} . Эти линии, вероятно, отвечают валентным колебаниям групп C=O во 2-м и 4-м положениях в урациле. Появление линии при 1660 см^{-1} указывает на разрушение водородных связей между основаниями двойной спирали.

2. Поли(А+2У)

Поли-(А+2У) — комплекс, представляющий собой тройную спираль и образующийся из раствора поли-А и поли-У в отношении 1 : 2 при концентрации MgCl_2 0,01 М. Спектр КР этого комплекса, изображенный на рис. 20, менее четкий, чем спектр КР поли-А — поли-У, но линии при 1473 и 1426 см^{-1} , обусловленные колебаниями аденина, обозначены так же хорошо, как и линии уранила при 1674, 1635 и 1390 см^{-1} . Небольшие различия в частотах в сравнении со спектром КР двойной спирали могут являться следствием различия в образовании водородных связей в тройной спирали.

3. Поли-(Г+Ц)

Устойчивый комплекс поли-(Г+Ц) состава 1 : 1 образуется, когда поли-Г взаимодействует в водном растворе с поли-Ц. Спектр КР этого комплекса в двухспиральной конформации изображен на рис. 21, а частоты колебаний приведены в табл. 16⁹. Наблюдаемые частоты в спектре КР комплекса в значительной степени совпадают с частотами в спектрах КР его составляющих полинуклеотидных цепей. Незначительное смещение некоторых линий в спектре комплекса может быть вызвано образованием водородных связей. Более высокие интенсивности линий при 1649 и 1635 см^{-1} в спектре поли-(Г+Ц) могут отражать более высокую степень разупорядочивания или уменьшение «стэйкинг»-взаимодействия оснований в комплексе в сравнении с полинуклеотидами.

Г. Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)

Были описаны спектры КР ДНК из тимуса теленка в твердом состоянии, в гелях в H_2O и D_2O ²⁴, а также в разбавленных растворах¹⁴.

Кроме того, были изучены спектры КР ДНК из спермы лосося в твердом состоянии, в гелях в H_2O и D_2O , в геле в H_2O в зависимости от рН²⁴. Частоты колебаний в спектре ДНК из тимуса теленка и их отнесения приведены в табл. 17²³. Были идентифицированы характеристические частоты циклов оснований. Спектр ДНК не является простым наложением

спектров оснований. Различия между спектрами двух дезоксирибонуклеиновых кислот (за исключением области $1650\text{--}1700\text{ см}^{-1}$), а также изменения в спектрах КР при переходе от твердого состояния к гелю, относительно небольшие. Соотношение интенсивностей линий при 786 и

ТАБЛИЦА 16

Спектры КР комплекса поли-(Г+Ц)

Частота, см^{-1}		
поли-Г, Na^+ (раствор)	поли-П, K^+ (раствор)	поли-(Г+Ц), (раствор)
359 оч. сл.	359 оч. сл.	
379 оч. сл.	379 оч. сл.	
	428 ср.	428 ср.
440 оч. сл.		
	460 оч. сл.	
508 сл.	496 ср.	
587 сл.		579 оч. сл.
	599 сл.	607 оч. сл.
643 оч. сл.	627 сл.	
	662 сл.	
682 ср.	686 оч. сл.	
709 сл.	717 оч. сл.	
	733 сл.	729 оч. сл.
784 сл.	787 оч. с.	787 сл.
818 сл.	811 с.	811 сл.
861 сл.		867 оч. сл.
	922 сл.	915 оч. сл.
	991 сл.	999 оч. сл.
1025 сл.		
	1048 оч. сл.	1056 оч. сл.
1093 ср.	1101 ср.	1101 сл.
	1161 оч. сл.	
1179 сл.		
	1198 сл.	1191 оч. сл.
1239 сл.	1228 оч. сл.	
1257 сл.	1254 оч. с.	1254 ср.
	1294 ср.	1298 ср.
1331 с.		1338 сл.
1364 с.	1368 оч. сл.	
1408 сл.	1408 оч. сл.	1397 сл.
	1459 оч. сл.	
1480 оч. с.		
1545 оч. сл.	1527 ср.	1535 ср.
1538 с.		
	1613 ср.	
1631 сл.		1635 оч. с.
	1657 оч. сл.	1649 оч. с.
1720 оч. сл.		1688 с.
		1786 оч. сл.

800 см^{-1} при переходе от твердого состояния к гелю в H_2O меняется на обратное²⁴. Тобин считает, что линия при 1090 см^{-1} характерна для спирали ДНК²⁴. Петиколас предположил, что уменьшение интенсивности многих линий, отвечающих колебаниям циклов в спектре ДНК, служит признаком их более упорядоченного расположения «в стопку», чем в более разупорядоченных полирибонуклеотидах. В спектре КР ДНК наблюдается не зависящая от температуры линия при 795 см^{-1} (соответствующая линии при 814 см^{-1} в спектре РНК), и на этом основании Смолл и Петиколас заключили, что изменения, которые появляются в

ТАБЛИЦА 17

Спектры КР ДНК из тимуса теленка

Частота, см^{-1}		Отнесение
раствор H_2O	раствор D_2O	
	500	дезоксирибозо-фосфат
	567	дезоксирибоза
672	662	тимин
683	685	гуанин
730	725	аденин
752	743	тимин
	774	цитозин, тимин
787		O—P—O диэфир, сим. вал., перекрывается полосами цитозина и тимина
		O—P—O диэфир сим. вал.
835	838	дезоксирибозо-фосфат
	871	
895	897	
917	921	дезоксирибоза
975	977	дезоксирибоза
	1000	дезоксирибоза
1017	1015	C—O вал.
1058	1053	C—O вал.
1094	1095	O—P—O ⁻ сим. вал.
1144		дезоксирибозо-фосфат
1180		внешнее основание, C—N вал.
1214		тимин
1226		аденин
1242		тимин
1259		цитозин, аденин
1304	1307	аденин
1320		гуанин
1340	1351	аденин
1378	1382	тимин, аденин, гуанин
1423	1424	аденин, гуанин
1448	1449	дезоксирибоза
1462	1465	дезоксирибоза
1491	1486	гуанин, аденин
	1504	аденин
1514	1524	аденин
1534		гуанин, цитозин
1580	1580	гуанин, аденин
	1621	
	1672	C=O вал.

