

Резонансы между 10^{11} и 10^{12} Гц в активных бактериальных клетках, видимые с помощью лазерной рамановской спектроскопии

С.Дж. Уэбб¹, М.Е. Стоунхэм²

Аннотация—Спектральные сдвиги в спектрах лазерной рамановской спектроскопии активных бактериальных клеток свидетельствуют, что в этих клетках существуют резонансы между $7 \cdot 10^{10}$ и $5 \cdot 10^{12}$ Гц. Эти резонансные частоты не присутствуют в спектрах покоящихся клеток, клеток гомогенатов или питательных сред; таким образом, они по-видимому получаются в результате активных метаболических процессов *in vivo*.

Показано, что микробные клетки и клетки млекопитающих поглощают определенные частоты в микроволновом диапазоне между 50 и 150 ГГц, что, следовательно, влияет на метаболические процессы *in vivo* [1], [2], [3], [4], [5]. Чтобы прояснить механизм этого эффекта, были исследованы лазерные рамановские спектры клеток, облученных микроволновыми полями определенных частот. Однако, выраженные линии рамановских сдвигов спектра клеток были найдены лишь в случае, когда источник окисляемого углерода был доступен клеткам, и к тому же множество линий появлялось лишь при совпадении времени получения конкретных рамановских сдвигов с временем жизни клеток, при котором происходили события *in vivo*, характеризующиеся определенными раман-сдвигами [6], [7].

Хотя в вышеуказанных работах наблюдались линии, наложенные на крыльях релеевского рассеяния, внимание было сосредоточено на эффектах микроволновых полей в раман-сдвигах больше 300 см^{-1} ; в данном отчете описаны рамановские сдвиги в спектрах от 0 до 200 см^{-1} вместе с их изменениями, обусловленными питательными веществами клеток.

Клетки *B. megaterium* и *E. Coli* выращивали 6 часов при 30°C в питательном бульоне, затем отмывали и ресуспендировали в 0,85% NaCl (физиологический раствор), выдерживали в ледяной ванне 15 минут для синхронизации и затем ресуспендировали до $5 \cdot 10^7$ кле-

ток/мл в подходящей для роста среде или физиологическом растворе. Используемая среда разводилась в $1 \cdot 10^{-3}$ М фосфатном буфере pH 6.9. Одинаковая концентрация клеток в каждой суспензии достигалась использованием специальных настроек лазерного раман-спектрометра и регулированием количества клеток/мл, пока интенсивность релеевской линии не достигала 80. Клетки затем инкубировались при 30°C в течении 15 минут, кюветы для раман-спектроскопии фирмы Кэри наполнялись аликвотами суспензии. Каждый последовательный скан делался на клетках в кювете, заново наполненной из исходной культуры, которую выдерживали в инкубаторе, но до деления клеток. Многочисленные измерения не показали значительных сильных линий на крыльях релеевского рассеяния ни в питательном растворе (рис. 1а), ни в суспензиях покоящихся клеток (рис. 1б). Поэтому приблизительный наклон к этому крылу был определен и затем исключен из спектра с помощью миникомпьютера BDP 11.

Используемый спектрофотометр Кэри был оборудован многопроходной лазерной системой, и работал в спектральной полосе шириной 2 см^{-1} или 5 см^{-1} со скоростью $1 \text{ см}^{-1}/\text{сек}$; его чувствительность была установлена в 20 тыс. или 10 тыс. отсчетов в минуту. Скорость отображения была или синхронизована со скоростью сканирования или была в 4 раза больше скорости сканирования для отображения записанных линий. Работал аргон-ионный лазер 5145 /AA и 400 мВт.

Типичный спектр *B. megaterium* через 30 минут после ресуспендирования в минимальной среде Дэвиса (NH_4^+ + глюкоза) (рис. 1с) показал три линии сдвига, соответствующие резонансным частотам $5.7 \cdot 10^{11}$, $3.75 \cdot 10^{12}$ и $4.3 \cdot 10^{12}$ Гц; скорректированный компьютером спектр показал явно четвертую частоту $1.2 \cdot 10^{11}$ Гц (рис. 1д). При добавлении caseamino acids (0.5%) в среду детектировались восемь линий, которые были позднее разделены увеличением чувствительности до 10 тыс. отсчетов в секунду и скорости отображения в 4 больше нормальной. Эти резонансные частоты отличались от тех, которые были в спектре клеток в первой среде. Они могут быть выражены как целые произведе-

¹ Университет Южной Флориды, Факультет физики, Тампа, Флорида 33620, США.

² Университет Саскачевана, Факультет механики, Саскатун, Канада.

Оригинальная публикация: Webb S. J. et al. Resonances between 10^{11} and 10^{12} Hz in active bacterial cells as seen by laser-Raman spectroscopy. Phys. Letts. 60A, 1977a. Перевод - В.А. Жигалов, А.Ю. Смирнов.

