

**МЕЖИНСТИТУТСКИЙ СЕМИНАР
«ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ ОПТИКИ
И СПЕКТРОСКОПИИ»**

УДК 53.082.5.578.088.5

М. И. ШТОКМАН

(Новосибирск)

**СПЕКТРОСКОПИЯ РАССЕЯННОГО СВЕТА
В БИОЛОГИИ И БИОФИЗИКЕ ***

1. Введение. Настоящая работа имеет своей целью дать представление читателю на общезначимом и общеприкладном уровне о возможностях современных спектроскопических методов в исследовании биологических объектов (от клеток до субмолекулярных структур). Поскольку здесь мы имеем дело с обширной и быстро развивающейся областью науки, то в статье охватить весь предмет невозможно и мы ограничимся только исследованием рассеяния света (тем, что обычно называют рэлеевским, квазиупругим, динамическим и т. п. рассеянием). В частности, мы оставим в стороне такие широко используемые в биофизике спектроскопические явления, как светопоглощение, люминесценция, оптическая активность, эффект Фарадея и т. д. (см., например, [1]).

По существу, квазиупругое рассеяние света является комбинационным рассеянием со смещением частоты, лежащим в радиотехническом диапазоне, обычно от долей герца до сотен килогерц. Интерес к такому рассеянию связан с тем, что оно несет ценную информацию о медленных движениях в биологических системах: диффузии вирусов и макромолекул, движении клеток, колебаниях возбудимых мембран при проведении нервных импульсов и колебаниях мембран вследствие тепловых флуктуаций. Мягкие моды, появляющиеся в больших молекулах и биомембранах вблизи точек фазовых переходов, также должны дать вклад в квазиупругое рассеяние, однако это еще не наблюдалось экспериментально. О фазовых переходах в макромолекулах получают информацию, изучая их коэффициенты диффузии, которые изменяются в области структурных перестроек этих молекул. Измерение коэффициентов диффузии позволяет также проследить за взаимодействием макромолекул, в частности за образованием комплекса «антиген — антитело».

Упомянутые приложения спектроскопии рассеянного света будут обсуждены ниже. Настоящую работу никоим образом не следует рассматривать как обзор: она не ставит своей целью ни освещение исторического и приоритетного аспектов вопроса, ни полноту охвата современных работ, ни детальное теоретическое описание. Все, что мы стремимся сделать, — это разобрать принципиальные основы метода, а также прокомментировать избранные современные работы и понять, какую новую биофизическую информацию удалось получить, используя

* Продолжение см. в следующем номере.

спектроскопию рассеянного света. Особое внимание мы уделим тем работам, где применение этого оптического метода позволило получить уникальную информацию, которую сегодня нельзя получить иными методами. С нашей точки зрения весьма интересны работы, где экспериментальные данные находятся в противоречии с существующими представлениями либо не объяснены еще теоретически. Таким образом, в отношении подхода к отбору и интерпретации работ наша статья является дополнительной к известному сборнику [2].

Распределение материала в статье следующее. В п. 2 рассмотрены принципиальные физические основы метода, включая связь между частотным анализом рассеянного света и корреляционной спектроскопией. В п. 3 дано количественное описание процессов квазиупругого рассеяния и приведены необходимые формулы, описывающие связь спектроскопических свойств рассеянного света со свойствами рассеивающей системы. В п. 4 обсуждаются экспериментальные работы по исследованию диффузии макромолекул и вирусов в растворах, а также движению живых клеток; там же проводится соответствующее теоретическое рассмотрение. П. 5 посвящен разбору экспериментальных работ по изучению свойств биологических и модельных мембран.

2. Что измеряется и какую информацию дает. Спектроскопия рассеянного света сводится к изучению частотного состава и поляризации квантов рэлеевского рассеяния. Аналогичная задача возникает в доплеровской анемометрии, где измеряется скорость частиц по доплеровскому сдвигу частоты рассеянного света. Если частицы имеют разброс по скоростям, то спектр рассеянного ими света воспроизводит их распределение по скоростям. Метод доплеровской анемометрии широко применяется в гидроаэродинамическом эксперименте (см., например, обзор [3] и цитированные там работы).