основной цепи дезоксиспиралей при переходе от упорядоченной формы к неупорядоченной, отличаются от аналогичных изменений для рибонуклеиновых кислот.

Д. Рибонуклеиновая кислота (РНК)

Спектры КР РНК из *Escherichia coli*, полученные для растворов в H_2O и D_2O ¹⁰, изображены на рис. 22, а частоты колебаний и их отнесение приведены в табл. 18. Спектр КР РНК также не является результатом простого наложения спектров КР мононуклеотидов. Изменяется интенсивность некоторых линий при возрастании ионной силы, в частности, линии при 814 см^{-1} . Эта частота была отнесена к колебаниям связи R—O—P—O—R, *гош-гош*-конфигурации, и увеличение интенсивности

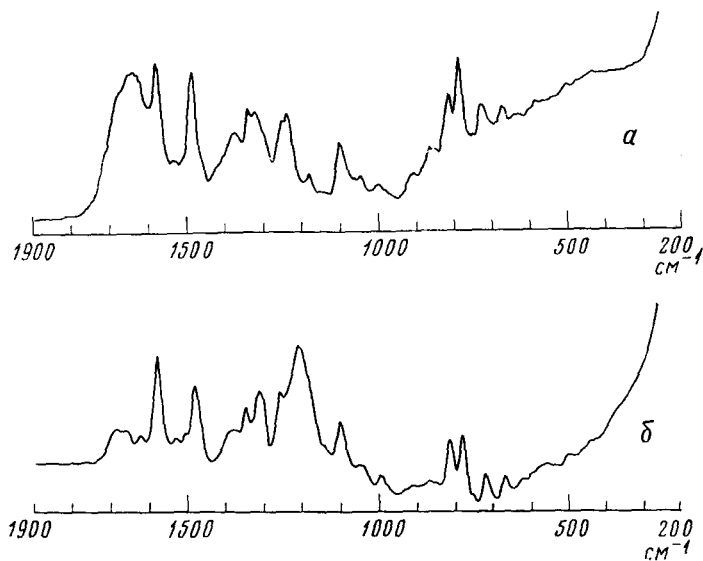
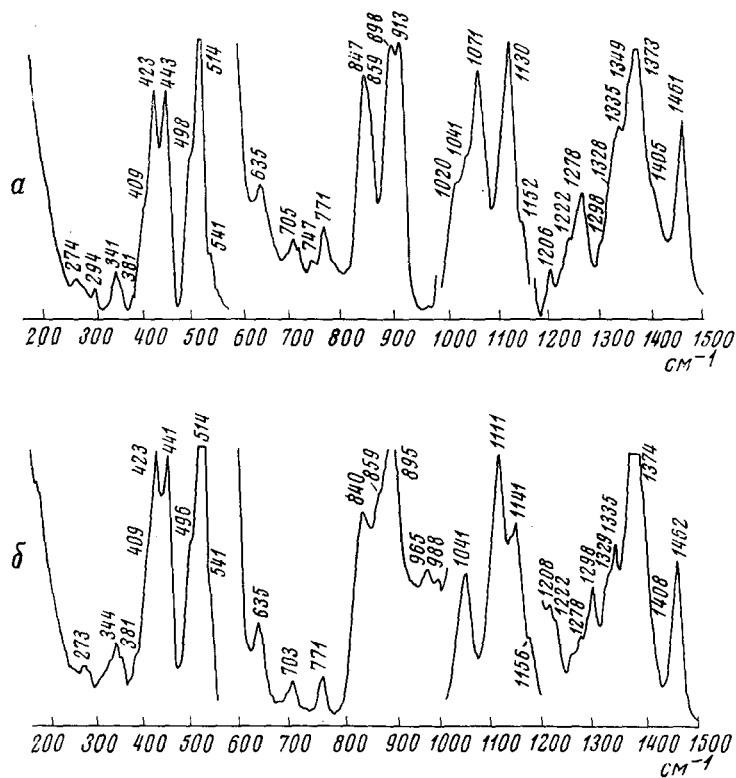


Рис. 22. Спектры КР РНК в H_2O (а) и D_2O (б)Рис. 23. Спектры КР D-глюкозы в растворе: а) H_2O , б) D_2O

ТАБЛИЦА 18

Спектры КР водных растворов РНК

Частота, см^{-1}		Отнесение	
раствор H_2O	раствор D_2O	нуклеотид	вероятная интерпретация
435		У, Ц	
500	498	Г	непл. деф. кол. цикла; $\text{C}=\text{O}$ деф.
580	560	А, У, Г, Ц	
635	625	(А), У, Ц	
670	668	Г	вал. кол. кольца
710	705	Ц	
725	718	А	вал. кол. кольца
	755		
786	780	У, Ц	вал. кол. кольца
814	814	фосф. гр.	 сим. вал. кол.
867	860	А, У, Г, Ц	вал. кол. кольца
918	915	остаток сахара фосф. гр.	$\text{C}-\text{O}$ вал.
975		остаток сахара фосф. гр.	
	990	остаток сахара фосф. гр.	
1003		А, У, Ц	
1049	1045	остаток сахара фосф. гр.	$\text{C}-\text{O}$ вал.
	1090	?	
1100	1100	фосф. гр.	 сим. вал.
	1140	А	
1185	1185	А, У, Г, Ц	цикл. внешнее $\text{C}-\text{N}$ вал.
	1235	А, Ц	
1243		У, Ц	вал. кол. кольца
1255	1257	А, Ц	вал. кол. кольца
1300		Ц	вал. кол. кольца
	1310	А, У, Ц	вал. кол. кольца
1320	1318	А, Г	вал. кол. кольца
1340	1345	У	вал. кол. кольца
	1370	А, Г	
1380		А, У, Г	
	1390	У	
1422		А, Г	вал. кол. кольца
1460	1460	У, Ц	CH деф.
1484	1480	(А), Г	вал. кол. кольца
1510	1503	Ц	
1527	1526	(А), Ц	вал. кол. кольца
	1560	У	
1575	1578	А, Г	вал. кол. кольца
1620	1622		вал. колеб. двойной
1650			связи спаренных и неспаренных
	1658		оснований, главным образом
1692	1688		$\text{C}=\text{O}$ вал.

