

С. А. Дзюба

Институт химической кинетики и горения СО РАН
ул. Институтская, 3, Новосибирск, 630090, Россия
E-mail: dzuba@ns.kinetics.nsc.ru

ДИНАМИЧЕСКИЙ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЙ ПЕРЕХОД В НЕУПОРЯДОЧЕННЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ СРЕДАХ И БИОСИСТЕМАХ

Взаимосвязь структурно-динамических свойств и физиологической активности биосистем является сейчас предметом интенсивных исследований. Недавно было установлено, что в системах с некристаллической структурой существуют интенсивные колебания атомов и молекул, которые являются гармоническими ниже температуры так называемого динамического перехода и становятся ангармоническими выше ее. Для биосистем температура перехода лежит в интервале 200–230 К. Известно, что динамический переход существенным образом влияет на физиологическую активность этих систем. Указанные колебания и динамический переход были зарегистрированы методами рассеяния нейтронов и мессбауровского поглощения. В настоящей статье описывается, как эти явления можно изучать с помощью недавно развитого метода эхо-детектируемого (ЭД) электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) спиновых зондов и меток. Данные ЭД ЭПР показывают, что колебания осуществляются молекулами как целыми. Причем они имеют коллективный характер и происходят внутри нанометрового кластера молекул, а само изменение характера движения выше температуры перехода связано с изменениями в наноструктуре вещества. Метод ЭД ЭПР обладает высокой чувствительностью к динамическому переходу. Его преимуществами являются также доступность эксперимента и возможность путем селективного мечения изучать движение в разных частях сложных супрамолекулярных структур. Описываются результаты исследования молекулярных стекол, модельных фосфолипидных мембран, живых клеток семян и пыльцы, реакционных центров бактериального фотосинтеза.

Введение

Взаимосвязь функциональных и структурно-динамических свойств сложных супрамолекулярных систем, в том числе биологических, является одной из центральных проблем современного естествознания. Нет сомнений, что структура и динамика этих систем оказывают определяющее влияние на такие фундаментальные явления, как проницаемость биологических мембран, складывание (фолдинг) биомолекул, течение биохимических процессов и многие другие. Однако конкретных данных, прямо указывающих на такую взаимосвязь, не так много. Проблема здесь в том, что все существующие методы изучения структуры и динамики хорошо «работают» на уровне только отдельной молекулы. Здесь же речь должна идти о закономерностях на супрамолекулярном уровне, когда необходимо рассматривать ансамбль нескольких, и может быть, даже многих молекул.

В настоящее время достаточно хорошо установлено, что многие особенности супрамолекулярной структуры и динамики, присущие сложным биосистемам (мембраны в гелевой фазе, белки, РНК и т. д.), наблюдаются также и в относительно простых

по составу веществах – таких как низкомолекулярные застеклованные жидкости (глицерин, толуол, о-терфенил и т. д.), аморфные сахара, полимеры. Схожие свойства для всех этих систем наблюдались при низкочастотном комбинационном рассеянии света, рассеянии нейтронов, нефотохимическом выжигании провала в оптических спектрах и в ряде других методов. Общим для всех этих систем, включая биологические, является некристаллическая структура вещества, с разупорядочением разной степени – на разных расстояниях между атомами и молекулами.

При изучении колебательного движения атомов методами рассеяния нейтронов и мессбауровского поглощения (в последнем случае в веществе присутствуют ионы ^{57}Fe) во всех этих системах недавно был обнаружен новый эффект – ярко выраженный переход при повышении температуры от гармонического движения к ангармоническому. Этот эффект проявляет себя как переход от линейной температурной зависимости измеряемого в этих методах среднеквадратичного смещения атомов $\langle x^2 \rangle$ (что характерно для гармонического движения) к более крутой зависимости при повышении температуры (рис. 1). Причем переход явля-

ется свойством только неупорядоченного состояния, для кристаллического состояния этого же вещества линейность имеет место во всем диапазоне температур. Этот переход принято называть динамическим переходом, температура перехода обозначается T_d .

Для биосистем T_d лежит в интервале 200–230 К. Причем было показано, что физиологическая активность биосистем появляется только выше T_d . Сейчас как природа этого перехода, так и его значимость для биосистем активно исследуется. (Интересно отметить, что указанные величины T_d соответствуют минимальным температурам земного климата.)

В настоящей статье рассказывается, какую важную информацию о динамике молекул можно получить, применяя уже давно известный метод спиновых зондов и меток в комбинации с недавно развитым методом исследования, называемым эхо-детектируемый (ЭД) электронный парамагнитный резонанс (ЭПР).

