

HALINA BARAŃSKA

Instytut Chemii Przemysłowej im. Prof. I. Mościckiego
Zakład Analityczny
Warszawa

Spektrometria Ramana w badaniach biopolimerów

KOMUNIKAT

RAMAN SPECTROMETRY IN THE STUDIES OF BIOPOLYMERS

Summary — Results of work concerning the characterization by Raman spectra of the molecular changes in lenses of eyes in mammals during process of cataract formation were discussed. An example of the application of own method for the evaluation of temperature changes in laser beam crossing a water-containing biological material was also presented.

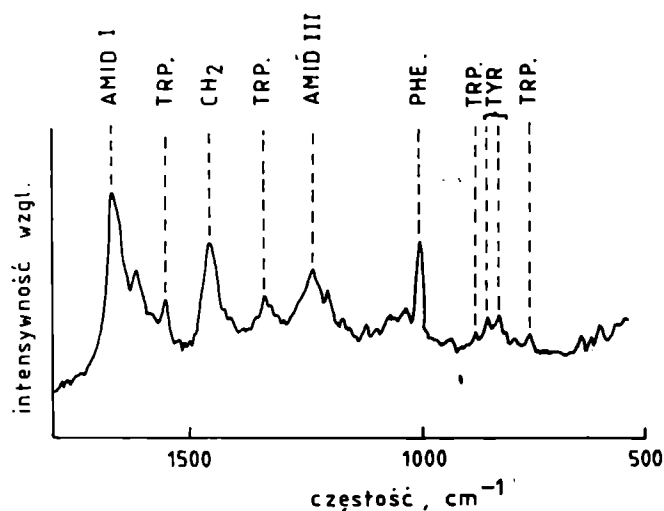
Materiał podany w niniejszym komunikacie pochodzi z prac prowadzonych przez autorkę w ramach tematu R.P.II.13, w IChP, w latach 1986—1990, w zespole: H. Barańska, A. Łabudzińska, A. Sokołowska^{*)}.

Specyficzne cechy spektrometrii Ramana ze wzbudzeniem laserowym pozwalają na badanie zmian zachodzących na poziomie cząsteczkowym także w próbkach biologicznych charakteryzujących się dużą zawartością wody. Dzięki łatwemu operowaniu wiązką lasera, możliwości doboru odpowiedniej częstotliwości i mocy linii wzbudzającej oraz opracowywaniu komputerowemu widm jest możliwe badanie bardzo małych próbek bez niszczenia materiału badanego (*in vitro* i *in vivo*).

Nasze badania dotyczyły zmian cząsteczkowych zachodzących w soczewkach oczu ssaków w procesie zaćmy. Zdrowa, nienaruszona soczewka oka młodego ssaka jest całkowicie przezroczysta dla światła widzialnego. Struktura przestrzenna głównych składników soczewki, supramolekuł białka i wody, jest wysoce uporządkowana. W procesie zaćmy następuje agregacja biopolimerów, która stopniowo doprowadza do mętnienia, twardnienia i w rezultacie do całkowitego zaniku przezroczystości soczewki.

Rys. 1 przedstawia widmo Ramana usuniętej operacyjnie soczewki oka człowieka z pełną zaćmą. Łańcuch polipeptydowy makrocząsteczki białkowej jest, jak wiadomo, utworzony z monomerycznych jednostek aminokwasowych połączonych wiązaniami amidowymi. W uzyskanym widmowym obrazie cząsteczkowym białek można zidentyfikować reszty poszczególnych aminokwasów, takich jak np. tyrozyna (TYR), tryptofan (TRP), fenyloalania (PHE) oraz grupy funkcyjne, takie jak np. CH₂, S-S, amid I, amid III. W procesie chorobowym zachodzą zmia-

ny wiązań i przekształcenia strukturalne, co pociąga za sobą zmiany położenia a także stosunków intensywności poszczególnych pasm widma.

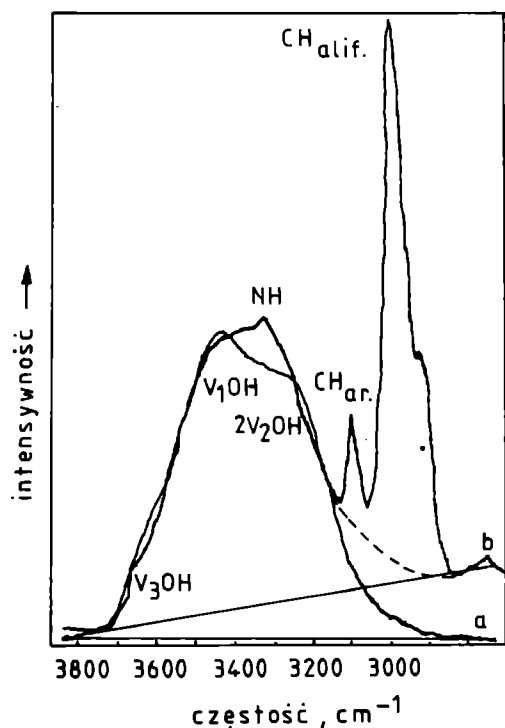


Rys. 1. Widmo Ramana w zakresie 500—1700 cm⁻¹ usuniętej operacyjnie soczewki oka człowieka z pełną zaćmą. Soczewki otrzymano dzięki uprzejmości dr med. A. Moszczyńskiej-Kowalskiej z Kliniki Okulistycznej A. M. w Warszawie. Widmo zarejestrowano w Uniw. Kopenhaskim za pomocą spektrometru firmy "Bruker", FTR-NIR, linia wzbudzająca 1,064 μm lasera Nd:YAG (dzięki uprzejmości dr. D. H. Christensena). Objaśnienia w tekście