рассматриваемой линии отражает изменения в этой части молекулы¹⁴. Изменения интенсивностей линий наблюдаются также и в области колебаний двойных связей $1750-1450 \text{ см}^{-1}$. Линия при 1688 см^{-1} возрастает, а линия при 1660 см^{-1} уменьшается по интенсивности. Эти изменения интерпретируются, как результат спаривания оснований аденин — урацил и гуанин — цитозин при уменьшении неспаренных оснований¹⁰.

Частоты спектра КР дрожжевой *t*-РНК¹⁴ приведены в табл. 19. Кривая плавления *t*-РНК наблюдалась по изменению интенсивности линии

ТАБЛИЦА 19

Спектры дрожжевой *t*-РНК

Частота, см^{-1}		Отнесение
раствор H_2O	раствор D_2O	
368		
427		рибоза
507	495	рибозо-фосфат
	548	рибоза
581	571	
601		рибоза
633	664	
670	666	гуанин
727	718	аденин
759	753	
786	777	цитозин, урацил
814	812	O—P—O диэфир, сим. вал.
	841	рибозо-фосфат
869		»
917	913	»
977	981	»
1000	994	
1049	1042	C—O вал.
1101	1101	O—P—O сим. вал.
1132	1140	вал. кол. группы при 2'-положении
		рибозы
1160		рибозо-фосфат
1180		внешнее основание, C—N вал.
1240		урацил
1253	1254	цитозин, аденин
1299	1303	аденин
1323	1313	гуанин
1340	1344	аденин
1374	1370	гуанин, аденин
1419		гуанин, аденин
1466		рибоза
1485	1478	гуанин, аденин
	1503	
1512	1524	аденин
1534		гуанин, цитозин
1576	1578	гуанин, аденин
	1620	
	1655	C=O вал.
	1684	

при 814 см^{-1} . Полученная зависимость показывает, что процесс плавления *t*-РНК является некооперативным¹⁴. По мнению Смолла и Петиколаса, из сравнения спектров ДНК и РНК следует, что гуанин в ДНК испытывает значительно более сильное «стэйкинг»-взаимодействие, чем в РНК. В частности, колебание цикла гуанина появляется при 670 см^{-1} в спектре КР РНК и при 683 см^{-1} — в спектре ДНК.

III. СПЕКТРЫ КР УГЛЕВОДОВ

А. Водные растворы углеводов

Спектры КР α -D-глюкозы*, мальтозы, целлобиозы и декстрана в растворе H_2O и D_2O приведены на рис. 23—26²⁵. В этих спектрах имеются некоторые особенности, которые необходимо отметить. Первая заклю-

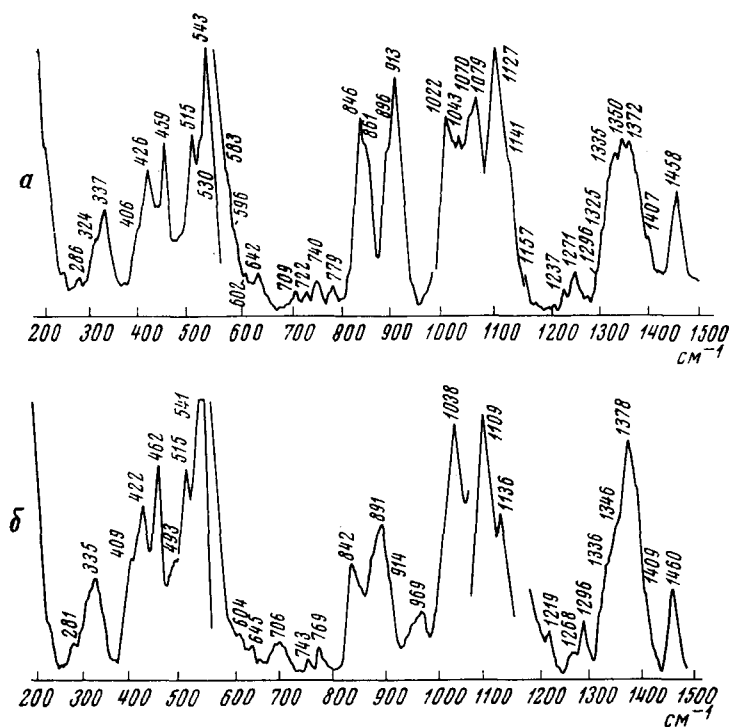
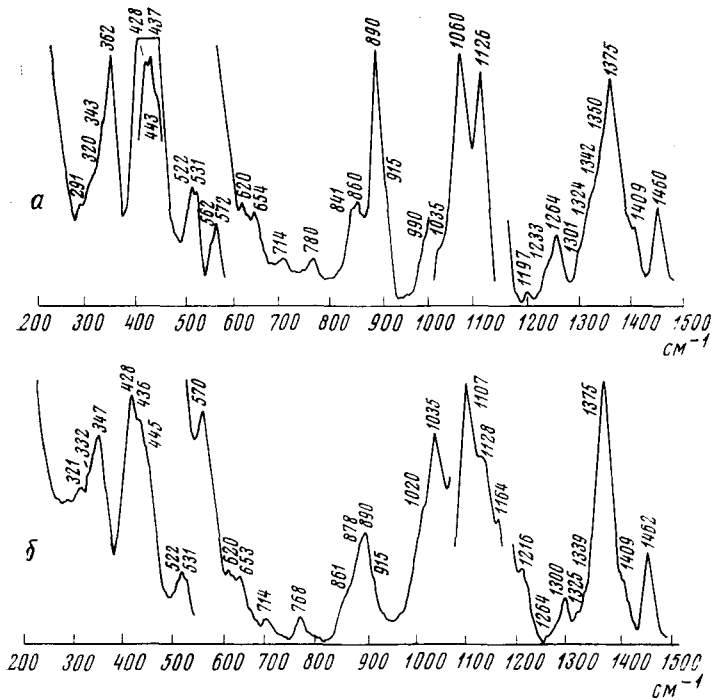
* β -D-Глюкоза (в растворе H_2O и D_2O) также изучалась, но из-за мутаротации в растворе ее спектры КР оказались подобными спектрам α -D-глюкозы.

