

Мощный источник терагерцового излучения для изучения воздействия на конформацию белка

© В.В. Тепляков¹, О.П. Черкасова^{1,2,3}, М.М. Назаров¹, М.Р. Конникова^{1,4}, В.А. Твердислов⁴, П.М. Готовцев¹

¹ Национальный исследовательский центр „Курчатовский институт“, Москва, Россия

² Институт автоматики и электрометрии СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Институт лазерной физики СО РАН, Новосибирск, Россия

⁴ Московский государственный университет, Физический факультет, Москва, Россия

e-mail: tepliakov.vv17@physics.msu.ru

Поступила в редакцию 12.12.2024 г.

В окончательной редакции 17.12.2024 г.

Принята к публикации 07.04.2025 г.

Проведено исследование воздействия терагерцовых импульсов с энергией $10 \mu\text{J}$, пиковым полем 1.3 MV/cm и спектром от 1 до 6 THz на белок (бычий сывороточный альбумин). Облучали белок, предварительно спрессованный в таблетку. Время воздействия составило 15 min. После облучения белок растворяли в воде в концентрации 1 mg/mL . Методами УФ спектроскопии в диапазоне 220–360 nm было установлено уменьшение молярного коэффициента экстинкции, что может быть интерпретировано как признак структурных изменений в молекулах белка при облучении терагерцовым излучением с указанными параметрами.

Ключевые слова: интенсивное терагерцовое излучение, воздействие, альбумин, УФ спектроскопия.

DOI: 10.61011/OS.2025.05.60798.22-25

Введение

К терагерцовому (ТГц) излучению принято относить диапазон частот от 0.1 до 10 THz [1,2]. Исследование взаимодействия ТГц излучения с биологическими объектами представляет интерес в связи с неионизирующим характером воздействия, совпадением частот излучения с характерными частотами колебательно-вращательных мод органических молекул и частотами межмолекулярных колебаний [3,4]. Развитие применений ТГц излучения в биологии и медицине связано с появлением доступных источников этого типа излучения [5–8]. Интенсивный рост числа публикаций, связанных с применением ТГц излучения для исследования биологических объектов, наблюдается с девяностых годов прошлого столетия, что связано с открытием новых способов генерации и детектирования ТГц излучения [9,10]. К настоящему времени уже показано влияние ТГц излучения на всех уровнях организации биологической материи [11]: молекулярном [12,13], клеточном [14,15], тканевом [16,17] и организменном [18,19].

Однако разнообразие условий ТГц экспозиции, модельных биологических объектов и способов их анализа создаёт проблему недостаточной согласованности и воспроизводимости результатов исследований [9,20]. При исследовании эффектов ТГц излучения необходимо обращать внимание на следующие основные категории экспериментальных условий, которые значительно варьируются в разных работах и могут оказать критическое

влияние на результат каждого отдельного исследования, а именно дизайн экспозиции, параметры облучаемого биологического объекта, его оптические характеристики в ТГц диапазоне частот, а также методы анализа эффекта воздействия [3,9,14,21]. Дизайн экспозиции задаётся источником ТГц излучения и его характеристиками, такими как частотный спектр излучения, интенсивность, длительность и скважность импульсов, пространственное распределение и др. По частоте используется как излучение монохроматическое, или узкополосное, так и широкополосное. При наличии модуляции излучение характеризуется дополнительными параметрами, такими как частота следования импульсов, длительность импульса и пиковая интенсивность. Под режимом облучения подразумевается наличие одного или нескольких циклов ТГц экспозиции и их длительность. Организация доставки излучения к образцу обеспечивается исходя из оптических особенностей преодолеваемых излучением сред и необходимости соблюдения специальных условий для биологических образцов [14,21].

Взаимодействие ТГц излучения с биологическими молекулами, особенно с белками, которые выполняют важнейшие регуляторные функции и представлены в значительных количествах в клетках и тканях организма, может привести к изменению их активности и, как результат, к изменению функций клеток и организма в целом [3,9,11]. Поэтому исследования влияния ТГц излучения на молекулы белков являются актуальной задачей.

Удобным модельным объектом исследования является глобулярный белок альбумин, который выполняет транспортные функции в крови человека и животных. Единственная полипептидная цепь молекулы сывороточного альбумина, имеющая преимущественно конформацию α -спирали, сложена в виде петель, образующих домены, которые способны обратимо связывать различные вещества, включая гормоны, ионы металлов, жирные кислоты и т.п. [22,23]. Показано, что структура альбумина лабильна, и в ней происходят конформационные изменения даже при относительно слабых воздействиях [23], в том числе и ТГц излучения [12,24].

Таким образом, цель настоящей работы состояла в изучении взаимодействия интенсивного, широкополосного импульсного ТГц излучения с молекулами бычьего сывороточного альбумина (БСА).

Для получения интенсивного ТГц излучения использовали преобразование фемтосекундного тераваттного лазерного импульса в тонкой пластине кристалла ниобата лития (LiNbO_3 , ЛН) [25]. ЛН обладает высокой лучевой прочностью и нелинейностью, а также доступен в виде промышленных пластин большой площади и малой толщины [26]. Высокие пороги оптического пробоя и насыщения в кристалле ЛН позволяют использовать высокие интенсивности лазерной накачки, что квадратично повышает эффективность в процессе генерации ТГц излучения. Большая доступная площадь пластин из ЛН позволяет получать высокую итоговую энергию ТГц импульса от мульти-тераваттного лазерного источника [25].