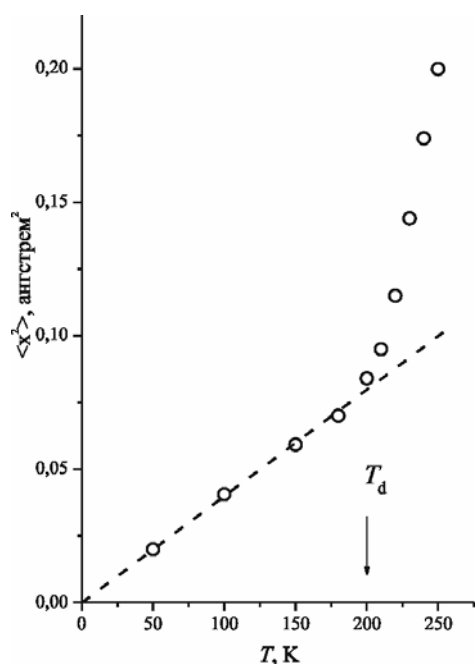
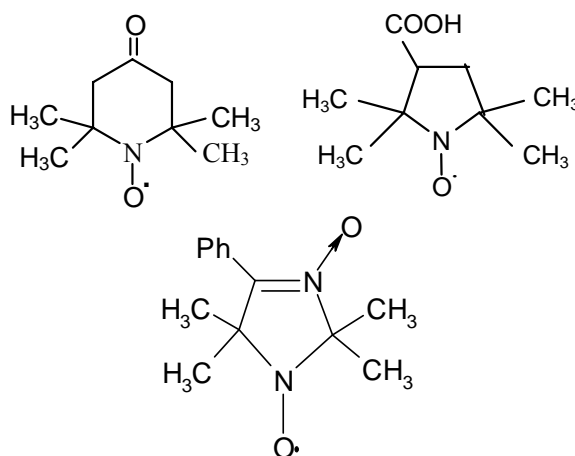


Рис. 1. Типичная зависимость от температуры среднеквадратичной амплитуды колебаний протонов некристаллических веществ, полученной в методе рассеяния нейтронов. Пунктиром показана такая зависимость для кристаллического состояния

Спиновые зонды и метки, спектры ЭПР

Спиновыми зондами и метками служат специально синтезированные нитроксильные радикалы, общим для которых является содержащий неспаренный электрон—парамагнитный фрагмент NO. Этот фрагмент

окружен экранирующими заместителями, которыми обычно служат метильные группы. Сейчас синтезировано несколько сот разных нитроксильных радикалов. Некоторые примеры:



Зондами называются молекулы, вводимые в исследуемую систему путем растворения малой добавки вещества. Метки ковалентно пришиваются к некоторому участку макромолекулы. При изучении биологических систем часто используется так называемое направленное спин-мечение (site-selective spin labeling), когда метка пришивается к определенной функциональной группе биомолекулы.

Наличие неспаренного электрона в структуре радикалов позволяет использовать метод ЭПР. Явление ЭПР состоит в резонансном поглощении энергии переменного магнитного поля спиновой системой неспаренных электронов во внешнем магнитном поле, когда расщепление за счет разности энергий состояний с проекцией спина электрона вдоль поля и против него совпадает с энергией кванта переменного поля:

$$g\beta B = \hbar\omega, \quad (1)$$

где g — g -фактор электрона; β — магнетон Бора; B — величина магнитного поля; \hbar — постоянная Планка; ω — частота переменного магнитного поля. g -Фактор является безразмерной величиной, для свободного электрона $g_e = 2,0023$. Для нитроксильных радикалов g -фактор зависит от ориентации молекулы относительно внешнего магнитного поля (является тензором). Обычно используется молекулярная система координат, в которой ось X направлена вдоль N—O связи, а ось Z перпендикулярна плоскости >N—O фрагмента. При некотором направлении

магнитного поля в молекулярной системе координат, определяемом углами θ и φ сферической системы координат, в (1) вместо g в хорошем приближении можно подставить

$$g(\theta, \varphi) = g_{XX} \sin^2 \theta \cos^2 \varphi + g_{YY} \sin^2 \theta \sin^2 \varphi + g_{ZZ} \cos^2 \theta, \quad (2)$$

где g_{XX} , g_{YY} , g_{ZZ} – главные значения g -тензора. Типичные их величины: $g_{XX} \approx 2,0090$, $g_{YY} \approx 2,0060$, $g_{ZZ} \approx 2,0025$.