ТАБЛИЦА 20

Спектры КР углеводов в растворах

Частота, см^{-1}			
D-глюкоза	D-мальтоза	D-целлобиоза	декстран
1461 с.	1458 с.	1460 с.	1462 ср.
1405 пл.	1407 пл.	1409 сл.	1386 пл.
1373 с.	1372 с.	1375 с.	1371 ср.
1349 ср. (пл)	1350 с.	1350 с.	1348 с.
1335 ср. (пл)	1335 с. (пл.)	1342 сл. (пл.)	1337 с.
1328 пл.	1325 пл.	1324 пл.	
1298 сл.	1296 сл.	1301 пл.	1300 сл.
1278 ср.	1271 ср.	1264 ср.	1274 ср.
	1237 сл.	1233 пл.	1229 сл.
1222 пл.			
1206 сл.		1197 сл.	1207 сл.
1152 сл.	1157 пл.		1153 пл.
	1141 пл.		
1130 оч. с.	1127 оч. с.	1126 оч. с.	1136 с.
			1116 сл.
1071 оч. с.	1079 оч. с.	1080 оч. с.	1084 с.
	1070 с.		1066 сл.
1041 сл.	1043 сл.	1035 сл.	1041 сл.
1020 с.	1022 с.	1022 ср.	1022 ср.
		990 пл.	955 сл.
913 с.	913 с.	915 пл.	917 с.
898 с.	896 пл.	890 с.	
859 пл.	861 пл.	860 ср.	
847 с.	846 с.	841 пл.	847 оч. с.
771 ср.	779 ср.	771 ср.	768 ср.
747 сл.	740 ср.		
	722 сл.	714 сл.	
705 ср.	709 сл.		701 ср.
635 ср.	642 сл.	654 с.	656 сл.
		620 сл.	633 сл.
	602 сл.		
	596 пл.		
	583 пл.	572 с.	
		562 пл.	
541 сл.	543 оч. с.		541 оч. с.
	530 пл.	531 с.	
514 оч. с.	515 с.	522 с.	525 с.
498 пл.			
	459 с.		
443 с.		443 пл.	
		437 оч. с.	
423 с.	426 с.	428 оч. с.	
409 пл.	405 пл.		409 с.
381 сл.			379 сл.
		362 с.	
341 ср.	337 с.	343 пл.	343 сл.
	324 пл.	320 пл.	
294 сл.	286 сл.	291 сл.	
274 сл.			

чается в сходстве спектров КР растворов этих четырех углеводов в области $700\text{--}1500\text{ см}^{-1}$. Частоты колебаний, наблюдаемые в спектрах водных растворов углеводов, приведены в табл. 20. Подобие спектров КР в области $700\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ является весьма важным, так как может указывать на аналогию в отношении колебаний в этой области, как в спектрах КР целлюлозы, так и других полимеров D-глюкозы.

Рис. 24. Спектры КР мальтозы в растворе: а) H_2O , б) D_2O Рис. 25. Спектры КР целлобиозы в растворе: в) H_2O , б) D_2O