Материалы и методы

Характеристика источника ТГц излучения

В настоящей работе использовали тераваттную лазерную систему, установленную в НИЦ „Курчатовский Институт“, со следующими параметрами: энергия на кристалле ЛН — 250 мДж, частота повторения импульсов — 10 Нз, центральная длина волны — 800 нм, длительность импульса — 30 фс (рис. 1, а).

Для генерации ТГц излучения в ходе предыдущих работ была выбрана оптимальная плотность энергии (т.е. размер пучка на кристалле) для фактической лучевой прочности, которая составляет 60–120 мДж/см² (для 30 фс, 10 Нз и 800 нм), что соответствует интенсивности 2–4 ТВт/см² [25]. Кроме того, ЛН — это один из наиболее широко используемых многофункциональных кристаллов со многими уникальными свойствами, включая электрооптические, акустооптические, нелинейно-оптические, пьезоэлектрические и ферроэлектрические свойства. Он хорошо подходит для генерации ТГц излучения в силу высокого значения нелинейного оптического коэффициента [27], несмотря на сильное поглощение ТГц излучения в нём. Важным отличием нашего ТГц источника от традиционных призм с наклонным волновым фронтом из ЛН является несинхронная генерация ТГц

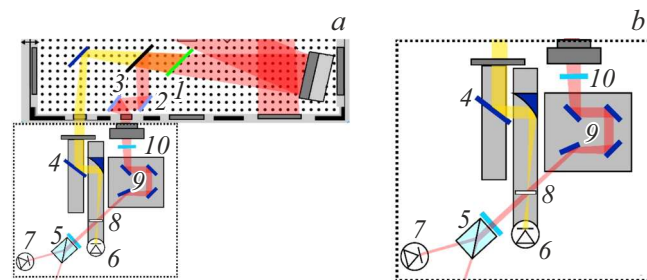


Рис. 1. Схема установки для генерации ТГц излучения (жёлтый луч) из лазерного излучения (красные лучи) с детализацией измерения длительности ТГц импульса. (а) Общий вид установки: 1 — кристалл ЛН, 2 — кремниевые зеркала, 3 — делитель оптического пучка. (б) Схема измерения временной формы ТГц импульса: 4 — зеркала, 5 — призма Воластона, 6 — ячейка Голя, 7 — CCD-камера, 8 — кристалл электрооптического детектирования (при диагностике параметров излучения) или образец БСА (в эксперименте по воздействию), 9 — линия подстройки задержки, 10 — поляризатор.

излучения в тонком выходящем слое кристалла. Именно она позволяет, во-первых, получать частоты выше 6 ТНз, во-вторых, легко перестраивать длительность и ширину спектра ТГц излучения, растягивая оптический импульс [25]. Для обеспечения оптимального размера лазерного пучка на ЛН излучение заранее „мягко“ сжималось сферическим зеркалом с фокусным расстоянием 2.5 м и падало через систему поворотных зеркал на кристалл толщиной 100 мкм. Диаметр сходящегося пучка составлял 3 см по уровню $1/e^2$. Сгенерированное, слабосходящееся ТГц излучение зеркалами подводилось к образцу и ещё дофокусировалось короткофокусным параболическим зеркалом ($f = 5$ см) либо на образец (таблетка БСА), либо на другой нелинейный кристалл (GaP) для детектирования длительности (рис. 1, б). Прошедшее через ЛН кристалл лазерное излучение выводилось из ТГц пучка специальным светоделителем на тонкой подложке из кристаллического кварца, прозрачного для ТГц излучения. Остатки неотражённого лазерного излучения (3 %) блокировались черным полиэтиленом. Светоделитель отражал 97 % энергии лазерного излучения, и после ослабления этот луч использовался для измерения длительности ТГц импульса. После кристалла-детектора (или после таблетки БСА) прошедшее ТГц излучение измерялось ячейкой Голя для контроля энергии (рис. 1, б).

Экспериментально было выявлено, что при попытках использования импульса с энергий, несколько меньшей, чем 10 мДж, эффект воздействия на БСА отсутствует, поэтому использовались импульсы с такой энергией. Технически возможно было использование и больших ТГц энергий, однако для лучшей сохранности кристалла ЛН при длительном облучении (время воздействия 15 мин) был выбран вышеуказанный параметр.

Для измерения длительности и спектра ТГц импульса создана приставка одновыстрельного электрооптическо-

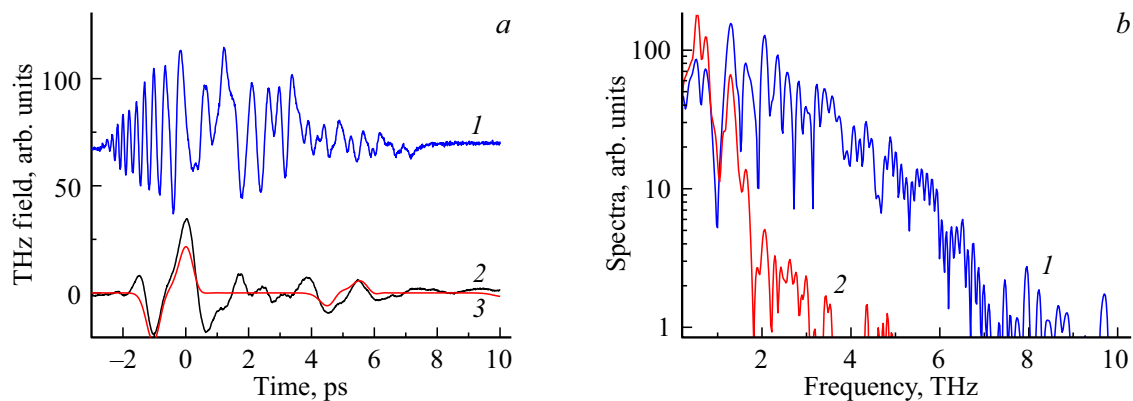


Рис. 2. (a) — временные профили ТГц импульсов, полученные для случая лазерного излучения длительностью 30 fs (1), 250 fs (2), моделирование для случая 250 fs (3); (b) — соответствующие спектры ТГц импульсов (1) и (2).