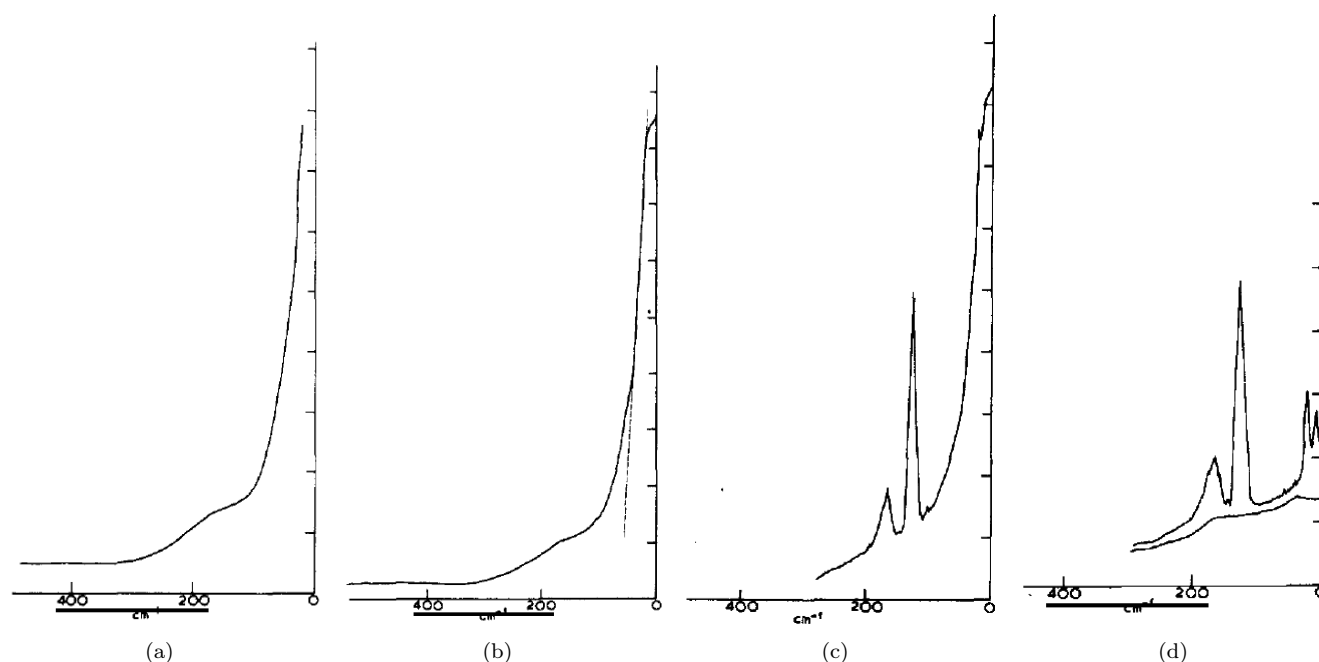


Рис. 1. Раман-спектры: (а) питательного раствора; (б) покоящихся клеток (*B. megaterium*), штриховая линия используется для компьютерной коррекции в (d); (с) активные синхронизированные клетки (*B. megaterium*); (d) То же, что в (с) с компьютерной коррекцией, нижняя линия - скорректированная базовая линия.

ния минимально детектированных частот, $7.5 \cdot 10^{10}$ Гц, используя последовательность целых 1, 2, 5, 9, 14, 18, 23 и 46, хотя для больших целых чисел это выражение не очевидно.

Спектры *E. Coli* в NH_4^+ -глюкозе показали пять линий между $6 \cdot 10^{11}$ и $6.6 \cdot 10^{12}$ Гц и семь в aminoacid-glucose. Фактические резонансные частоты отличаются от тех, что были в *B. megaterium* и в питательном растворе. В обоих случаях существует возможность частот, кратных минимальной частоте.

В живых бактериальных клетках появляются молекулярные резонансы между частотами $7.5 \cdot 10^{10}$ Гц и $5 \cdot 10^{12}$ Гц, ассоциированные с активным метаболизмом. Эти резонансы не присутствуют в покоящихся клетках, гомогенатах клеток или питательных растворах, поэтому, по-видимому, являются результатом специфической молекулярной организации *in vivo*, важной для жизненных процессов, которая отличается в соответствии с видом, но может быть изменена, в точном соответствии с заданным питательной средой потенциалом (*fenus*) клеток. Эти предварительные открытия подтверждают теоретическое предсказание Фрелиха [8], [9], [10], [11], по которым метаболическими процессами возбуждаются когерентные колебания в области частот 10^{11} - 10^{12} Гц, которые сильно влияют на биологическую активность.

Кроме того, резонансы на $7.5 \cdot 10^{10}$ Гц и $1.36 \cdot 10^{11}$ Гц, найденные в этих рамановских спектрах, коррелируют с ранее найденными частотами микроволн, влияющими на метаболизм бактериальных клеток [1], [2], [4]. Таким образом, по-видимому, необходимо повышение точности методов рассеивания и чувствительности

детектирования для обнаружения частот осцилляций *in vivo* и изучения их биологической значимости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] S.J. Webb and A.D. Booth. *Nature*, 218:374, 1968.
- [2] S.J. Webb and A.D. Booth. *Nature*, 222:1199, 1969.
- [3] S.J. Webb. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 247:351, 1975.
- [4] A.J. Berteaud et al. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 281:843, 1975.
- [5] S.J. Webb and A.D. Booth. *Science*, 174:72, 1971.
- [6] S.J. Webb and M.E. Stoneham. *Int. J. Quant. Chem. Quant. Biol.*, 2:339, 1975.
- [7] S.J. Webb, M.E. Stoneham and J. Montgomery. *IRCS Med. Sci.*, 4:8, 1976.
- [8] H. Fröhlich. *Intern. J. Quantum Chem.*, 2:641, 1968.
- [9] H. Fröhlich. *Nature*, 228:1093, 1970.
- [10] H. Fröhlich. *Phys. Lett.*, 51A:21, 1975.
- [11] H. Fröhlich. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 72:4211, 1975.