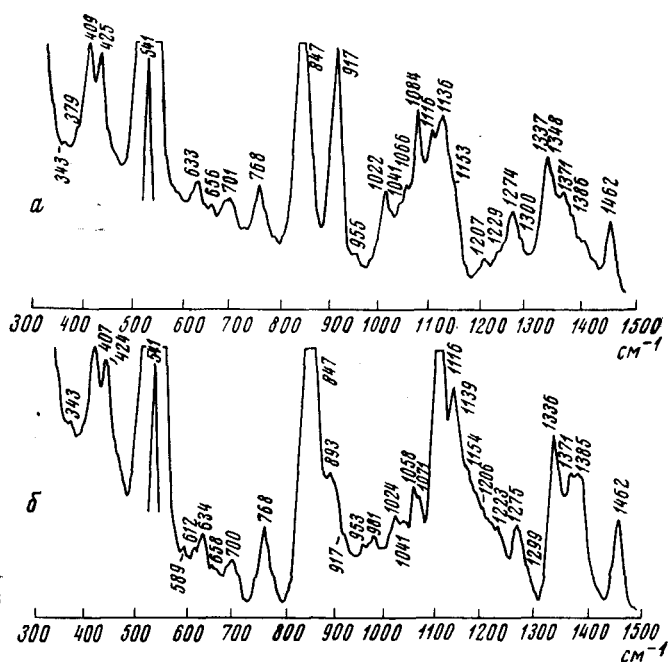


Рис. 26. Спектры КР декстрана в растворе: а) H_2O , б) D_2O

Особенностью области спектра $700\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ является также присутствие линии при 847 см^{-1} в спектре раствора D-глюкозы. Эта линия появляется при 846 , 841 и 847 см^{-1} в спектрах растворов мальтозы, целлобиозы и декстрана соответственно, причем в этих спектрах она сильная, тогда как в спектре целлобиозы — слабая. Такое различие в интенсивности согласуется с различием в количестве α -конфигураций при атоме С (1). D-Глюкоза существует в растворе, как α - и β -аномер в соотношении 3:1. D-мальтоза и декстран имеют α -конфигурацию гликозидной связи. В отличие от них целлобиоза, в спектре КР которой линия при 841 см^{-1} слабая, имеет β -конфигурацию при С(1). Следовательно, линия в области 845 см^{-1} принадлежит колебанию α -аномера. Линия при 890 см^{-1} была отнесена к колебанию β -аномера. Данные автора по изучению спектров растворов не подтверждают такое отнесение. В спектре целлобиозы, которая имеет β -конфигурацию связи при С(1), линия при 890 см^{-1} очень сильная. Однако в спектрах растворов глюкозы и мальтозы также появляется сильная линия при 898 и 896 см^{-1} соответственно. Вероятно, наблюдаемая линия в спектрах глюкозы и мальтозы не имеет таких же структурных объяснений, как и в спектре целлобиозы; тем не менее можно сделать вывод, что линия в области 890 см^{-1} в спектрах КР этих углеводов не является единственной характеристикой β -конфигурации связи при атоме С(1).

В области ниже 700 см^{-1} каждый рассматриваемый углевод имеет определенные особенности (см. спектры на рис. 23—26). Каждому соединению присущи характерные частоты и интенсивности наблюдаемых линий. Поэтому данная область спектра КР может служить для идентификации молекул углеводов в растворе. Это является особенно ценным ввиду трудностей, встречающихся при использовании метода ИК-спектроскопии в рассматриваемой области спектра, особенно для водных растворов.

ТАБЛИЦА 21

Спектры КР α - и β -D-глюкозы

Частота, см^{-1}		Отнесение	Основание для отнесения		
α -D-глюкоза	β -D-глюкоза		дейтерирование	предшествующие работы по углеводам	предшествующие работы по эфирам
1462 ср.	1451	CH_2 деф.	CH_2	CH_2 деф.	CH_2 деф.
1433 ср.	1419 пл.				
1408 сл.	1402 сл.	CH деф.		CH деф.	
1375 ср.	1370 с.				
1346 с.	1350 с.	CON деф.	CON		
1335 ср.	1342 пл.	CH деф.			CH_2 веер
	1320 сл.	CH деф.		CH деф.	
	1309 ср.				
1298 сл.	1295 сл.	CH деф.		CH деф.	CH деф.
	1285 пл.				
1272 ср.	1267 с.	CH_2OH	CH_2OH		
	1257 пл.				
1224 сл.	1224 сл.				
1206 ср.	1206—сл.— ср.	CH_2 крут. или маят.	CH_2		
	1185 оч. сл.				
1153 ср.	1153 сл.	C—O, C—C, C—H деф.	CH	C—O, C—C	C—O, C—C
		C—C			C—C
1124 оч. с.	1130 оч. с.	C—O, C—C			C—O, C—C
1115 с. (пл.)	1119 оч. с.				
	1108 пл.				
	1089 оч. сл.	CON деф.	C—OH		
1076 с.		CON деф.	CON		
		CH деф.	CH		
1054 ср.	1050 с.	C—O, C—C		C—O, C—C	C—O, C—C
		CH деф.	CH		
1022 ср.	1027 сл.	CON деф.	CON		
988 ср.	1002 оч. с.	CH_2 маятн.	CH_2		CH_2 маятн.
	966 пл.				
	940 оч. сл.				
914 с.	914 пл.	CON деф.	CON		
		CH деф.	CH		
897 пл.	902 с.				
	863 сл.				
840 оч. с.	836 сл.	C—O, C—C	CH_2 (1)		C—O, C—C
		CH_2 веер.	α -C конфи- гурац.		
		α -C (1) конфи- гурац.			
	818 оч. сл.				
779 ср.	787 сл.				
743 оч. сл.	739 сл.				
	715 сл.				
704 оч. сл.				низк. частот. кол. цикла	
	680 оч. сл.			низк. частот. кол. цикла	
648 ср.	644 оч. сл.			низк. частот. кол. цикла	
	630 оч. сл.				
601 сл.	591 оч. сл.			низк. частот. кол. цикла	
581 пл.				низк. частот. кол. цикла	
	569				
554 сл.					
542 оч. с.	522 оч. с.				
	494 оч. сл.				
495 пл.	452 ср.				

ТАБЛИЦА 21 (продолжение)

Частота, см^{-1}		Отнесение	Основание для отнесения		
α -D глюкоза	β -D глюкоза		дейтерирование	предшествующие работы по углеводам	предшествующие работы по эфирам
441 ср.					
425 ср.	429 оч. с.				
405 оч. с.	408 оч. с.				
397 сл.					
364 ср.					
	339 сл.				
303 оч. сл.					
291 ср.	299 пл.				
271 оч. сл.	274 сл.				
255 оч. сл.	255 ср.				
233 ср.					
	233 сл.				
205 оч. сл.					
177 оч. сл.					

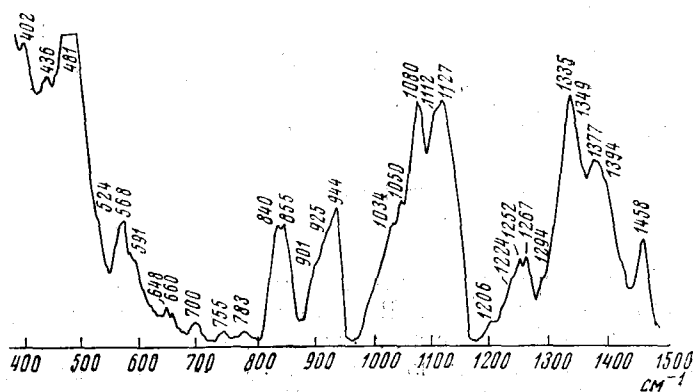
Отнесение многих колебаний можно провести с помощью метода О- и D-изотопозамещения, позволяющего различать колебания групп CON , CH_2 и цикла. Эти отнесения были использованы для расчета нормальных колебаний α -D-глюкозы и приведены в табл. 21²⁶.