Величина доплеровского сдвига $\Delta\nu$ пропорциональна проекции скорости частицы v на направление волнового вектора рассеяния q :

$$\Delta\omega = qv, \quad \Delta\nu = \Delta\omega/2\pi, \quad (1)$$

где $q = k_1 - k_2$ есть разность волновых векторов падающего и рассеянного фотонов;

$$q = (4\pi/\lambda)\sin\theta/2, \quad \theta = \widehat{k_1 k_2}, \quad (2)$$

θ — угол рассеяния, λ — длина волны света. В точности такая же задача возникает в биологии при измерении скоростей движущихся объектов, например единичных клеток. При типичной скорости движения клетки $v \sim 10$ мкм/с сдвиг частоты $\Delta\nu$ составляет десятки герц.

Разумеется, при решении такой задачи применимы аппаратные (оптические и электронные) решения, развитые в аэрогидродинамике (подробное описание технической стороны дела дано в [3]). Мы обсудим здесь только принципиально важные для дальнейшего рассмотрения вопросы.

Как можно измерить сдвиг частоты света, начиная от долей герца? Применение обычных интерферометров для этого бесполезно, поскольку их спектральное разрешение не лучше нескольких мегагерц. Выходом является использование того факта, что фотокатод — квадратичный детектор: мгновенная интенсивность фототока $J(t)$ пропорциональна интенсивности, т. е. квадрату модуля амплитуды поля $A(t)$ падающего света ([4], гл. 10),

$$J(t) \propto |A(t)|^2. \quad (3)$$

Поэтому применяют гетеродинамирование: смешивают на фотокатоде падающий и рассеянный под заданным углом θ свет. При этом вследствие (3) в фототоке появляются биеения с разностной частотой, равной частотному сдвигу $\Delta\omega$. Далее, применяя поляризаторы для отбора задан-

ных поляризаций света и частотный анализатор для регистрации спектра биений фототока, измеряют спектр рассеянного света $g_\lambda(\mathbf{q}, \Delta\omega)$ как функцию поляризации λ , волнового вектора рассеяния \mathbf{q} и сдвига частоты $\Delta\omega$ между падающим и рассеянным светом. Для определенности будем нормировать функцию g следующим образом:

$$\int g_\lambda(\mathbf{q}, \omega) \frac{d\omega}{2\pi} = 1.$$

Определение биофизических характеристик по виду функции $g_\lambda(\mathbf{q}, \Delta\omega)$ производится путем сравнения ее с теоретически предсказанной зависимостью. Поясним это на упомянутом примере движущейся клетки. Предположим сначала, что скорость клетки постоянна и равна \mathbf{v} . Тогда, согласно (1), рассеянный свет будет сдвинут по частоте на $q\mathbf{v}$, т. е. спектр биений представляет собой монохроматический пик:

$$g(\mathbf{q}, \omega) = (1/2\pi)\delta(\omega - q\mathbf{v}), \quad (4)$$

где δ — импульсная функция Дирака. Если же клетка меняет скорость много раз за время регистрации спектра, но в течение промежутков времени длины $\tau \sim (q\mathbf{v})^{-1}$ ее скорость остается постоянной, то спектр $g(\mathbf{q}, \omega)$ будет иметь вид суперпозиции пиков типа (4):

$$\bar{g}(\mathbf{q}, \omega) = \frac{1}{2\pi} \int P(\mathbf{v}) \delta(\omega - q\mathbf{v}) d^3\mathbf{v}. \quad (5)$$

Здесь $P(\mathbf{v})$ — плотность распределения скоростей клетки, которое далее предположим изотропным, т. е. $P(\mathbf{v}) = P(v)$. В этом случае можно с помощью (5) выразить функцию распределения $P(\mathbf{v})$ (требуемую биофизическую информацию) через экспериментально измеренный спектр биений $g(\mathbf{q}, \omega)$:

$$P(v) = - (q/v) \partial g(\mathbf{q}, q\mathbf{v}) / \partial v. \quad (6)$$

Поскольку вычисленное по формуле (6) распределение $P(v)$ должно быть одним и тем же для всех углов рассеяния θ , т. е. не зависеть от \mathbf{q} , то измеренный спектр $g(\mathbf{q}, \omega)$ должен удовлетворять определенному условию — быть функцией только отношения ω/q :

$$g(\mathbf{q}, \omega) = (1/q) \bar{g}(\omega/q). \quad (7)$$

Тогда результат (6) приобретает вид

$$P(v) = - \frac{1}{v} \frac{d\bar{g}(v)}{dv}. \quad (8)$$

Выполнение условия (7) для различных углов рассеяния является контролем правильности выбранной модели движения клетки. К исследованию миграции клеток мы еще вернемся в п. 4, а сейчас отметим, что в приведенном выше примере представлена типичная схема интерпретации данных спектроскопии рассеянного света в биофизике.