го детектирования (ЭОД) (рис. 1, b) [28]. Кристаллом-детектором (рис. 1, обозначение 8) служил GaP толщиной $100\text{ }\mu\text{m}$, который для $\lambda = 800\text{ nm}$ способен детектировать без существенных искажений ТГц излучение от 0.05 до 7 THz. Наклонное падение зондирующего луча относительно ТГц луча на ЭОД кристалл превращало развёртку по пространству (измеряемую CCD-камерой) в развёртку по времени, т.е. показывало временной профиль ТГц импульса на CCD-камере за один лазерный „выстрел“. Размер апертуры ТГц пучка в точке ЭОД составлял 5 mm. При угле между лучами 20° это обеспечивало диапазон измерений 5 ps. Для передвижения измеряемого временного окна при необходимости использовалась линия задержки 9 (рис. 1) (в том числе для расширения диапазона измерений, используя сшивку нескольких смещённых кадров, как на рис. 2, a для интервала 12 ps). Наведённое ТГц импульсами двулучепреломление порождало вертикальную поляризацию в измеряемом плече пробного пучка, направляемого на CCD-камеру. Для оптимальной чувствительности входящий поляризатор 10 пропускал малую (порядка 10^{-6}) долю вертикальной поляризации. На этом слабом фоне отрицательные значения ТГц поля выглядели как темные полосы (относительно слабого фона), положительные части поля импульса давали светлые полосы.

Используя преобразование Фурье измеренной временной формы ТГц импульса, получен спектр импульса (рис. 2), важным качеством которого является наличие относительно больших энергий в высоких частотах (после 3 THz), что не было достигнуто ранее в опубликованных работах по мощным ($> 10\text{ mJ}$) ТГц импульсам. Измеренный нами спектр продолжается до 6 THz. Пиковая интенсивность ТГц поля $I_{\text{THz}} \sim 0.6\text{ W}/(w^2\tau)$ [29] составила $2.2\text{ GW}/\text{cm}^2$, где длительность по полувысоте для высокочастотного случая составила $\tau = 3\text{ ps}$ (рис. 2, a), энергия $W = 10\text{ }\mu\text{J}$, фокусировка в пятно со средним (по частотам) радиусом $w = 0.3\text{ mm}$ по уровню $1/e^2$ (измерено по пропусканию энергии ТГц импульса через диафрагмы диаметрами

0.5–1.5 mm). Это соответствует величине ТГц поля $E_{\text{THz}}[\text{V}/\text{cm}] = 27.45(I_{\text{THz}}[\text{W}/\text{cm}^2])^{0.5}$ [29], в нашем случае $E_{\text{THz}} \approx 1.3\text{ MV}/\text{cm}$.

Высокое значение пикового ТГц поля проверялось по наведённой ТГц импульсом прозрачности в полупроводниках — известный в литературе метод при z-сканировании [29,30]. В нашем случае в положении 8 (рис. 1) p-допированный кремний ($n_e = 2.5 \cdot 10^{16}\text{ cm}^{-3}$) толщиной $270\text{ }\mu\text{m}$ изменял своё пропускание от величины 10 % в 1 cm от перетяжки ТГц луча до величины 16 % в перетяжке ТГц излучения. Такое наведённое просветление возможно только при ТГц импульсе с μJ -энергией, ps-длительностью и субмиллиметровой фокусировкой, т.е. при полях более 1 MV/cm.

При измеренной длительности ТГц импульса ожидаемый однопериодный импульс диспергировал в обе стороны по времени, и общая длительность составила порядка 5 ps. Расплывание связано как с дисперсией высоких ТГц частот в кристалле ЛН в процессе генерации, так и с дисперсией в кристалле-детекторе и в делителе. Расплывание можно „выключить“, если растянуть лазерный импульс до 250 fs, тогда вся ТГц энергия сосредоточится в области низких частот 0.2–1 THz, где дисперсия во всех используемых нами материалах мала. Таким образом можно повысить пиковое ТГц поле (для низкочастотного ТГц импульса на рис. 2, a $\tau \approx 1\text{ ps}$ при $W = 5\text{ }\mu\text{J}$, $E = 1.6\text{ MV}/\text{cm}$). Но максимальная общая ТГц энергия получается при наиболее коротком ТГц импульсе. В модельных расчётах (рис. 2, красная кривая) учитывались дисперсии и толщины обоих кристаллов (генератора и детектора) [31,32]. Спектр чувствительности кристалла GaP толщиной $100\text{ }\mu\text{m}$ заведомо шире, чем диапазон 6 THz. По совпадению модели и эксперимента уточнялись толщины, временные профили и спектры, выявлялись причины „расплывания“ THz импульса по времени. Второй импульс в районе 5 ps связан с генерацией на входящей грани ЛН.