Положение резонанса могут сдвигать различные внутри- и межмолекулярные магнитные взаимодействия. Важнейшим из них является сверхтонкое взаимодействие электронного спина с ядерным спином азота нитроксильного фрагмента. Для азота ^{14}N ядерный спин равен единице, это означает, что он имеет три проекции M , равные 1, 0, -1. Спин ядра азота с внешним магнитным полем взаимодействует гораздо слабее, чем с полем электронного спина и квантуется поэтому на эффективное магнитное поле, создаваемое электронным спином. Поэтому вместо (1) условие резонанса надо записать так:

$$g(\theta, \varphi)\beta B + a(\theta, \varphi)M = \hbar\omega, \quad (3)$$

где

$$a(\theta, \varphi) = \left(A_{XX}^2 \sin^2 \theta \cos^2 \varphi + A_{YY}^2 \sin^2 \theta \sin^2 \varphi + A_{ZZ}^2 \cos^2 \theta \right)^{1/2} \quad (4)$$

есть энергия взаимодействия электронного и ядерного спинов; A_{XX} , A_{YY} , A_{ZZ} – главные значения тензора сверхтонкого взаимодействия. Типичные их величины в единицах магнитного поля $A_{XX}/g\beta \approx A_{YY}/g\beta \approx 5$ Гс, $A_{ZZ}/g\beta \approx 35$ Гс (обычно в хорошем приближении имеет место аксиальная симметрия вокруг оси Z). Другой источник сдвига резонанса – неразрешенные сверхтонкие взаимодействия с другими ядрами радикала и матрицы, в сумме они сдвигают резонанс на величину порядка 3 Гс.

В обычном стационарном методе ЭПР сканируется поле B при непрерывном воздействии переменного поля на фиксированной частоте ω . Типичная форма возникающего при этом спектра ЭПР показана на рис. 2. (В спектрометрах ЭПР обычно измеряется первая производная по полю формы линии поглощения.) Здесь также показаны примерные ориентации молекулы (θ), которые можно указать в приближении аксиальной симметрии обоих указанных выше тен-

зоров и в пренебрежении неразрешенными сверхтонкими взаимодействиями.

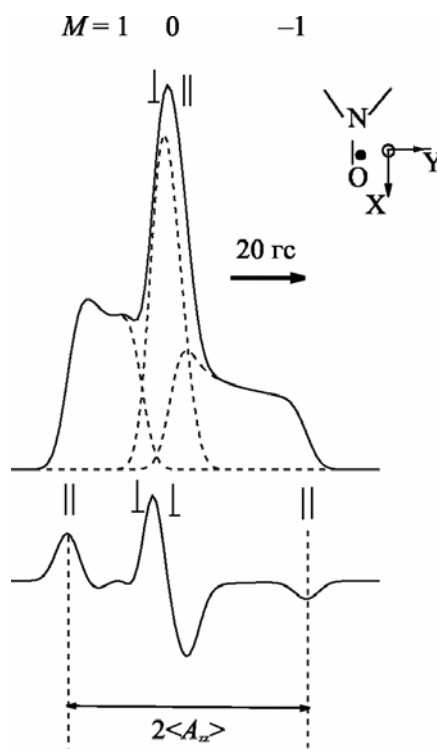


Рис. 2. Форма спектра ЭПР нитроксильного радикала в отсутствие движений (Расчет по формуле (3). Внизу приводится спектр в виде первой производной по полю. Пунктиром показаны отдельные сверхтонкие компоненты. Для каждой из них указаны примерные положения параллельной и перпендикулярной ориентаций. На врезке показана молекулярная система координат)

Ориентационные движения усредняют зависящие от углов магнитные взаимодействия (2) и (4). Из приведенных выше численных значений, для $B \approx 3\,500$ Гс следует, что для нитроксильных радикалов характерный разброс частот из-за разных ориентаций $\sim 10^9$ рад/с. В пределе быстрых движений молекулы как целого с частотой, много большей чем 10^9 рад/с, спектр будет состоять из трех одинаковых линий, соответствующих трем проекциям спина азота на внешнее магнитное поле (эффективное поле электронного спина усреднится до нуля).