Вернемся к рассмотрению принципиальных основ метода. В биофизических приложениях обычно требуется измерить сдвиг частоты света $\Delta\nu$, начиная от 0,1 Гц, в то время как спектральная ширина $\Delta\Omega/2\pi$ даже лазерных источников света на много порядков больше. Однако большая спектральная ширина источника света приводит только к собственным биениям с высокими частотами порядка $\Delta\Omega$, в то время как низкочастотные биения, несущие интересующую нас информацию, не зависят от спектра падающего света. Требования к спектральной ширине источника света сводятся к тому, что разность хода рассеянного света и опорного пучка на фотокатоде не должна превосходить соответствующей длины когерентности

$$l_c = 2\pi c / \Delta\Omega, \quad (9)$$

где c — скорость света. Этой же длины не должен превосходить размер измерительного объема (области, из которой регистрируется рассеянный свет) в направлении вектора рассеяния q . Даже для «плохого» лазерного источника с шириной линии $\Delta\Omega/2\pi = 100$ МГц длина l_c оказывается порядка десятков сантиметров, что накладывает легко выполнимое условие.

Наиболее типичная биофизическая задача в спектроскопии рассеянного света отличается от соответствующей аэрогидродинамической задачи многочастичностью: регистрируется свет, рассеянный одновременно многими частицами, например суспензией клеток, вирусов или макромолекул. Если рассеивающие частицы не взаимодействуют друг с другом, то рассеяние света происходит на флуктуациях поляризуемости среды, возникающих вследствие независимого движения каждой из рассеивающих частиц. В этом случае спектр $g_\lambda(q, \Delta\omega)$ такой же, как и от одной частицы с усреднением по типу частиц. Например, для суспензии движущихся клеток по-прежнему применим результат (8).

Большой интерес представляет рассеяние на системах взаимодействующих частиц, включая такие системы, где «частицами» являются части большой молекулы. В этом случае необходимо дать формулы, связывающие спектр биений $g_\lambda(q, \Delta\omega)$ со структурой рассеивающей системы. Поскольку спектр g_λ не зависит от спектрального состава падающего света, то мы при расчетах будем считать его монохроматическим с частотой Ω . При этом ясно, что спектр $g_\lambda(q, \Delta\omega)$ представляет собой спектральный состав рассеянных квантов и для его вычисления применимы известные общие формулы комбинационного рассеяния на системах многих частиц.

Однако спектроскопия рассеянного света имеет существенное отличие от обычной рамановской спектроскопии. Дело в том, что смещения частот $\Delta\omega$ малы. Следовательно, характерные времена $\tau \sim \Delta\omega^{-1}$ взаимодействия частиц с окружением, которые «чувствует» квазиупругое рассеяние, очень велики в молекулярном масштабе. Поэтому в квазиупругое рассеяние дают вклад процессы, в которых окружение рассеивающей частицы действует на нее усредненно (например, пространственная и вращательная диффузия частицы, а также внутренняя (ограниченная) диффузия частей гибкой макромолекулы друг относительно друга). В п. 3 мы приведем формулы теории комбинационного рассеяния в форме, адекватной задаче квазиупругого рассеяния, в частности, с учетом медленных движений центра тяжести рассеивающей частицы.

Другая специфика спектроскопии рассеянного света связана с тем, что представляющие интерес биения (флуктуации) интенсивности рассеянного света лежат в радиотехническом диапазоне частот и могут быть обработаны средствами электроники. Это обуславливает возможность применения корреляционной спектроскопии, в которой основной величиной является автокорреляционная функция интенсивности рассеянного света (или соответствующего фототока)

$$g^{(2)}(\tau) = \langle I(t + \tau)I(t) \rangle / \langle I \rangle^2 - 1. \quad (10)$$

Здесь угловыми скобками обозначено усреднение, в эксперименте выполняемое путем интегрирования по времени t радиотехническими средствами. Если рассеяние происходит на многих частицах (безразлично при этом, много ли частиц находится одновременно в измерительном объеме или проходит через него за время усреднения), то рассеянный свет имеет гауссовскую статистику. При этом коррелятор (10) второго порядка выражается через коррелятор первого порядка

$$g_\lambda^{(1)}(\tau) = \langle A_\lambda(t + \tau) A_\lambda^+(t) \rangle / \langle |A_\lambda(t)|^2 \rangle \quad (11)$$

с помощью известного соотношения Зигерта — Ванга — Уленбека (см., например, § 4, гл. 10 в [4], а также [5]):

$$g^{(2)}(\tau) = 1/2(1 + p^2)|g^{(1)}(\tau)|^2, \quad (12)$$

где p — степень поляризации детектируемого света (обычно $p = 1$).