Do badań klinicznych zaćmy *in vivo* konieczne jest ustalenie cząsteczkowych wskaźników rozwoju choroby. Zmiany w widmie pozwalają właśnie na ustalenie takich wskaźników. Pozwalają one również na śledzenie wpływu środków farmakologicznych na zmiany w soczewce.

^{*)} z Pracowni Oddziaływań Międzymolekularnych Katedry Chemii Uniwersytetu Warszawskiego.

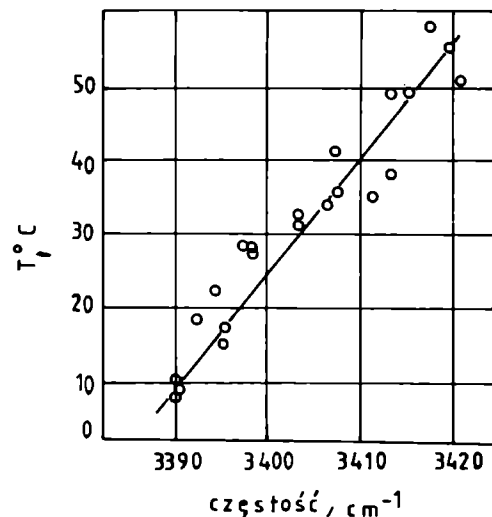
Poza częścią charakteryzującą białka, można w widmie Ramana rejestrować w obszarze dużej częstotliwości pasma drgań wody. Jest to obszar szczególnie interesujący ze względu na rolę jaką odgrywa woda w organizmach żywych. Rys. 2 przedstawia kontury pasm, w których uwi-



Rys. 2. Widma Ramana [6]: a) czystej (destylowanej) wody, b) zdrowej, przezroczystej soczewki oka cielaka (spektrometr firmy "Coderg", laser Ar^+ firmy "Spectra-Physics", linia wzbudzająca 488,0 nm, temp. 24°C); objaśnienia w tekście

daczniają się drgania rozciągające OH ν_1 i ν_3 , a także rezonans Fermiego pierwszego nadtonu drgania deformacyjnego OH $2\nu_2$ z drganiem ν_1 . Kontury te są bardzo czułe na oddziaływania międzycząsteczkowe i na temperaturę. Parametry składowej $\nu_1(\text{OH})$ konturu, takie jak położenie, intensywność i stopień depolaryzacji (łatwo mierzalny ze względu na liniową polaryzację wiązki lasera) stanowią, jak to wynika z naszych badań [1], dobre wskaźniki zmian temperatury (położenie maksimum pasma ν_1) i stopnia uporządkowania elementów struktury soczewki oka (stopień depolaryzacji).

Na podstawie wyników naszych pomiarów zaproponowaliśmy sposób szacowania temperatury w wiązce laserowej przechodzącej przez materiał biologiczny zawierający wodę [2] (rys. 3). Zaproponowaliśmy również pomiar



Rys. 3. "Termometr" — pomiar temperatury (T) próbki w wiązce laserowej na podstawie zmian położenia maksimum pasma $\nu_1(\text{OH})$ w zależności od temperatury. $\nu_1(\text{OH})$: ○ — w wodzie destylowanej, ● — w soczewkach oka wołu i świni

"stopnia depolaryzacji" (dokładnie — stosunku intensywności składowych polaryzacyjnych VH i VV) drgań w pełni symetrycznych $\nu_1(\text{OH})$ i 1004 cm^{-1} (PHE) jako wskaźnik odstępstwa układu (wnętrza soczewki) od jednofazowej struktury ciekłokrystalicznej, co ma miejsce w trakcie powstawania zaćmy [3]. Nasze dane doświadczalne [4] popierają ideowy model falowy Wattersona [5] sugerujący istnienie dużych klastrów woda—białko w układach biologicznych.

LITERATURA

1. Barańska H., Łabudzińska A., Sokołowska A.: Sprawozdania IChP: 180/86, 550/87, 512/88, 524/89, 44/90.
2. Barańska H., Łabudzińska A.: *Appl. Spectrosc.* 1987, 41, 1068.
3. Barańska H., Łabudzińska A.: *Proc. ICORS XI*, str. 1313 (Red. Clark R. J. H., Long D. A.), J. Wiley and Sons, Chichester 1988.
4. Barańska H., Łabudzińska A., Sokołowska A.: "Spectroscopy of Biological Molecules-State of the Art" (Red. Bertoluzza A., Fagnano C., Monti P.), Società Editrice Esculapio, Bologna 1989, str. 417.
5. Watterson J. G.: *BioSystems* 1988, 22, 51.
6. Barańska H., Łabudzińska A.: *Lens and Eye Tox. Res.* 1991, 8, 189.