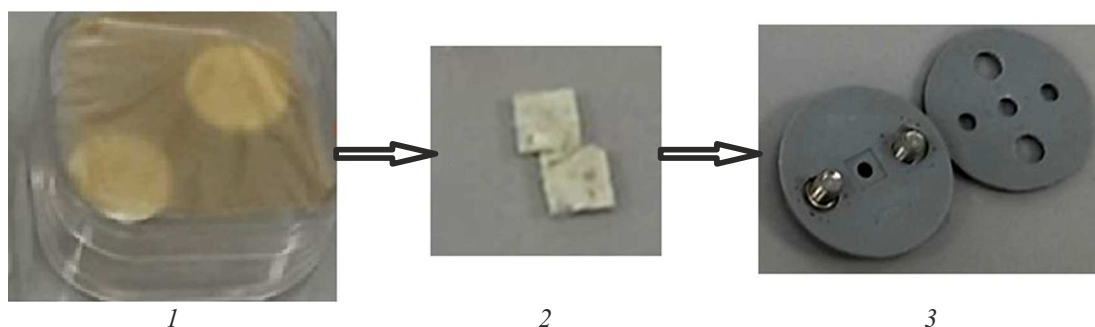


Рис. 3. Этапы подготовки образцов: (1) таблетки БСА, (2) часть таблетки, (3) держатель для облучения части таблетки.

Подготовка образцов

В работе использовали БСА (Sigma-Aldrich, США). Сухой препарат БСА был спрессован при помощи гидравлического пресса под давлением 3 т в таблетки диаметром 13 мм и толщиной $290 \pm 27 \mu\text{m}$. Средняя масса таблетки составила $5.7 \pm 0.5 \text{ mg}$. Для повышения доли облучённого вещества (облучалась область порядка $2 \times 2 \text{ mm}$) середина таблетки вырезалась (18–25 % от исходной массы, размером $4 \times 4 \text{ mm}$), вставлялась в специальный держатель (рис. 3), распечатанный на 3D-принтере, и помещалась в экспериментальную установку для облучения (рис. 1). Совмещение центра держателя образца с ТГц перетяжкой осуществлялось по максимуму прошедшего ТГц излучения через пустую оправу.

Время облучения составило 15 min. В качестве контрольных образцов были выбраны таким же образом подготовленные образцы БСА, но не подвергающиеся облучению. Экспериментальные и контрольные образцы готовили в день проведения облучения. Всего было выполнено три серии экспериментов с тремя экспериментальными и контрольными образцами в каждой серии.

Через 30 min после проведения облучения экспериментальные и контрольные образцы растворяли в бидистиллированной воде в концентрации 1 mg/mL. УФ спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-3600 (Япония) в стандартных кварцевых кюветах (длина оптического пути 1 cm, объем 3 ml). Диапазон измерений 200 – 350 nm. В канал сравнения помещали кювету с бидистиллированной водой. Результаты представляли в виде зависимости коэффициента молярной экстинкции от длины волны.

Результаты и обсуждение

В настоящей работе для облучения белка использовали созданный уникальный источник ТГц излучения, имеющий широкий спектр (до 6 THz при энергии $10 \mu\text{J}$) и интенсивность до 3 GW/cm^2 [25]. При анализе эффектов ТГц излучения большое значение имеет анализ дозы, полученной облучаемыми объектами [33,34]. Следует

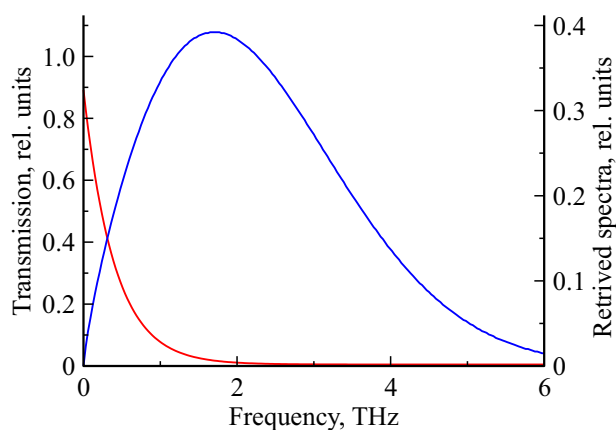


Рис. 4. Рассчитанный спектр пропускания таблетки БСА толщиной $300 \mu\text{m}$ (красная кривая) и модельный спектр используемого ТГц источника (синяя кривая).

учитывать, что излучение может отражаться от объекта, проходить сквозь объект и/или поглощаться им. Толщина таблетки БСА подбиралась таким образом, чтобы 90 % падающего излучения поглощалось. Исходя из данных по поглощению БСА, спрессованного в таблетки, в ТГц диапазоне частот [35,36] была рассчитана оптимальная толщина таблетки, которая составила $300 \mu\text{m}$ (рис. 4). При подготовке образцов средняя толщина таблетки была $290 \pm 27 \mu\text{m}$. Полный диаметр ТГц пучка был 2 mm, в эту область помещался сегмент таблетки соизмеримого размера. Прямые измерения прошедшего ТГц излучения показали, что около 10 % энергии ТГц импульса проходит сквозь образец при облучении, и этот показатель не изменяется в процессе облучения в пределах ошибки измерений, которая составляет 3 %. Из рис. 4 следует, что частоты ниже 1 THz поглощаются не полностью в образце и могут проходить сквозь него, частоты 2 – 3 THz поглощаются полностью и по всей глубине, частоты 4 – 6 THz могут поглощаться только в поверхностном слое образца.