В супрамолекулярных системах обычно реализуется режим медленного движения, когда молекула как целое двигается медленней чем 10^9 рад/с. Полного усреднения взаимодействий тогда не происходит. Однако быстрое колебательное движение молекул в этих системах может приводить к частичному усреднению спектров. Ниже мы к этому еще вернемся. А сейчас рассмотрим методы импульсного ЭПР на основе явле-

ния электронного спинового эха, которые оказываются очень полезными для изучения колебательного движения молекул.

Эхо-детектируемый ЭПР

Если переходы между спиновыми уровнями возбуждать не непрерывным воздействием переменным магнитным полем, а воздействием мощного импульса такого поля, в образце появляются сигналы осциллирующей поперечной намагниченности – макроскопической суммы проекций индивидуальных неравновесных спиновых состояний на плоскость, перпендикулярную магнитному полю. Эти сигналы называются сигналами свободной индукции, их можно детектировать радиотехническими методами. Причем для каждого спина в системе создается своя поперечная проекция, которая осциллирует с частотой перехода данного спина. Разброс этих частот (который и обуславливает форму спектра ЭПР) приводит к разбросу фаз прецессии, поэтому сигнал быстро затухает.

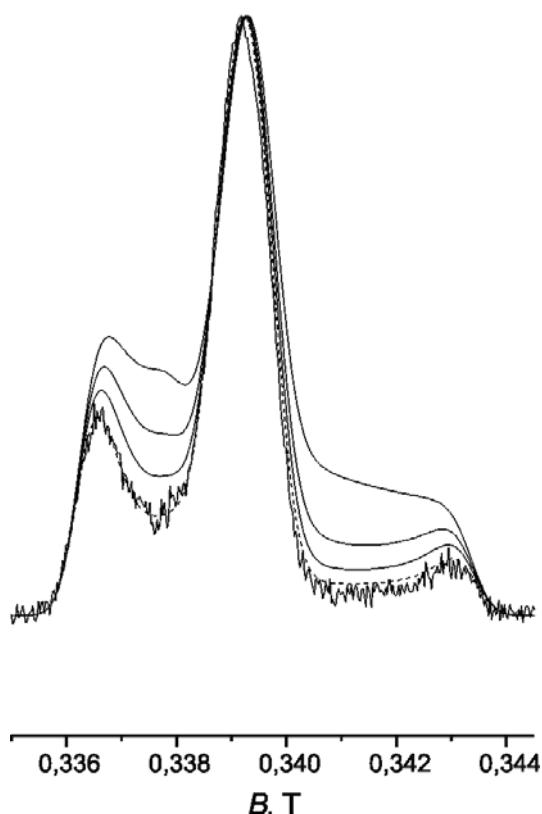


Рис. 3. Типичные эхо-детектированные спектры, записанные при разном времени τ (при его увеличении интенсивность в боковых плечах падает) и нормированные на максимум интенсивности. Пунктиром приводится пример расчета для модели быстрых ограниченных движений

Если импульс не один, а два, возникает удивительное явление – появляющийся с запаздыванием дополнительный сигнал свободной индукции, который называется сигналом эха. Запаздывание после действия второго импульса равно задержке между двумя импульсами. Это явление вкратце объясняется следующим образом. Второй импульс, приложенный через время τ после первого, изменяет фазу прецессии спинов в поперечной плоскости. После него спины продолжают прецессировать с той же скоростью, но с другими начальными фазами. Учет всех фаз показывает, что через время τ после второго импульса у всех спинов фаза опять станет одинаковой, что и означает возникновение сигнала (затем спины снова расходятся).

Сигнал эха с увеличением τ спадает из-за процессов магнитной релаксации. Важно, что в отличие от спада свободной индукции спад сигнала эха только с этими процессами и связан, поэтому измерение скорости спада позволяет в чистом виде измерять скорость релаксации.

В методе ЭД ЭПР сигнал эха записывается как функция магнитного поля при разных значениях времени τ как параметра (т. е. это по сути своей двумерный эксперимент). Если скорость спада зависит от положения в спектре, в таком эксперименте это сразу должно проявиться. Так как разные резонансные поля в спектре соответствуют разным ориентациям радикала относительно внешнего магнитного поля (см. рис. 2), в методе получается информация об ориентационной зависимости скорости релаксации или об ее анизотропии. Анизотропия релаксации связана с механизмом движения и его скоростью.

Удобно спектры ЭД ЭПР представлять в виде их набора, записанного при разных τ и нормированного на одну и ту же величину в точке магнитного поля, соответствующей максимуму спектра (рис. 3). Так достигаются сразу две цели – исключается независимая от поля изотропная релаксация, которая определяется другими процессами, не связанными с движениями, и наглядным становится характер анизотропии релаксации. Из рис. 3 видно, например, что вблизи краев спектра, которые соответствуют параллельной ориентации молекулы, релаксация более медленная.

