

В. Г. МАНУСАДЖЯН, Г. В. БАБАЯН

## ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО ПАРАМАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА В БИОЛОГИИ

Количество работ по применению метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) в биологии за последние годы чрезвычайно возросло. Поэтому приходится отказываться от полного обзора всего публикуемого материала. В настоящей статье приводится обширный список литературы, иллюстрирующий различные возможности применения метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) в биологических исследованиях.

Для ознакомления с методикой ЭПР можно обратиться к специальной литературе [1—3], в которой детально обсуждаются все тонкости эксперимента и характер получаемой информации. Заметим, что рассматриваемый метод может быть применен только к биологическим системам, которые содержат неспаренные электроны, например, радикалы, триплетные состояния, ионы металлов переходной группы и т. д.

### Радиобиология

Электронный парамагнитный резонанс, по своему значению, является уникальным методом в области молекулярной радиационной биологии. Он позволяет изучать природу и свойства свободных радикалов, возникающих при облучении биологической системы ионизирующим излучением. Первые работы в этом направлении выполнены в 1954 г. Комбриссоном и Уберсфельдом [4]. Ими было установлено наличие резонанса в некоторых аминокислотах, подвергшихся облучению в атомном котле. Вслед за ней появилась серия работ, в которых методом ЭПР были изучены облученные биохимические вещества. Горди, Ард и Шилд [5] получили спектры облученных аминокислот и белков. Ими были получены также спектры некоторых жирных кислот [6], облученных рентгеновскими лучами. Кормик и Горди [7] получили спектры ЭПР облученных пептидов. Шилд и Горди опубликовали спектры ЭПР облученных нуклеиновых кислот [8] и различных белков [9]. Спектры облученных гормонов и витаминов опубликованы Рексроадам и Горди [10].

Затем появилась большая серия работ по изучению свободных радикалов в биологических системах. Коломийцева [11, 12] изучала образование свободных радикалов в липидах печени крыс в норме и после гамма-облучения. Пауэр [13] рассмотрел обратимость эффектов, вызванных рентгеновским облучением в бактериальных спорах. Измерение спектров ЭПР гамма-облученных зародышей семян пшеницы были

сделаны Козловым и Сергеевым [14]. Эренбергом и др. [15] опубликованы результаты исследований гамма-облученных семян ячменя в зависимости от различной концентрации кислорода в воздухе. Клингмюллер и др. [16, 17] изучали содержание свободных радикалов в семенах *Vicia faba* после рентгеновского облучения. Большое количество работ опубликовано по изучению спектров ЭПР аминокислот, полипептидов, белков [18, 37] и нуклеиновых кислот [38, 44]. Дамерау и сотрудники провели ЭПР-исследование некоторых циклических олигомеров капролактамов после гамма-облучения [45]. Исследование радиационных повреждений гамма-облученных моносахаридов проведено Колинзом [46]. Ролланд получил спектры ЭПР гамма-облученной целлюлозы [47]. Защитные свойства сульфгидрильных соединений изучалось Рупрехтом [48]. Некоторые общие вопросы по применению метода ЭПР в радиобиологии и роль свободных радикалов рассмотрены в работах [49—53].

### Фотосинтез

В работе Андроса [54] показана плодотворность использования метода ЭПР в изучении фотосинтеза. Возникновение свободных радикалов в фотосинтетических системах рассмотрено Кальвином [55]. Алленом и др. [56] изучены сигналы ЭПР в фотосинтетических реакциях, освещенных *Chlorella pyrenoidosa*. Николаи [57] и Брюккер [58] исследовали спектры ЭПР при фотосинтезе зеленых растений. Роль триплетных состояний в фотохимических реакциях методом ЭПР изучал Бернارد [59]. Кинетику образования светоиндуцированного сигнала ЭПР в цельных хлоропластах шпината и влияния кислорода исследовали Сторей и др. [60]. Левин и др. [61] получили данные о свободнорадикальных продуктах фотосинтеза в диком и мутанном *Chlamydomonas reinhardtii*. Аллен и Марчо [62] исследовали образование стабильных свободных радикалов в зеленых фракциях хлоропластов. Калил и Том [63] провели измерения спектров ЭПР с целью выяснения механизма фотосинтеза. Аналогичная работа была выполнена Алленом [64]. Холмогоров и Теренин [65] получили светоиндуцированный сигнал ЭПР в кристаллическом хлорофилле. Карпинская и др. [66] изучили образование свободных радикалов при фотосенсибилизированных реакциях хлорофилла.