Учитывая поглощенное таблеткой БСА излучение, размеры таблетки, время облучения $t = 15 \text{ min}$ (900 s), частоту следования импульсов (10 Hz) можно оценить

поглощенную дозу D :

$$D = \frac{dE}{dm},$$

E — поглощённая энергия, m — масса тела,

$$E = E_0 - E',$$

E_0 — суммарная падающая на образец энергия, E' — суммарная прошедшая энергия,

$$\frac{E'}{E_0} = \frac{I'}{I_0} \text{ (из закона Бугера-Ламберта-Бэра) } = 0.1.$$

Тогда $E = 0.9E_0$, $E_0 = E_{01}N$, E_{01} — энергия 1 импульса, N — их число,

$$N = ft = 10 \text{ Hz} \cdot 900 \text{ c} = 9000,$$

$$E = 0.9E_0 = 0.9E_{01}ft = 0.9 \cdot 10 \mu\text{J} \cdot 10 \text{ Hz} \cdot 900 \text{ c}$$

$$= 81 \text{ mJ},$$

$$D = \frac{dE}{dm} = \frac{81 \text{ mJ}}{1.25 \text{ mg}} = 64.8 \frac{\text{mJ}}{\text{mg}}.$$

Исходя из приведенных выше расчетов поглощенная энергия составила 81 мДж, а поглощенная доза — 64.8 кДж/кг. При облучении клеток, тканей и организмов в ТГц диапазоне частот тяжело оценить поглощенную дозу [33], тем более что в настоящее время не существует общепринятых безопасных доз облучения, разработанных для ТГц диапазона [3,6,9]. Это связано с тем, что еще недостаточно понятны механизмы взаимодействия ТГц излучения с биологическими объектами. При оценке эффектов ТГц излучения, как правило, используют величину интенсивности падающего излучения. В нашем случае этот показатель составляет 70 мВт/см². Международные стандарты, разработанные комиссией по защите от неионизирующей радиации, для электромагнитного излучения с частотой, не превышающей 300 ГГц, основаны на оценке тепловых эффектов и устанавливают уровень интенсивности 1 мВт/см² как безопасный [37]. Выше 300 ГГц установленных ограничений для облучения биологических объектов не существует. Разработанные ограничения применяются только к лазерному излучению, где в зависимости от типа излучения лазера пределы безопасности находятся в диапазоне от 1 до 100 мВт/см² [3,33].

Спектр УФ поглощения БСА имеет две полосы поглощения разной интенсивности в диапазоне 200–350 нм. Первая, наиболее интенсивная полоса в области 200–220 нм обусловлена наличием большого числа амидных групп в составе пептидных связей. Вторая, менее интенсивная полоса поглощения при 278 нм определяется вкладом в поглощение ароматических аминокислот триптофана и тирозина [23]. Изменение конформации альбумина отражается на изменении характеристик поглощения именно этой полосы. На

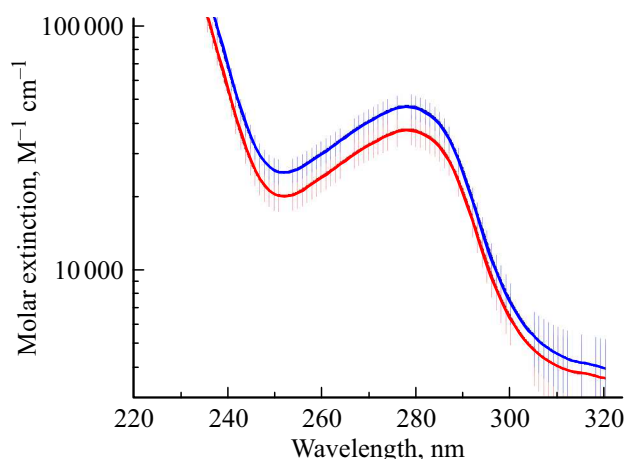


Рис. 5. Коэффициент молярной экстинкции растворов БСА до (синяя линия) и после облучения (красная линия). Относительные ошибки рассчитаны для трех независимых измерений.

рис. 5 приведена зависимость коэффициента молярной экстинкции от длины волны для облученных и контрольных образцов. Форма спектра совпадает со спектром БСА, сообщенным ранее [12]. Наибольшие отличия в амплитуде спектров наблюдаются на длинах волн 250 и 278 нм. В трёх независимых сериях измерений (по 3 облучённых образца в каждой серии) повторился качественно эффект просветления облучённого образца относительно контрольного на величину порядка $3 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

В настоящем исследовании поглощение облученного белка уменьшается относительно поглощения необлученного БСА в диапазоне 220–320 нм. В работах [12,38,39] было показано, что при облучении сухих препаратов БСА непрерывным излучением с частотой 3.67 ТГц, интенсивностью 20 мВт/см² в течение 60 мин поглощение БСА на длине волны 278 нм увеличивается. Изменение в поглощении альбумина связывают с изменением его конформации после облучения [12,24]. При этом заметных различий в амплитудах спектров на длине волны 250 нм не отмечено. В тоже время при облучении такого же образца БСА широкополосным импульсным ТГц излучением в диапазоне 0.05–1.3 ТГц, средней мощностью 150 нВт, частотой следования импульсов 80 МГц и длительностью импульса 2.5 пс [40] наблюдается уменьшение амплитуды поглощения на длине волны 250 нм по сравнению с необлученными препаратами. При этом на длине волны 278 нм наблюдается увеличение поглощения облученного белка, как и при облучении непрерывным излучением с частотой 3.67 ТГц. Считают, что длина волны 250 нм отвечает за поглощение 17 дисульфидных связей в молекуле БСА [23], обуславливающих подвижность ее глобулы. Квантово-химическое моделирование показало, что эти структуры в молекуле БСА могут участвовать в конформационных переходах под действием ТГц излучения [24,41].