Быстрые малоамплитудные ориентационные движения

Ранее для описания эксперимента в стационарном ЭПР в застеклованных жидкостях и других неупорядоченных системах использовались такие модели движения, как непрерывная броуновская диффузия в угловом пространстве или дискретные скачки на произвольный или фиксированный угол (с учетом и без учета анизотропии движения). Эти модели предполагают неограниченное в угловом пространстве движение молекул. Сейчас же получен ряд данных, прямо противоречащих неограниченности движения. Например, если поляризованным светом «выжечь» определенную ориентацию фоточувствительных молекул, то можно следить потом, как возникший «провал» в спектре заплывает со временем. Этот эксперимент непосредственно измеряет скорость неограниченного углового движения. Оказывается, что полученная скорость на много порядков меньше, чем та скорость, которая следует из анализа спектров ЭПР аналогичных по размеру спиновых зондов. Поэтому, несмотря на часто неплохое согласие теории и эксперимента, неограниченные модели не подходят для описания движения в этих системах.

Среди моделей «ограниченного» ориентационного движения в литературе в основном обсуждаются следующие три – модель переходов между двумя фиксированными ориентациями, модель «качаний» относительно положения равновесия и модель быстрых колебаний (либраций). Последние две модели отличаются друг от друга временным масштабом движений и характером временной зависимости угловых координат. Либрации происходят обычно вокруг одной оси, имеют частоты движений в типичном для межмолекулярного потенциала терагерцовом диапазоне и происходят в режиме, близком к гармоническому. Качания же могут происходить в любом направлении с любой частотой и могут иметь также стохастический характер.

Для быстрых малоамплитудных движений все три модели приводят к одинаковому характеру анизотропии релаксации. Если в результате движения имеют место флуктуации резонансных частот со среднеквадратичным значением $\langle \Delta\omega^2 \rangle$ и временем корреляции движения τ_c , то при выполнении условия $\langle \Delta\omega^2 \rangle \tau_c^2 \ll 1$ теория дает для скорости релаксации значение $\langle \Delta\omega^2 \rangle \tau_c$. Оценить $\Delta\omega$ можно из уравнения (3). Для про-

стоты примем, что имеет место аксиальная симметрия, $g_{xx} = g_{yy} = g_{\perp}$, $A_{xx} = A_{yy} = A_{\perp}$. Обозначим для единообразия $g_{zz} = g_{\parallel}$, $A_{zz} = A_{\parallel}$. При малоамплитудном движении происходят флуктуации угла θ на малую величину $\Delta\theta$. Тогда для $\Delta\omega$ путем разложения по $\Delta\theta$ получаем:

$$\Delta\omega = 2 \sin \theta \cos \theta \left\{ (g_{\perp} - g_{\parallel}) \frac{\beta B}{\hbar} + \frac{A_{\perp}^2 - A_{\parallel}^2}{2\hbar \sqrt{A_{\perp}^2 \sin^2 \theta + A_{\parallel}^2 \cos^2 \theta}} \right\} \Delta\theta. \quad (5)$$

Из (5) видно, что при $\theta = 0$ имеет место $\Delta\omega = 0$, т. е. релаксация вблизи параллельной ориентации должна быть медленной, что и наблюдается на эксперименте. Релаксации согласно (5) также не должно быть и при перпендикулярной ориентации, когда $\theta = \pi/2$. Эта ориентация не разрешается в показанных на рис. 2 и 3 спектрах ЭПР. Однако, если заменить изотоп азота ^{14}N (естественное содержание 99,6 %) на изотоп ^{15}N (0,4 %), перпендикулярная ориентация хорошо видна (спин ^{15}N равен $1/2$, и качественно спектр будет выглядеть, как показано на рис. 2, если убрать центральную компоненту). Эксперименты показывают, что для этой ориентации действительно скорость релаксации также мала.

На основе уравнения (5) можно провести детальное моделирование спектров ЭД ЭПР для малоамплитудных быстрых движений. Их результаты также показаны на рис. 3. Видно прекрасное согласие теории и эксперимента.