### Биохимия

Изучение сигналов нативных молекул нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов проведено Александровым и др. [67]. Пьер, Мариус и Клауди [68, 69], а также Мариус и Пьер [70] изучили методом ЭПР оптически возбужденные аминокислоты при низких температурах. Грибовой и др. [71] опубликовали результаты исследований с помощью ЭПР триплетного состояния порфирина и ароматических аминокислот. Малмштрём и Вейнгард [72] рассмотрели спектры ЭПР медьсодержащих белков

и некоторых модельных комплексов. Вазио, Акира и Риоихи [73] изучили кинетику реакций дыхательных ферментов. Спектры ЭПР комплексов гемоглобина и закиси азота в растворе были изучены Сансером, Фриманом и Миллсом [74]. Виндал с сотрудниками [75] изучили спектры ЭПР железных и медных комплексов кональбумина птиц и трансферринов человека. Были опубликованы результаты исследования денатурированных церулоплазмина и лакказы [76]. Несколько авторов сообщили о применении метода ЭПР для изучения активности и механизма действия сукциндегидрогеназы [77, 78]. Спектры ЭПР рибофлавина и его комплексов были получены Синдраном [79]. Козлов, Тамбиев и Тараненко [80] исследовали свободнорадикальное состояние некоторых антибиотиков. Влияние ионизированных боковых групп на магнитные свойства РНК методом ЭПР изучали Возвышаева и Блюменфельд [81]. Амазаки исследовал восстановление цитохрома [82].