Параметры ТГц излучения и эффекты воздействия на БСА

№	$\Delta\nu$, THz	f , MHz	τ_p , ps	I_{av} , mW/cm ²	t , min	Эффект	Ссылка
1	1 – 6	10^{-5}	3	70	15	Уменьшение УФ поглощения на 250 и 278 nm	Настоящая работа
2	2.3	5.6	50	35	9	Уменьшение УФ поглощения на 278 nm	42
3	0.05 – 1.3	80	2.5	$2.1 \cdot 10^{-3}$	30	Уменьшение УФ поглощения на 250 nm, увеличение — на 278 nm	40
4	0.2 – 1.5	80	3	$50 \cdot 10^{-6}$	60	Увеличение числа центров связывания по данным ЭПР спектроскопии	24, 41
5	3.67	—	—	20	60	Увеличение УФ поглощения на 278 nm, уменьшение константы связывания БСА	38,39 12

Примечание: $\Delta\nu$ — спектральный диапазон, f — частота следования импульсов, τ_p — длительность импульса, I_{av} — средняя интенсивность излучения, t — время облучения.

Уменьшение амплитуды УФ поглощения, как и в настоящей работе, наблюдали в спектре облученного БСА при облучении сухих препаратов БСА в специальной кювете лазером на свободных электронах с частотой 2.3 THz, частотой следования импульсов 5.6 MHz, длительностью импульса 50 ps, мощностью 250 mW, временем облучения 9 min [42]. После облучения препарат БСА растворяли в воде в концентрации 1 mg/mL. Сравнение наших результатов с ранее сообщенными данными по облучению молекул БСА приведены в таблице.

Как видно из таблицы, наблюдается различие в воздействии непрерывного и импульсного ТГц излучения на молекулы БСА: при воздействии непрерывного лазера с частотой 3.67 THz наблюдается увеличение УФ поглощения на длине волны 278 nm, при воздействии мощного импульсного источника ТГц излучения, используемого в настоящей работе и в работе [42], наблюдается уменьшение поглощения белка на этой длине волны. В этой же работе было показано уменьшение ИК поглощения образцов БСА после облучения. Образцы были помещены в специальные кюветы с фторопластовыми окнами, прозрачными для ТГц и ИК излучения. Схема эксперимента была построена таким образом, что сначала регистрировали ИК спектр, затем проводили облучение образца и снова регистрировали ИК спектр, т.е. каждый облученный образец был для себя и контролем. Такой подход позволяет минимизировать ошибки при изучении эффектов воздействия. Описаны примеры сочетания ТГц облучения и регистрации эффектов в одной экспериментальной схеме, например регистрация флуоресценции [43] или применение высокочувствительной рентгеновской кристаллографии для установления изменения структуры белка при облучении [44]. Это позволяет наблюдать эффекты ТГц воздействия в реальном времени.

Наблюдаемые нами изменения в спектрах облученного БСА не связаны с тепловыми эффектами, так как оцененное нами изменение температуры образца при проведении облучения с указанными параметрами

не превышает 0.4 °C. Ранее было показано, что нагрев образцов БСА до 50 °C не вызывал подобных изменений в спектрах УФ поглощения [38,42].

Следует отметить, что в приведенных выше работах использовался разный протокол облучения БСА. В ряде статей сухой порошок БСА помещали в открытую коническую пробирку, и излучение заводили сверху [12,40]. В другом эксперименте использовали специальные кюветы для сухого порошка [42]. В ряде работ облучали пленки БСА, нанесенные из водного раствора на кварцевую подложку [24,38,39,41]. Облучение БСА в форме прессованной таблетки позволяет точнее рассчитать дозу облучения.

В настоящем исследовании мы использовали один из самых простых методов для обнаружения эффектов ТГц облучения, а именно регистрацию спектров УФ поглощения. Ранее было показано, что увеличение УФ поглощения под действием ТГц излучения сопровождалось уменьшением сигнала флуоресценции и связывающей способности БСА [12], а также изменениями в спектрах кругового дихроизма [12,45], т.е. были подтверждены более чувствительными к конформационным модификациям методами. Таким образом, наблюдаемые нами изменения в УФ спектрах поглощения БСА при облучении интенсивным источником ТГц излучения подтверждают наличие конформационных изменений.

Заключение

В настоящей работе представлены первые результаты применения уникального источника мощного и широкополосного ТГц излучения для исследования взаимодействия этого типа излучения с биологическими объектами. Для генерации ТГц излучения был выбран оригинальный способ несинхронной накачки тонкого кристалла ниобата лития вблизи порога пробоя. Было проведено исследование воздействия импульсов с энергией 10 μ J, пиковым полем 1.3 MV/cm и широким спектром от 1 до 6 THz на БСА, прессованный в таблет-

ки. Время воздействия составило 15 min. Воздействие является нетепловым, так как расчетное увеличение температуры составило 0.4 °C. После облучения белок растворяли в воде в концентрации 1 mg/ml. Методами УФ спектроскопии было показано уменьшение молярного коэффициента экстинкции на длинах волн 250 и 278 nm, что связано с изменением конформации белка при облучении. Проведено сравнение с имеющимися литературными данными. Выявлены различия в реакции БСА на непрерывное и импульсное ТГц излучение.

Финансирование работы

Работа проведена частично в рамках выполнения государственного задания Национального исследовательского центра „Курчатовский институт“, тематики 2П.1 и 2Ф.4.2 (генерация ТГц излучения, проведение экспериментов), частично в рамках выполнения государственного задания Института автоматики и электрометрии СО РАН (FWNG-2024-0025) и Института лазерной физики СО РАН (FWGU-2026-0005) (анализ экспериментальных данных).