Быстрые малоамплитудные ориентационные движения также должны проявлять себя в спектрах стационарного ЭПР, в которых они частично усредняют анизотропные магнитные взаимодействия. Несложное рассмотрение для ориентационного движения относительно оси, лежащей в перпендикулярной плоскости молекулярной системы координат, показывает, что величина A_{\parallel} в результате движения усредняется как

$$\langle A_{\parallel} \rangle = A_{\parallel} - (A_{\parallel} - A_{\perp}) \langle \alpha^2 \rangle, \quad (6)$$

где α – угол отклонения (отметим, что $\Delta\theta$ в (5) и α связаны соотношением $\Delta\theta = \alpha \sin \varphi$). Величина $\langle A_{\parallel} \rangle$ легко измеряется – ей соответствует расщепление между крайними пиками в спектре ЭПР (см. рис. 2). Результаты измерений приведены на рис. 4, а, где

видно, что температурная зависимость $\langle A_{||} \rangle$ линейна при низких температурах и становится заметно круче выше некоторой температуры. Из этих данных, используя (6), можно получить температурную зависимость $\langle \alpha^2 \rangle$, которая показана на рис. 4, б.

Соответствие с данными рассеяния нейтронов и мессбауровского поглощения, динамический переход по данным ЭД ЭПР

Обращает на себя внимание аналогия между данными ЭПР (см. рис. 4) и данными метода рассеяния нейтронов (см. рис. 1. Рассеяние нейтронов чувствительно к движениям с частотой, большей 10^9 с^{-1} (мессбауровское поглощение – с частотой, большей 10^7 с^{-1}). Эти частоты того же порядка, какие требуются в ЭПР для сужения спектров за счет либрационного движения (10^8 с^{-1}). Амплитуды движений $\langle x^2 \rangle$ на рис. 1 также близки по величине показанным на рис. 4 значениям $\langle \alpha^2 \rangle$ (численные значения $\langle \alpha^2 \rangle$ в радианах и $\langle x^2 \rangle$ в ангстремах можно прямо сопоставлять с учетом того, что характерный размер молекулы – порядка 1 Å). Данные количествен-

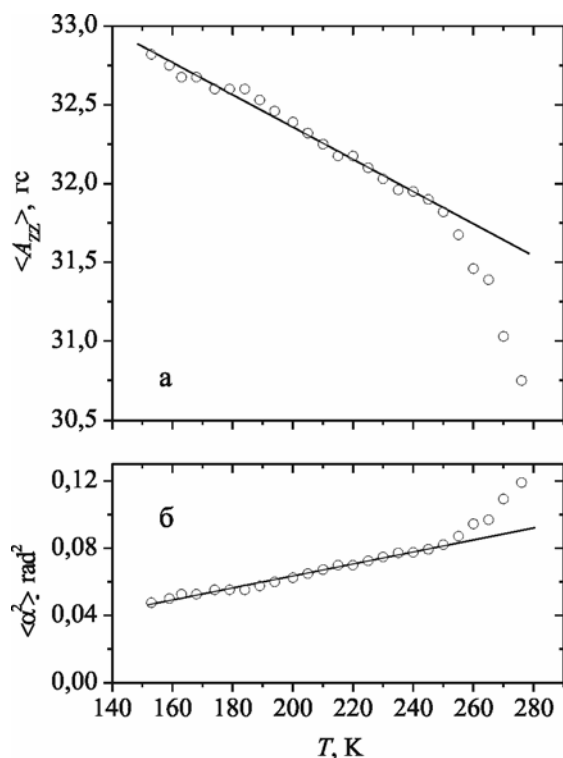


Рис. 4. Типичная температурная зависимость величины расщепления в спектре (а); полученные из соотношения (6) среднеквадратичные амплитуды движений (б)

ные соответствия позволяют предполагать, что в разных методах речь идет об одном и том же типе движения.

Применимость метода стационарного ЭПР для измерения $\langle \alpha^2 \rangle$ ограничена только неполярными средами. В полярных средах на измеряемую величину A_{ZZ} , кроме движения, оказывает также влияние изменение полярности матрицы, что может существенно исказить результаты.

В методе ЭД ЭПР данные о движении извлекаются из скорости анизотропной релаксации, на которую полярность матрицы не влияет. Другим важным достоинством ЭД ЭПР является высокая чувствительность анизотропной релаксации к переходу от гармонического движения к ангармоническому. Дело в том, что при гармонических осцилляциях скорость релаксации обратно пропорциональна квадрату частоты этих осцилляций. Так как для межмолекулярных колебаний эти частоты довольно велики ($\sim 10^{12} \text{ с}^{-1}$), в ЭД ЭПР эта скорость должна быть очень маленькой. (При этом гармоническое движение способно эффективно усреднять A_{ZZ} , что и видно в стационарном ЭПР). Если же движение происходит в ангармоническом потенциале, то из-за его асимметрии появляется неосциллирующий вклад (среднее значение угла). Этот вклад флуктуирует при флуктуациях энергии осциллятора – при переходах с одного колебательного уровня на другой, что дает еще один канал релаксации. Однако ее скорость здесь уже от частоты колебаний не зависит. Оценки показывают, что эта скорость может быть такой, какой она и наблюдается на эксперименте.