### Общебиологическое применение

В некоторых работах [83—88] приведены основные направления применения метода ЭПР в общебиологических исследованиях. Калмансон с сотрудниками [89] опубликовал данные по изучению методов ЭПР реакций взаимодействия с нормальными и опухолевыми клетками семихинонных ион-радикальных процессов. Кометиани [90] определил взаимосвязь свободных радикалов с активным переносом ионов натрия в коже лягушки. Сингер [91] применил метод ЭПР для регистрации биологического тока жидкости. Димик, Гекли и Голис [92] по сигналу ЭПР следили за появлением свободных радикалов при хранении лиофильно высушенных бактерий. Измерение магнитных свойств культуры дрожжей в процессе их роста и деления было сделано Блюменфельдом и Самойловой [93]. Мюллер, Готц и Зиммер [94] исследовали сигналы ЭПР от бактериофагов. Абагян и Бутягин [95] исследовали механические деструкции желатина методом ЭПР. Каюшин с сотрудниками [96] и Барри с сотрудниками [97] определили количество свободных радикалов в переживающих тканях. Попытку установить корреляцию между биологической активностью и интенсивностью сигнала ЭПР в надпочечниках морской свинки сделали Франк и Езеф [98]. В другой работе [99] приведены данные по свободным радикалам в живых тканях. Спектры ЭПР необлученной кости изучал Беккер [100]. Фриман и др. [101] обнаружили обратимое образование свободных радикалов в меланиновых гранулах глаза при действии на них видимого света. Ульберт [102] наблюдал изменение сигнала ЭПР при механических повреждениях керративов.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Эндрос Г. М., Кэ́львин Мелвин. Вопросы биофизики, матер. I междунар. конгресса, изд-во Наука, 179—214, 1964.
2. Блюменфельд Л. А., Калмансон А. Э. Биофизика, 2, 5, 1957.
3. Блюменфельд Л. А., Воеводский В. В., Семенов А. Г. Применение электронного парамагнитного резонанса в химии, Изд-во сиб. отд. АН СССР, 1962.
4. Combrison I., Uebersfeld I. Compt. rend. Acad. Sci., (Paris), 258, 1937. 1954.
5. Cordy W., Ard W. B., Shields H. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 31, 983—996, 1955.
6. Cordy W., Ard W. B., Shield H. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 41, 996—1004, 1955.
7. Mc. Cormik G., Gordi W. Bull. Amer. Phys. Soc., 1, 200, 1956.
8. Shield H., Gordi W. Bull. Amer. Phys. Soc., 1, 267, 1956.
9. Gordi W., Shield H. Bull. Amer. Phys. Soc., 1, 199, 1956.
10. Rexroad H. N., Gordi W. Bull. Amer. Phys. Soc., 1, 200, 1956.
11. Коломийцева И. К., Каюшин Л. П., Кузин А. М. ДАН СССР, 147, 4, 1962.
12. Коломийцева И. К. Радиобиология, 3, 3, 1963.
13. Power E. L., Cellular and Compar. Physiol., 58, 3, part 2, 1961.
14. Козлов Ю. П., Сергеев Г. В. Радиобиология, 1, 130—131, 1963.
15. Ehrenberg A., Ehrenberg L., Löfront G. Abhandl. Dtsch. Acad. Wiss., Berlin. Kl. Med., 1, 229—231, 1962.
16. Klingmüller Walter, Internat. J. Radiation. Biol., 4, 3, 255—276, 1962.
17. Klindmüller W., Lane C. R., Saxena M. C. Ingram D. I. E., Nature, 184, 4684, Suppl., 7, 464—465, 1959.
18. Эйду́с Л. Х., Каюшин Л. П., ДАН СССР, 135, 6, 1525—1527, 1960.
19. Усатый А. Ф., Каюшин Ю. С. Biol. Effekts Ionizing Radiat. et Molecular Level. Viena, 37—59, 1962.
20. Henriksen Thormod, Sanner Tore, Pihl Alexander, Radiation Res. 18, 2, 147—162, 1963.
21. Азизова О. А. Биофизика, 8, 5, 556—560, 1963.
22. Patten Frank, Gordy W. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 46, 5, 1137—1144, 1960.
23. Kirby-Smith I. S., Randolph M. L. I. Cellular and Compar. Phystol., 3, part 2, 1—11, 1961.
24. Hutchinson Franklin, Radiation Res. Suppl. 2, 49—63, 1960.
25. Пулатова М. К., Рогуленкова В. Н., Каюшин Л. П. Биофизика, 5, 6, 548—555, 1961.
26. Longuet-Higgins H. C. Nature, 192, 4807, 1034—1035, 1961.
27. Redhardt Alberdht., Strahlenwirk. und Milien, München-Berlin, 71—81, 1962.
28. Rotblat I., Simmons I. A. Phys. Med. and Biol., 7, 4, 489—497, 1963.
29. Servant R. Arch. sci., 13, Fasc. spec., 301—302, 1960.
30. Блюменфельд Л. А., Калмансон А. Э. Сб. Первичные и начальные процессы биологического действия радиации, М., АН СССР, 45—51, 1963.
31. Пулатова М. К. Биофизика, 7, 4, 402—406, 1962.
32. Нодзак Хурасада, Иосин Гити. Radioisotopes, 10, 4, 402—404, 1961.
33. Rajewsky B., Redhardt A. Nature, 4840, 492—494, 1962.
34. Разумова Л. Л., Цзу-сюнь, Каюшин Л. П., Пулатова М. К. ДАН СССР, 146, 5, 1197—1200, 1962.
35. Ueda Hisashi, I. Phys. chem., 67, 5, 966—968, 1963.
36. Пулатова М. К., Бурштейн Э. А., Каюшин Л. П. ДАН СССР, 146, 6, 1432—1434, 1963.
37. Пулатова М. К., Бурштейн Э. А., Каюшин Л. П. ДАН СССР, 149, 6, 1432—1434, 1963.