Связь корреляционной спектроскопии с частотным анализом рассеянного света может быть установлена путем сравнения (11) с выражением для спектра биений

$$g_\lambda(\mathbf{q}, \Delta\omega) = \frac{\langle |A_\lambda(\Omega + \Delta\omega)|^2 \rangle}{\int \langle |A_\lambda(\Omega)|^2 \rangle \frac{d\Omega}{2\pi}}, \quad (13)$$

где аргумент Ω обозначает фурье-образ. Из (13) ясно, что спектр биений $g_\lambda(\mathbf{q}, \Delta\omega)$ и автокорреляционная функция (11) сопряжены в смысле фурье-преобразования (теорема Винера — Хинчина):

$$g_\lambda(\mathbf{q}, \omega) = \int dt e^{-i\omega t} g_\lambda^{(1)}(\mathbf{q}, t), \quad (14)$$

где мы добавили индекс \mathbf{q} в определение $g^{(1)}$, чтобы подчеркнуть, что речь идет о рассеянном свете с волновым вектором рассеяния \mathbf{q} .

Таким образом, ясно, что корреляционная спектроскопия позволяет измерить модуль автокорреляционной функции $|g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)|$ (ср. (12)), в то время как ее фаза в простейшем случае не определяется. Какая информация при этом теряется? Это можно уяснить из свойств функции $g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$ относительно преобразования Галилея: если система частиц как целое приобретает скорость \mathbf{v} , то функция $g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$ преобразуется, как (см. (1), (14))

$$g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau) \rightarrow e^{i\mathbf{q}\cdot\mathbf{v}\tau} g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau). \quad (15)$$

Следовательно, можно представить себе, что фаза функции $g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$ несет информацию об упорядоченных движениях системы частиц или ее подсистем как целого (примером являются гидродинамические потоки), в то время как ее модуль несет информацию об относительных хаотических движениях частиц (например, диффузии).

Фаза функции $g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$ в корреляционной спектроскопии также может быть сравнительно легко определена применением «голографического» метода: так же, как и в «частотной» спектроскопии рассеянного света, для этого нужно смешать на фотокатоде рассеянный свет с когерентным опорным пучком. При этом функция $g^{(1)}$ изменится следующим образом:

$$g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau) \rightarrow (g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau) + \kappa)/(1 + \kappa), \quad (16)$$

где κ — отношение интенсивности опорного пучка к интенсивности рассеянного света. Это приведет к появлению в (12) интерференционного члена, пропорционального $\text{Re } g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$, что и даст возможность измерить искомую фазу.

Таким образом, корреляционная спектроскопия в принципе эквивалентна частотной спектроскопии рассеянного света. Выбор же методики должен определяться удобством и точностью определения параметров в конкретном биофизическом эксперименте.

3. Микроскопическое описание квазиупругого рассеяния. В этом разделе мы приведем теорию комбинационного рассеяния в форме, явно учитывающей процессы квазиупругого рассеяния (с малым изменением частоты). Формулы этой теории могут быть получены из известных соотношений квантовой электродинамики (см., например, [6]). Ниже мы приведем те из них, которые необходимы для дальнейшего рассмотрения, и укажем, какого рода приближения делаются при их выводе. Эти формулы выражают связь между спектром рассеянного света и микроскопической структурой рассеивающей системы.

Рассмотрим систему рассеивателей, в общем случае взаимодействующих, которыми могут быть отдельные электроны молекул, химические группировки внутри молекулы, молекулы или малые (по сравнению с длиной волны света) частицы. Вместо частотного распределения света $g(\mathbf{q}, \omega)$, рассеянного такой системой, удобно привести выражение для связанной с ним фурье-преобразованием (14) автокорреляционной функции рассеянного света:

$$g_{\lambda}^{(1)}(\mathbf{q}, \tau) = S(\mathbf{q}, \tau)/S_{\mathbf{q}}, \quad (17)$$

где $S(\mathbf{q}, \tau)$ — так называемый динамический форм-фактор системы частиц (во временном представлении); $S_{\mathbf{q}}$ — статистический форм-фактор: $S_{\mathbf{q}} = S(\mathbf{q}, 0)$.