Также к согласию с экспериментом может приводить модель быстрых стохастических качаний.

На рис. 5 показана температурная зависимость характерных изменений в спектрах ЭД ЭПР. Эти изменения количественно характеризуются как относительная интенсивность в центре высокопольной компоненты. При низких температурах изменений не происходит, а при повышении температуры наблюдается заметный спад этой интенсивности. Оказывается, что температура перехода для изученных систем (простые застеклованные молекулярные жидкости) совпадает с температурой T_d , определенной из рассеяния нейтронов.

Важно отметить, что изменения в спектрах ЭД ЭПР типа показанных на рис. 5 наблюдаются только для стеклообразных об-

разцов. В кристаллическом состоянии эти эффекты отсутствуют.

Таким образом, метод ЭД ЭПР является чувствительным инструментом определения точки динамического перехода от гармонического движения к ангармоническому (или стохастическому). Другие важные его преимущества – относительная, по сравнению с методами рассеяния нейтронов и Мессбауэровским поглощением, доступность измерений, возможность изучения разных участков сложных супрамолекулярных систем путем направленного спин-мечения.

Кооперативный (супрамолекулярный) характер движения

Метод ЭД ЭПР позволил получить ряд интересных данных о свойствах наблюдаемого в нем движения. Само наличие эффекта анизотропной релаксации в ЭД ЭПР говорит о том, что в системе реализуется ориентационное движение молекул как целых (методы рассеяния нейтронов и мессбауэровского поглощения дают данные о поступательном движении атомов).

Далее, исследование динамики спиновых зондов разной структуры и в разных стеклюющихся растворителях позволило с определенностью установить, что движение зависит не от типа зонда, а от типа растворителя. Так как в этих исследованиях применялись зонды с размерами, варьируемыми от 3 до 50 Å, стало понятным, что речь идет о кооперативной динамике молекул, т. е. движение происходит путем коллективных перестроек в молекулярной структуре вещества (имеет супрамолекулярный характер). Размер «задействованного» кластера молекул составляет несколько десятков ангстрем (несколько нанометров). Причем супрамолекулярный характер движения имеет место также и в случае простых низкомолекулярных стекол.

Наконец, довольно резкое появление в ЭД ЭПР эффектов движения (см. рис. 5) заставляет предполагать, что сам потенциал, в котором происходит движение, по-видимому, зависит от температуры, и что выше T_d его форма, похоже, меняется. Причем здесь возможны разные варианты – потенциал может стать заметно ангармоническим, либо он может начать зависеть от времени стохастическим образом.

Так как потенциал определяется структурой вещества, можно говорить об изменении выше T_d так называемого «среднего по-

рядка» в этой структуре, т. е. о корреляциях в расположении атомов и молекул в нанометровой шкале расстояний.

Биосистемы, взаимосвязь с функциональной активностью

Методом ЭД ЭПР к настоящему времени изучен ряд спин-меченых биосистем. В модельных фосфолипидных мембранах изучалась динамика липидов, спин-меченых в разных положениях липидного хвоста. Был обнаружен общий для всех положений динамический переход с T_d в интервале 200–230 К, что совпадает с известными данными по рассеянию нейтронов. Сопоставление данных для разных положений позволило обнаружить новый факт – в глубине мембраны переход очень растянут по температуре и начинается с температур 100–120 К. Изучение динамики холестеранового спинового зонда (который напоминает по структуре важный компонент мембран – холестерин) также показали наличие низкотемпературных движений в глубине мембраны. Обнаруженная динамическая неоднородность