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] Y.-S. Lee. *Principles of terahertz science and technology* (Springer-Verlag, USA, 2009). DOI: 10.1007/978-0-387-09540-0
- [2] С.-Ч. Чжан, Д. Шю. *Терагерцовая фотоника* (Институт компьютерных исследований, М.-Ижевск, 2016), с. 334.
- [3] О.П. Черкасова, Д.С. Сердюков, А.С. Ратушняк, Е.Ф. Немова, Е.Н. Козлов, Ю.В. Шидловский, К.И. Зайцев, В.В. Тучин. *Опт. и спектр.*, **128** (6), 852 (2020). DOI: 10.21883/OS.2020.06.49420.51-20
- [4] O.A. Smolyanskaya, N.V. Chernomyrdin, A.A. Konovko, K.I. Zaytsev, I.A. Ozheredov, O.P. Cherkasova, M.M. Nazarov, J. P. Guillet, S.A. Kozlov, Yu.V. Kistenev, J.L. Coutaz, P. Mounaix, V.L. Vaks, J.H. Son, H. Cheon, V.P. Wallace, Yu. Feldman, I. Popov, A.N. Yaroslavsky, A.P. Shkurinov, V.V. Tuchin. *Prog. Quant. Electron.*, **62**, 1 (2018). DOI: 10.1016/j.pquantelec.2018.10.001
- [5] В.Л. Братман, А.Г. Литвак, Е.В. Суворов. *УФН*, **181** (8), 867 (2011). DOI: 10.3367/UFNr.0181.201108f0867
- [6] K.I. Zaytsev, I.N. Dolganova, N.V. Chernomyrdin, G.M. Katyba, A.A. Gavdush, O.P. Cherkasova, G.A. Komandin, M.A. Shchedrina, A.N. Khodan, D.S. Ponomarev, I.V. Reshetov, V.E. Karasik, M. Skorobogatiy, V.N. Kurlov, V.V. Tuchin. *J. Opt.*, **22**, 013001 (2020). DOI: 10.1088/2040-8986/ab4dc3
- [7] X. Chen, H. Lindley-Hatcher, R.I. Stantchev, J. Wang, K. Li, A.H. Serrano, Z.D. Taylor, E. Castro-Camus, E. Pickwell-MacPherson. *Chem. Phys. Rev.*, **3**, 011311 (2022). DOI: 10.1063/5.0068979
- [8] A.I. Nikitkina, P. Bikmulina, E.R. Gafarova, N.V. Kosheleva, Y.M. Efremov, E.A. Bezrukov, D.V. Butnaru, I.N. Dolganova, N.V. Chernomyrdin, O.P. Cherkasova, A.A. Gavdush, P.S. Timashev. *J. Biomed. Opt.*, **26** (4), 043005 (2021). DOI: 10.1117/1.JBO.26.4.043005
- [9] O.P. Cherkasova, D.S. Serdyukov, E.F. Nemova, A.S. Ratushnyak, A.S. Kucheryavenko, I.N. Dolganova, G. Xu, M. Skorobogatiy, I.V. Reshetov, P.S. Timashev, I.E. Spektor, K.I. Zaytsev, V.V. Tuchin. *J. Biomed. Opt.*, **26** (9), 090902 (2021). DOI: 10.1117/1.JBO.26.9.090902
- [10] И.В. Ильина, Д.С. Ситников, М.Б. Агранат. *TBT*, **56** (5), 814 (2018). DOI: 10.31857/S004036440003379-0
- [11] V. Fedorov, S. Popova, A. Pisarchik. *Int. J. Infrared Millim. Waves*, **24** (8), 1235 (2003). DOI: 10.1023/A:1024801304083
- [12] О.П. Черкасова, В.И. Фёдоров, Е.Ф. Немова, А.С. Погдин. *Опт. и спектр.*, **107** (4), 565 (2009).
- [13] L. Wei, L. Yu, H. Jiaoqi, H. Guorong, Z. Yang, F. Weiling. *Frontiers in Laboratory Medicine*, **2** (4), 127 (2018). DOI: 10.1016/j.flm.2019.05.001
- [14] В.И. Фёдоров, Д.С. Сердюков, О.П. Черкасова, С.С. Попова, Е.Ф. Немова. *Оптический журнал*, **84** (8), 9 (2017). [V.I. Fëdorov, D.S. Serdyukov, O.P. Cherkasova, S.S. Popova, E.F. Nemova. *J. Opt. Technol.*, **84** (8), 509 (2017). DOI: 10.1364/JOT.84.000509].
- [15] S. Romanenko, R. Begley, A.R. Harvey, L. Hool, V.P. Wallace. *J. R. Soc. Interface*, **14** (137), 20170585 (2017). DOI: 10.1098/rsif.2017.0585
- [16] I.V.A.K. Reddy, S. Elmaadawy, E.P. Furlani, J.M. Jornet. *Sci. Rep.*, **13**, 4643 (2023). DOI: 10.1038/s41598-023-41808-9
- [17] W. Liu, Y. Lu, R. She, G. Wei, G. Jiao, J. Lv, G. Li. *Appl. Sci.*, **9** (5), 917 (2019). DOI: 10.3390/app9050917
- [18] В.И. Фёдоров, Н.Я. Вайсман, Е.Ф. Немова, А.А. Мамрашев, Н.А. Николаев. *Биофизика*, **58** (6), 1043 (2013).
- [19] Н.П. Бондарь, И.Л. Коваленко, Д.Ф. Августиневич, А.Г. Хамоян, Н.Н. Кудрявцева. *Бюл. эксп. биол. и мед.*, **145** (4), 378 (2008).
- [20] H. Hintzsche, H. Stopper. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, **42**, 2408 (2012). DOI: 10.1080/10643389.2011.574206
- [21] D.S. Serdyukov, T.N. Goryachkovskaya, I.A. Mescheryakova, S.V. Bannikova, S.A. Kuznetsov, O.P. Cherkasova, V.M. Popik, S.E. Peltek. *Biomed. Opt. Express*, **11** (9), 5258 (2020). DOI: 10.1364/BOE.400432
- [22] М.Н. Комарова, Ю.А. Грызунов. *Альбумин сыворотки крови в клинической медицине* (Гэотар, М., 1998), с. 28–51.
- [23] Г.Е. Добрецов, Ю.И. Миллер. *Альбумин сыворотки крови в клинической медицине* (Ириус, М., 1994), с. 11–28.
- [24] Е.Ф. Немова, О.П. Черкасова, Н.А. Николаев, Г.Г. Дульцева. *Биофизика*, **65** (3), 486 (2020). DOI: 10.31857/S0006302920030072
- [25] М.М. Nazarov, P.A. Shcheglov, V.V. Teplyakov, M.V. Chashchin, A.V. Mitrofanov, D.A. Sidorov-Biryukov, V.Y. Panchenko, A.M. Zheltikov. *Opt. Lett.*, **46** (23), 5866 (2021). DOI: 10.1364/OL.434759
- [26] М.В. Царев. *Генерация и регистрация терагерцового излучения ультракороткими лазерными импульсами*. Учебное пособие (Нижегородский госуниверситет, Нижний Новгород, 2011), 75 с.
- [27] M.N. Palatnikov, A.V. Kadetova, M.V. Smirnov, O.V. Sidorova, D.A. Vorobev. *Opt. Mater.*, **131**, 112631 (2022). DOI: 10.1016/j.optmat.2022.112631
- [28] J. Shan, A.S. Weling, E. Knoesel, L. Bartels, M. Bonn, A. Nahata, G.A. Reider, T.F. Heinz. *Opt. Lett.*, **25**, 426-428 (2000). DOI: 10.1364/OL.25.000426