Б. Углеводы в твердом состоянии

Спектры КР амилозы, амилопектина, гликогена, декстрана и целлюлозы приведены на рис. 27—31, а частоты колебаний в табл. 22²⁷.

В области $700\text{—}1500\text{ см}^{-1}$ спектры КР этих соединений очень сходны. Это дает основание для использования спектров КР родственных молекул при отнесениях частот в спектрах вышеперечисленных соединений.

При изучении углеводов в растворе появление линии при 847 см^{-1} объяснялось α -конфигурацией связи при атоме C(1). Эта частота в спектрах КР углеводов в твердом состоянии также отнесена к колебанию α -аномера. Рассматриваемая линия появляется при 850, 840, 850,

Рис. 27. Спектр КР амилозы (σ -спиральный V-комплекс)

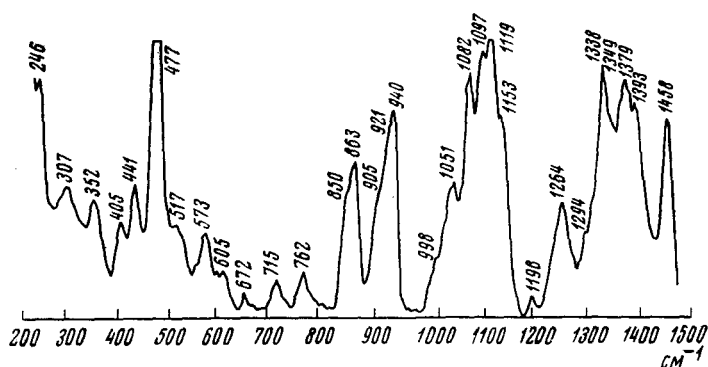


Рис. 28. Спектр КР амилопектина

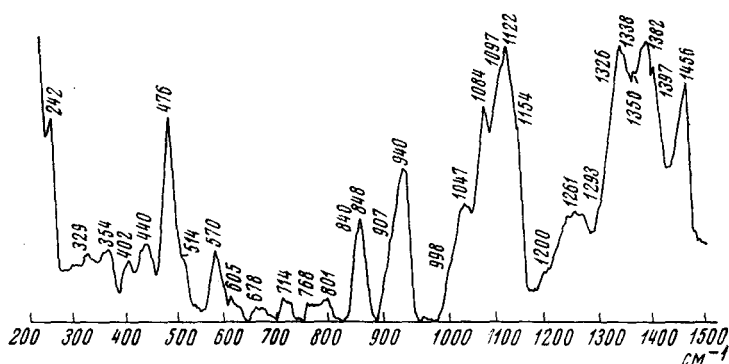


Рис. 29. Спектр КР гликогена

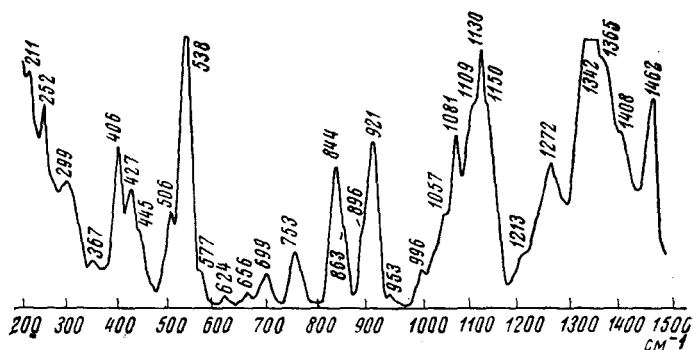


Рис. 30. Спектр КР декстрана

840 и 844 см^{-1} в спектрах D-мальтозы, амилозы, амилопектина, гликогена и декстрана соответственно. Все эти углеводы имеют α -конфигурацию связи при атоме C(1) и в их спектрах проявляется линия в области 840—850 см^{-1} с интенсивностью, изменяющейся от средней до сильной. В спектре КР целлобиозы линия при 840 см^{-1} слабая, а в спектре целлюлозы в этой области линия не появляется. Оба этих соединения имеют β -конфигурацию связи при атоме C(1).

ТАБЛИЦА 22

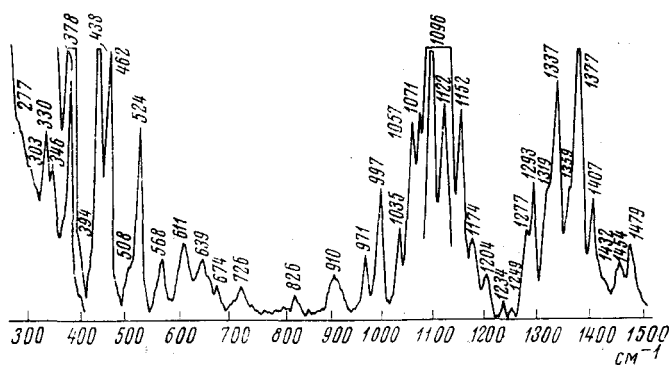
Спектры КР амилозы, амилопектина, гликогена, декстрана и целлюлозы