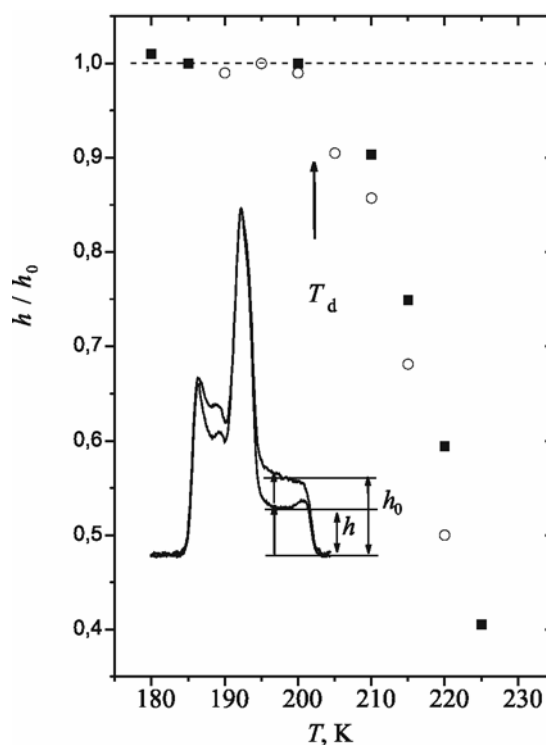


Рис. 5. Типичная температурная зависимость характерных изменений в спектре ЭД ЭПР. Для количественной характеристики этих изменений используется показанное на рисунке отношение высот для нормированных на максимум спектров, записанных при разной температуре; причем высота h_0 соответствует температуре, меньшей 180 К. Разные точки относятся к разным нитроксильным радикалам

по глубине мембраны может оказаться важной для понимания механизмов формирования каналов в ней, особенностей мембран-белковых взаимодействий и т. д.

Интересным объектом для применения метода спиновых зондов и меток являются живые клетки семян и пыльцы. Эти объекты замечательны тем, что могут храниться годами без потери жизнеспособности. Одна из существующих здесь гипотез – такая способность связана с внутриклеточным стеклообразованием. Для спиновых зондов, введенных в клетки семян и пыльцы, ЭД ЭПР показал наличие заметной анизотропной релаксации при $T > 200$ К, что само по себе говорит о стеклообразовании. Эти эффекты сильно зависят от содержания воды в этих объектах. Такие исследования могут быть также полезными с практической точки зрения – для понимания процессов, определяющих время хранения семян и других биологических объектов.

Изучались также спин-меченые реакционные центры, выделенные из фотосинтезирующего аппарата пурпурных бактерий (ввиду относительной простоты эта система является объектом широкого и интенсивного изучения разными методами). Вблизи 200 К обнаружен хорошо заметный динамический переход. Интересно, что эта температура давно известна тем, что при ней блокируется перенос фотоиндуцированного электрона по цепи его акцепторов – вместо того, чтобы от первичного хинонного акцептора переноситься дальше, ко вторичному, электрон возвращается назад и рекомбинирует с «дыркой» – катион-радикалом димера молекул бактериохлорофилла. Природа этого резкого изменения направления переноса электрона до сих пор остается загадкой. Более того, вплоть до настоящего времени не было известно никаких корреляций этого эффекта со структурными или динамическими свойствами сложной супрамолекулярной структуры реакционного центра. Полученный методом ЭД ЭПР результат является первым результатом, который указывает на изменение динамических (а также и структурных) свойств системы.

Физические основы применения метода ЭД ЭПР были разработаны совсем недавно. Можно предполагать, что скоро появятся новые примеры изучения биологических и других сложных супрамолекулярных систем с помощью этого метода.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что в неупорядоченных молекулярных средах различной природы – низкомолекулярных застеклованных жидкостях, полимерах, биологических системах – существуют интенсивные ориентационные колебания молекул. Колебания являются гармоническими ниже температуры так называемого динамического перехода и становятся ангармоническими (или стохастическими) выше ее. Для биосистем температура перехода близка к 200–230 К. Динамический переход имеет большое значение для функционирования биосистем, ниже температуры перехода T_d функционирование нарушается. Эти колебания и динамический переход проявляют себя в методах рассеяния нейтронов, мессбауровского поглощения, а также в недавно развитом методе ЭД ЭПР спиновых зондов и меток. Данные ЭД ЭПР показывают, что колебания имеют коллективный характер и происходят внутри нанометрового кластера молекул, а само изменение характера движения связано с изменениями в наноструктуре вещества. Преимуществом метода ЭД ЭПР является доступность эксперимента, возможность путем селективного мечения изучать движения в разных участках сложных супрамолекулярных структур, а также высокая чувствительность к динамическому переходу.

Непосредственный механизм, который обуславливает связь между функционированием биосистем и обсуждаемым динамическим переходом, остается пока неясным.

Материал поступил в редколлегию 20.09.2006