38. Шэн-гень, Блюменфельд Л. А., Пасынский А. Г., Калмансон А. Э. Биофизика, 6, 5, 534—547, 1963.
39. Duchesne Jules. Biol. Effects Ionizing Radiat. at. Molecular Level, Viena, 149—159, 1962.
40. Patten Raymond A., Gordy Walter, Nature, 201, 4917, 361—363, 1964.
41. Thom H. G., Nicolau CL. Proll. und Ergebnisse aus Biophys. und Strahlenbiol. Bd—3, 67—71, 1962.
42. Van de Vorst A., Kaal I. M., Dupireux J. Duchesne J., Arch. sci. 13, Fasc. spec., 297—300, 1960.
43. Eisinger J., Shulman R. G. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 50, 4, 694—696, 1963.
44. Maling J. E., Taskovich L. T., Blois M. S., Jr., Biophys. J., 3, 1, 79—95, 1963.
45. Damerau W., Labmann G., Thom G. G. Z. Phys. Chem., 223, 1—2, 59—65, 1963.
46. Collins M. A. Nature, 193, 4820, 1061—1062, 1962.
47. Florin Roland E., Wall Leo A. J. Polymer Sci., A1, 4, 1163—1173, 1963.
48. Koch Ruprecht. Strahlenwirk. und Milien, München Berlin, 224—231, 1962.
49. Box Harold C., Freund Harold G. J. Chem. Phys., 40, 3, 817—821, 1964.
50. Zimmer Karl G. Strahlenwirk. und Milien., München—Berlin, 46—55, 1962.
51. Smith Douglas E., Annual Rev. Nucl. Sci., Vol. 12, Palo Alto, Calif., Annual Revs, Inc., 577—633, 1962.
52. Fränz Jurgen. Atomkern-Energie, 8, 2, 63—70, 1963.
53. Sands Richard H. Proc. Conf. Res. Radiotherapy Cancer, Madison, Wisc., New York, N. Y., Amer. Cancer. Soc. Inc., 27—30, 1961.
54. Androes G. M., Advances Bot. Res. Vol., 1, London—New York, Acad. Press. 327—369, 1963.
55. Кальвин М. В. Сб. современные проблемы биофизики, т. 1, М., изд-во ИЛ, 203—209, 1961.
56. Allen M. B., Plette L. R., Murchio J. C. Biochim. et Biophys. acta, 60, 3, 539—547, 1962.
57. Nicolau Claude, Arch. sci., 13, Fasc. spec., 278—282, 1960.
58. Brucker Wolfgang, Nicolau Claude, Naturwissenschaften, 47, 4, 89—90, 1960.
59. Smaller Bernard, Nature, 195, 4841, 593—594, 1962.
60. Storey W. H., Monita C. M., Cadena D. G. Nature, 195, 4845, 963—965 1962.
61. Levine R. P., Plette L. H. Biophys. J., 2, 5, 369—379, 1962.
62. Allen M. B., Murchio J. C. Biochim. and Biophys. Res. Communs, 11, 2, 115—119, 1963.
63. Jhalli M. S. H., Thom H. G. Flora, 149, 2, 323—326, 1960.
64. Аллен М. Б. Сб. Междунар. биохим. конгресс. Механизм фотосинтеза, Симпозиум 6, М., АН СССР, 3—8, 1961.
65. Холмогоров В. Е., Теренин А. Н., ДАН СССР, 137, 1, 199—202, 1961.
66. Карпинская В. Е., Долидзе И. А., Ашкинази М. С., ДАН СССР, 146, 4, 844—847, 1962.
67. Александров А. А., Гаврилов В. Ю., Кисилев А. Г., Лазуркин Ю. С., Мокульский М. А. ДАН СССР, 141, 6, 1483—1485, 1961.
68. Ptak Marius, Douzou Pierre. Nature, 199, 4898, 1082, 1963.
69. Douzou Pierre, Ptak Marius, Ropars Claude. Nature, 197, 4872, 1105—1106, 1963.
70. Ptak Marius, Douzou Pierre. Nature 199, 4898, 1092, 1963.
71. Грибова З. П., Евстигниева Р. П., Миронов А. Ф., Каюшин Л. П., Лузгина Л. П., Пискунов А. К. Биофизика, 8, 5, 550—555, 1963.
72. Malmström Bo. S., Vänngard Tore, J. Molec. Biol., 2, 2, 118—124, 1960.
73. Jmai Vasuo, Jiral Akira, Kado Byoichi. Biochim. et biophys. acta, 67, 4, 687—690, 1963.