Частота, см^{-1}					Отнесение
амилоза	амилопектин	гликоген	декстран	целлюлоза	
1458 ср.	1458 с.	1456 с.	1462 с.	1479 ср. 1454 ср. 1432 сл.	СОН деф. CH ₂ деф.
1394 пл. 1377 ср.	1393 сл. 1379 с.	1397 сл. 1382 с.	1408 сл.	1407 ср. 1377 оч. с.	СН деф.
1349 пл. 1335 с.	1349 пл. 1338 с.	1350 пл. 1338 с. (пл.) 1326 с.	1365 с. (пл.) 1342 с.	1359 пл. 1337 с. 1319 пл.	СОН деф. СН деф.
1294 сл.	1294 сл.	1293 сл.	1272 ср.	1293 ср. 1277 ср.	СН деф. CH ₂ ОН CH ₂ ОН
1267 ср. 1252 ср. 1224 оч. сл.	1264 ср.	1261 ср.		1249 оч. сл. 1234 оч. сл.	
1206 сл. 1152 пл.	1198 сл. 1153 пл.	1200 сл. 1154 пл.	1213 сл. 1150 пл.	1204 сл. 1152 с.	СН деф. С—О, С—С, СН деф. С—С
1127 с. 1112 с. (пл.)	1119 с.	1122 с.	1130 с.	1122 с. 1109 с. (пл.) 1096 оч. с.	
1080 с.	1097 с. 1082 с.	1097 с. (пл.) 1084 с.	1081 с.	1071 с. (пл.)	СОН деф. СН деф.
1050 1034 сл.	1050 ср.	1047 ср.	1057 сл.	1057 с. 1035 ср.	С—О, С—С СОН деф.
	998 сл.	998 сл.	996 сл.	997 ср. 971 ср.	CH ₂
944 ср. 925	940 с. 921 ср. (пл.)	940 с.	953 сл. 921 с.		СОН деф., СН деф.
901 ср. 855 ср. 840	905 пл. 863 ср. 850 ср. (пл.)	907 пл. 848 ср. 840	896 пл. 863 пл. 844 с.	910 ср.	С—О, С—С, С—Н деф. α- конфигурация
783		801 сл.		826 сл.	
755	762 ср.	768 сл.	753 ср.		
700 сл.	715 ср.	714 сл.	699 ср.	726 ср.	
660 648	672 сл.	678 сл.	656 624	674 сл. 639 ср.	
591	605 сл.	605 сл.		611 ср.	
568 ср.	573 ср.	570 ср.	577 сл. 538	568 ср.	
524 сл.	517 сл.	514 сл.	506 сл.	524 с. 508 пл.	
481 436 сл. 402 сл.	477 оч. с. 441 ср. 405 сл.	476 с. 440 ср. 402 сл.	445 сл. 406 с.	438 оч. с.	
			367 оч. с.	394 с. 378 с.	С—О—С с β-конфигур.
	352 ср.	354 ср.			

ТАБЛИЦА 22 (продолжение)

Частота, см^{-1}					Отнесение
амилоза	амилопектин	гликоген	декстран	целлюлоза	
				346 ср.	C—O—C с β -конфигур.
	307 ср.	329 сл.	299	330 ср.	
	246	242	252	303	
			211	277	

В спектре КР D-целлобиозы имеется интенсивная линия при 891 см^{-1} , а в спектре целлюлозы — при 910 см^{-1} . Сильная линия при 902 см^{-1} появляется также в спектре β -D-мальтозы и может быть связана с D-конфигурацией связи при аномерном асимметрическом атоме углерода в β -D-мальтозе. Однако в спектрах КР амилозы, амилопектина, гликогена и декстрана, имеющих α -конфигурацию связи, наблюдаются линии при $901, 905, 907$ и 896 см^{-1} соответственно. Вероятно, эта линия в спектрах КР амилозы, амилопектина, гликогена и декстрана не имеет таких же структурных объяснений, как и в спектрах КР целлобиозы и целлюлозы, т. е. линия в области $890\text{—}900 \text{ см}^{-1}$ в спектрах КР рассматриваемых углеводов может быть связана не только с β -конфигурацией связи при атоме C(1).

Рис. 31. Спектр КР целлюлозы (*Valonia ventricosa*)

Хотя спектры в области ниже 700 см^{-1} очень богаты линиями, нельзя сделать однозначных отнесений колебаний. Тем не менее в области ниже 700 см^{-1} каждый углевод характеризуется определенным набором частот и интенсивностей. Такой же результат был получен и для углеводов в растворах. Принимая во внимание трудность изучения ИК-спектров в этой области, для идентификации молекул могут служить спектры КР.

Спектр КР целлобиозы из клеточных стенок *Valonia ventricosa* изображен на рис. 31²⁸. Анализ поляризационных ИК-спектров и спектров КР указывает на *гош*-трансформацию боковой группы CH_2OH .

ДОПОЛНЕНИЕ ПЕРЕВОДЧИКА

Настоящий обзор представляет собой в основном анализ работ, выполненных Кенигом до 1972 г. Несмотря на то, что не все представления автора являются бесспорными и в обзоре отсутствуют работы других авторов, а также работы, появившиеся после 1972 г., мы не считаем целесообразным нарушать целостность обзора и предлагаем читателю дополнительную литературу, собранную по следующим разделам:

1. Аминокислоты ²⁹.
2. Пептиды и полипептиды ³⁰⁻³⁵.
3. Белки ³⁹⁻⁴⁸.
4. Углеводы ^{49, 50}.
5. Нуклеиновые кислоты и полинуклеотиды ^{51, 52}.
6. Липиды и мембраны ⁵³⁻⁵⁶.
7. Биологически активные комплексы ⁵⁷⁻⁶⁰.