- [29] O.V. Chefonov, A.V. Ovchinnikov, S.A. Romashevskiy, X. Chai, T. Ozaki, A.B. Savel'ev, M.B. Agranat, V.E. Fortov. *Opt. Lett.*, **42**, 4889–4892 (2017). DOI: 10.1364/OL.42.004889
- [30] Y. Zhang, K. Li, H. Zhao. *Front. Optoelectron.*, **14**, 4–36 (2021). DOI: 10.1007/s12200-020-1052-9
- [31] М.М. Назаров, А.П. Шкуринов, А.А. Ангелуц, Д.А. Сапожников. *Известия вузов. Радиофизика*, **52** (8), 595 (2009).
- [32] A. Schneider, M. Neis, M. Stillhart, B. Ruiz, R.U.A. Khan, P. Günter. *J. Opt. Soc. Am. B*, **23** (9), 1822 (2006). DOI: 10.1364/JOSAB.23.001822
- [33] T. Kleine-Ostmann, C. Jastrow, K. Baaske, B. Heinen, M. Schwerdtfeger, U. Kärst, H. Hintzsche, H. Stopper, M. Koch, T. Schrader. *IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol.*, **4** (1), 12 (2014). DOI: 10.1109/TTHZ.2013.2293115
- [34] M.-O. Mattsson, O. Zeni, M. Simko. *J. Infrared Millimeter Terahertz Waves*, **39** (9), 863 (2018). DOI: 10.1007/s10762-018-0483-5
- [35] O.P. Cherkasova, M.M. Nazarov, A.P. Shkurinov, V.I. Fedorov. *Radiophys. Quantum Electron.*, **52** (7), 518 (2009).
- [36] M. Nazarov, A. Shkurinov, V.V. Tuchin, X.-C. Zhang. In: *Handbook of Photonics for Biomedical Science*, ed. by V.V. Tuchin (CRC Press, Boca Raton, 2010), vol. 23, p. 519–617.
- [37] *Guidelines for limiting exposure to electromagnetic fields (100 kHz to 300 GHz)*. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP). *Health Phys.*, **118** (5), 483–524 (2020). DOI: 10.1097/HP.0000000000001210
- [38] А.В. Капралова, А.С. Погодин. *Вестник НГУ. Сер. Физика*, **5** (4), 182 (2010).
- [39] А.С. Погодин, А.В. Капралова. *Миллиметровые волны в биологии и медицине*, **3**, 18 (2011)
- [40] В.И. Федоров, А.С. Погодин, В.Г. Беспалов, С.Э. Путилин, О.А. Смолянская, Я.В. Грачев, С.А. Козлов. *Миллиметровые волны в биологии и медицине*, **3**, 50 (2009).
- [41] E.F. Nemova, T.V. Kobzeva, G.G. Dultseva, *Russ. J. Phys. Chem. B*, **18**, 95 (2024). DOI: 10.1134/S1990793124010354
- [42] Н.Л. Лаврик, Е.Ф. Немова. *Вестник НГУ. Сер. Физика*, **2** (4), 96 (2007)
- [43] G. Kaur, X.-C. Zhang. *Terahertz biomedical science and technology*, ed. by J.-H. Son (CRC Press, Boca Raton, 2014), p. 211–240.
- [44] I.V. Lundholm, H. Rodilla, W.Y. Wahlgren, A. Duelli, G. Bourenkov, J. Vukusic, R. Friedman, J. Stake, T. Schneider, G. Katona. *Struct. Dyn.*, **2** (5), 054702 (2015). DOI: 10.1063/1.4931825
- [45] V.M. Govorun, V.E. Tretiakov, N.N. Tulyakov, V.B. Fleurov, A.I. Demin, A.Yu. Volkov, V. Batanov, A.B. Kapitanov. *Int. J. Infrared and Millimeter Waves*, **12**, 1469 (1991).