74. Sancier K. M., Truman G., Mills J. S., Science, 137, 3532, 752—754, 1962.
75. Windle J. J., Wiersema A. K., Clark J. Я., Fcney R. E., Biochemistry, 2, 6, 1341—1345, 1963.
76. Broman Lars, Malmström Bo G., Aasa Roland, Vänngard, Tore, J. Molec. Biol., 5, 3, 301—310, 1962.
77. Hollocher Thomas C., Jr., Commer Barry, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 47, 9, 1355—1374, 1961.
78. King Tsou E., Howard Robert L., Mason H. S. Biochem. ana Biophys. Res. Communs, 5, 5, 329—333, 1961.
79. Sidran M., Arch. Sci. 13, Fasc. spec., 283—296, 1960.
80. Козлов Ю. П., Тамбиев А. Х., Тараненко Г. А. ДАН СССР, 154, 13, 718—720, 1964.
81. Возвышаева Л. В., Блюменфельд Л. А. Биофизика, 5, 5, 579—581, 1960.
82. Yamazaki J., J. Biol. Chem., 237, 1, 224—229, 1962.
83. Эндрос Г. М., Кэльвин Мелвин. Сб. Вопросы биофизики, изд-во Наука, 179—214, 1964.
84. Мочалкин А. И., Рик Г. П. Сб. Тр. по агр. физ., вып. 10, 247—255, 1962.
85. Sands R. H., NMR and EPR Spectroscopy. Oxford—London—New York—Paris, Pergamon Press, 233—240, 1960.
86. Bertinchamps A. J., Wiss. Abhandl. Arbeitgemeinschaft. Försch Landes Nordrhein-Westfalen, 18, 125—131, 1961.
87. Androes G. M., Calvin Melvin, Biophys. J., 2, 2, Part 2, 217—258, 1962.
88. Nicolau Claude, Studii si cercetări inframicrobiol. Acad. RPR, 12, 4, 475—511.
89. Калмансон А. Э., Липчина Л. П., Четвериков А. Г. Биофизика, 6, 4, 410—423, 1961.
90. Кометиани З. П. Биофизика, 8, 1, 40—44, 1963.
91. Singer J. R. JRE Trans. Med. Electron, 7, 23—28.
92. Dimmick R. L., Heckly R. J., Hollis D. P. Nature. 1, 4804, 776—777, 1961.
93. Самойлова О. П., Блюменфельд Л. А. Биофизика, 6, 1, 15, 1961.
94. Müller A., Hotz G., Zimmer K. G. Z. Naturforschsch, 16, 10, 658—662, 1961.
95. Абагян Г. В., Бутягин П. Ю. Биофизика, 9, 2, 180—183, 1964.
96. Каюшин Л. П., Коломийцева И. К., Львов К. М. ДАН СССР, 134, 5, 1229—1231, 1960.
97. Commer Barry, Ternberg Jessie L. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 47, 9, 1374—1384, 1961.
98. Truby Frank K., Goldzieher Joseph W. Nature, 188, 4756, 1088—1090, 1960.
99. Kerkut G. A., Edwards M. L., Leech K., Munday K. A. Experientia, 17, 11, 497—498, 1961.
100. Becker Robert O. Nature, 199, 4900, 1304—1305, 1963.
101. Cope Treeman W., Sever Raymond J., Pollis B. David, Arch. Biochem. and Biophys., 100, 2, 171—177, 1962.
102. Ulbert K. Nature. 195, 4837, 175, 1962.