ЛИТЕРАТУРА

1. D. Garfinkel, J. T. Edsall, J. Am. Chem. Soc., 80, 3818 (1959).
2. M. C. Tobin, Science, 161, 68 (1968).
3. R. C. Lord, Nai-Teng Yu, J. Mol. Biol., 51, 203 (1970).
4. R. C. Lord, Nai-Teng Yu, J. Mol. Biol., 50, 509 (1970).
5. F. J. Boerio, J. L. Koenig, Macromol. Rev., C7, 209 (1972).
6. J. L. Koenig, B. Frushour, Biopolymers, 12, 2505 (1972).
7. T. Long, T. M. Loehr, J. Am. Chem. Soc., 92, 21 (1970).
8. A. G. Walton, M. J. Deveney, J. L. Koenig, Calc. Tissue Res., 6, 162 (1970).
9. R. C. Lord, H. J. Thomas, Spectrochim. Acta, 23A, 2551 (1967).
10. G. J. Thomas, Biochim. Biophys. Acta, 283, 417 (1970).
11. G. C. Medeiros, G. J. Thomas, Biochim. Biophys. Acta, 238, 1 (1971).
12. I. Harada, R. C. Lord, Spectrochim. Acta, 26A, 2305 (1970).
13. R. C. Lord, G. J. Thomas, Biochem. Biophys. Acta, 142, 1 (1967).
14. E. W. Small, W. L. Peticolas, Biopolymers, 10, 69 (1971).
15. N. N. Aylward, J. L. Koenig, Macromolecules, 3, 590 (1970).
16. L. Rimai, T. Cole, J. L. Parsons, J. T. Hukmott, E. B. Corew, Biophys. J., 9, 230 (1969).
17. M. E. Heyde, L. Rimai, Biochem., 10, 1121 (1970).
18. B. L. Tomlinson, W. L. Peticolas, J. Chem. Phys., 52, 2154 (1970).
19. M. J. Hannon, F. J. Boerio, J. L. Koenig, J. Chem. Phys., 50, 2829 (1969).
20. E. W. Small, A. Biggerstaff, W. L. Peticolas, Biopolymers, (в печати).
21. W. L. Peticolas, L. Nafie, B. Fanconi, P. Stein, J. Chem. Phys., 52, 1576 (1970).
22. N. N. Aylward, J. L. Koenig, Macromol., 3, 583 (1970).
23. N. N. Aylward, J. L. Koenig (неопубл.).
24. M. C. Tobin, Spectrochim. Acta, 25A, 1855 (1969).
25. J. Blackwell, P. D. Vasco, J. L. Koenig, J. Carbohydrate Res., 19, 297 (1971).
26. J. L. Koenig, P. D. Vasco, J. Blackwell, J. Carbohydrate Res., 19, 297 (1971).
27. P. D. Vasco, J. Blackwell, J. L. Koenig, J. Carbohydrate Res., 23, 407 (1972).
28. J. Blackwell, P. D. Vasco, J. L. Koenig, J. Appl. Phys., 41, 4374 (1970).
29. C. H. Wong, R. D. Storms, J. Chem. Phys., 55, 5110 (1971).
30. I. Graham, D. Wallach, A. Oseroff, Febs Lett., 7, 330 (1970).
31. A. Lewis, H. A. Scheraga, Macromolecules, 4, 539 (1971).
32. A. Lewis, H. A. Scheraga, Macromolecules, 5, 450 (1972).
33. S. Femandjan, P. Fromageot, A. Tistchenko, J.-P. Leickman, M. Lutz, Febs Lett., 28, 174 (1972).
34. M. Avignon, C. Garrigou-Lagrange, P. Bothorel, Biopolymers, 12, 1651 (1973).
35. A. E. van Wart, H. A. Lewis, H. A. Scheraga, F. D. Saeva, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 70, 2619 (1973).
36. B. Fanconi, Biopolymers, 12, 2759 (1973).
37. T.-J. Yu, J. L. Lippert, W. L. Peticolas, Biopolymers, 12, 2161 (1973).
38. K. Itoh, T. Hinomoto, T. Schimanouchi, Biopolymers, 13, 307 (1974).
39. K. G. Brown, S. C. Erfurth, E. W. Small, W. L. Peticolas, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 69, 1467 (1972).
40. H. Brunner, H. Sussner, Biochim. Biophys. Acta, 310, 20 (1972).
41. N. T. Yu, B. H. Go, D. C. O'shea, Arch. Biochem. Biophys., 156, 71 (1973).
42. A. Lewis, R. S. Fager, E. E. Abrahamson, J. Raman, Spectroscopy, 1, 465 (1973).
43. N. T. Yu, J. Amer. Chem. Soc., 96, 4664 (1974).
44. D. M. Patrick, J. E. Wilson, G. E. Leroi, Biochemistry, 13, 2813 (1974).
45. F. Adar, M. Erecinska, Arch. Biochem. Biophys., 165, 570 (1974).
46. H. Brunner, M. Holz, H. Jering, Europ. J. Biochem., 50, 129 (1974).
47. H. Brunner, M. Holz, Biochim. Biophys. Acta, 379, 408 (1975).
48. J. T. Farland, K. L. Watters, R. L. Petersen, Biochemistry, 14, 624 (1975).

49. H. Susi, J. S. Ard, *Carbohydrate Res.*, **37**, 351 (1974).
50. C. Y. She, N. D. Dinh, A. T. Tu, *Biochim. Biophys. Acta*, **372**, 345 (1974).
51. K. E. Brown, E. Kiser, W. L. Peticolas, *Biopolymers*, **11**, 1209 (1972).
52. W. L. Peticolas, *Adv. Raman Spectroscopy*, **1**, London, 1972, p. 285—295.
53. J. L. Lippert, W. L. Peticolas, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 1572 (1971).
54. R. J. Bulkin, N. Krishnamachari, *J. Amer. Chem. Soc.*, **94**, 1109 (1972).
55. B. J. Bulkin, *Biochim. Biophys. Acta*, **274**, 649 (1972).
56. J. L. Lippert, L. E. Gorczyca, G. Meiklejohn, *Biochim. Biophys. Acta*, **382**, 51 (1975).
57. K. J. Rothschild, I. M. Asher, E. Anastassakis, H. E. Stanley, *Science*, **182**, 384 (1973).
58. K. J. Rothschild, H. E. Stanley, *Science*, **185**, 616 (1974).
59. I. M. Asher, K. J. Rothschild, H. E. Stanley, *J. Mol. Biol.*, **87**, 354 (1974).
60. I. M. Asher, G. D. Phillies, H. E. Stanley, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **61**, 1356 (1974).

Отделение высокомолекулярной
химии Западного университета,
Кливленд, Огайо, США