Динамический форм-фактор описывает корреляцию флуктуаций поляризуемости рассеивающей системы с волновым вектором \mathbf{q} через промежуток времени τ :

$$S(\mathbf{q}, \tau) = \langle P_{\lambda}(\mathbf{q}, \tau) P_{\lambda}^{\dagger}(\mathbf{q}, \tau) \rangle, \quad (18)$$

где P_{λ} — плотность поляризуемости системы; усреднение идет по состоянию рассеивающей системы. При классическом описании под P_{λ} понимается классическая плотность поляризуемости; при квантовомеханическом — оператор в представлении Гейзенберга, зависящий от времени τ в соответствии с уравнениями движения системы.

Величина P_{λ} определяется как произведение недиагональной поляризуемости (амплитуды рассеяния света) частицы на ее пространственную плотность, просуммированное по всем частицам:

$$P_{\lambda}(\mathbf{q}, \tau) = \sum_a \chi_a(\mathbf{k}_1, \mathbf{k}_2, \lambda) e^{i\mathbf{q}\mathbf{r}_a(\tau)}. \quad (19)$$

Здесь индекс a нумерует частицы; $\mathbf{r}_a(\tau)$ — координата частицы, представляющая в общем случае гейзенберговский оператор, действующий на состояние системы, по которому идет усреднение в (18). Экспонента $e^{i\mathbf{q}\mathbf{r}_a(\tau)} \equiv \rho_a(\mathbf{q}, \tau)$ представляет собой фурье-образ плотности частицы:

$$\rho_a(\mathbf{r}, \tau) = \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_a(\tau)). \quad (20)$$

Амплитуда рассеяния света на частице (ее недиагональная поляризуемость) $\chi_a(\mathbf{k}_1, \mathbf{k}_2, \lambda)$ следующим образом выражается через микроскопические характеристики рассеивающей частицы:

$$\chi_a(\mathbf{k}_1, \mathbf{k}_2, \lambda) = C \sum_f \left\{ \frac{(e_0(\mathbf{k}_1) \mathbf{d}_a)_{of} (e_{\lambda}^*(\mathbf{k}_2) \mathbf{d}_a)_{f0}}{\Omega_{f0} - \Omega} + \frac{(e_{\lambda}(\mathbf{k}_2) \mathbf{d}_a)_{of} (e_0^*(\mathbf{k}_1) \mathbf{d}_a)_{f0}}{\Omega_{f0} + \Omega} \right\}, \quad (21)$$

где C — константа; 0 и f означают соответственно основное и возбужденные состояния частицы; Ω_{f0} — частота перехода $f \rightarrow 0$; \mathbf{d} — оператор дипольного момента частицы; $e_0(\mathbf{k}_1)$ и $e_{\lambda}(\mathbf{k}_2)$ — векторы поляризации падающего и рассеянного фотонов соответственно. Отметим, что поляризуемость частицы, которая определяет диэлектрическую проницаемость системы, выражается через диагональную ($\mathbf{k}_1 = \mathbf{k}_2$) часть χ_a (амплитуду рассеяния вперед).

Очевидно, в общем случае величина χ_a зависит от углов Эйлера ψ_a , определяющих ориентацию частицы в пространстве (относительно векторов $e_0(\mathbf{k}_1)$ и $e_0(\mathbf{k}_2)$). Величины ψ_a так же, как и \mathbf{r}_a , следует считать динамическими переменными, зависящими от τ , согласно уравнениям движения, так что $\chi_a \equiv \chi_a(\lambda, \psi_a(\tau))$. Для оптически изотропной среды величина χ_a зависит от векторов $e_0(\mathbf{k}_1)$, $e_{\lambda}(\mathbf{k}_2)$ только посредством универсального множителя $e_0(\mathbf{k}_1) e_{\lambda}^*(\mathbf{k}_2)$ и не зависит от ориентации частицы в пространстве:

$$\chi_a = \chi_{0a} e_0(\mathbf{k}_1) e_{\lambda}^*(\mathbf{k}_2). \quad (22)$$

При этом зависимость от поляризаций вообще выпадает из окончательного результата (17) и ее можно заменить в (19) $\chi_a \rightarrow \chi_{0a}$, причем χ_{0a} есть просто диэлектрическая восприимчивость частицы.

Теперь укажем приближения, которые сделаны при выводе общей формулы (17) со значениями входящих в нее величин (18)—(21). Предположено, что сдвиг частоты рассеянного света $\Delta\omega \sim \tau^{-1}$ много меньше характерной частоты дипольных переходов в частице Ω_{j0} . Таким образом, «частицами» не могут быть слишком «мягкие» молекулы, но могут быть составляющие их жесткие группировки. В явном виде выделено движение центров масс частиц $r_a(\tau)$, которое ответственно за низкочастотное поглощение в системе и, следовательно, за малые сдвиги частоты рассеянного света.

При выводе существенно использовано предположение о разделении движений частицы на внутренние быстрые (как правило, электронные) движения и медленные движения ее как целого (приближение Борна — Оппенгеймера), причем взаимодействие частиц таково, что между быстрыми движениями корреляции малы. В этом случае внутреннее состояние каждой частицы может быть описано волновой функцией, в то время как частицы могут взаимодействовать посредством потенциалов, зависящих от их центров масс и ориентаций. Это предположение выполняется во всяком случае для достаточно удаленных частиц, взаимодействующих посредством электрических мультиполей, гидродинамических сил и т. д. Укажем, что в приближении Борна — Оппенгеймера матричные элементы операторов и энергии переходов, определяющих амплитуду (21), зависят от совокупности координат частиц $\{r_a\}$ и их ориентационных углов $\{\psi_a\}$, как от параметров, и через них получают зависимость от времени τ ; так что фактически $\chi_a = \chi_a(k_1, k_2, \lambda, \psi_a, \{r_a\})$. Такая зависимость учитывает влияние взаимного расположения частиц на их внутреннюю поляризуемость; этой зависимостью (от $\{\psi_a(\tau)\}$ и $\{r_a(\tau)\}$), однако, всегда пренебрегают. В ряде случаев это пренебрежение справедливо, например, для очень разбавленного раствора макромолекул, когда играет роль только их взаимодействие с молекулами растворителя, не зависящее от среднего положения макромолекулы. Такая ситуация встречается при изучении диффузии макромолекул (см. п. 4).

Два других приближения, использованных при выводе (18)—(21), — это возможность применения теории возмущений и малость характерного размера частицы по сравнению с длиной волны: $kR \ll 1$. Укажем также, что даже если рассеяние на каждой из частиц не описывается теорией возмущений и эти частицы не малы, то формулы (18), (19) по-прежнему остаются справедливыми при условии достаточной удаленности рассеивающих частиц друг от друга. В этом случае, однако, в (19) вместо амплитуды χ_a (21) следует использовать точную амплитуду рассеяния света на частице. Примером могут служить амплитуды Ми (см., например, [7]) для рассеяния света на большой сильно преломляющей сфере.

От предположения $kR \ll 1$ можно отказаться в рамках теории возмущений, если большие частицы являются достаточно жесткими конгломератами малых частиц. В этом случае можно объединить в (19) вклады малых частиц a , составляющих одну большую частицу A , и записать выражение для амплитуды рассеяния на ней (приближение Рэлея — Ганса, см. [7])

$$\chi_A = \sum_a \chi_a e^{iqr_a(\tau)}, \quad (23)$$

где координаты малых частиц r_a отсчитаны от центра масс большой частицы r_A . Формула (19) при этом сохраняет свой вид при распространении суммирования на составные частицы, т. е. при $a \rightarrow A$. Подробнее

мы рассмотрим это приближение в следующем разделе, посвященном исследованию движения микрочастиц.

4. Движение микрочастиц и больших молекул в растворах. Мы начнем с наиболее развитого биологического применения спектроскопии рассеянного света. В настоящее время эта методика стала в передовых лабораториях стандартной при исследовании и идентификации вирусов (см., например, [8, 5] и библиографию к ним), макромолекул [9—11], а также изучении движения живых клеток [12, 13].

4.1. Описание эффектов трансляционной диффузии. Какие физические процессы ответственны за квазиупругое рассеяние на макромолекулах и вирусах в растворах? В первую очередь это трансляционная диффузия, т. е. перемещение микрочастицы как целого в результате тепловых флуктуаций. Оценим характерные сдвиги частоты рассеянного света при этом. При смещении частицы на вектор Δr свет, рассеянный на ней, приобретает фазу $\Delta\phi = q\Delta r$; движение частицы может быть обнаружено, когда эта фаза будет порядка единицы, что дает оценку $\Delta r \sim q^{-1}$ для величины характерного смещения. Время τ , за которое частица пройдет расстояние Δr , и определяет характерный сдвиг частоты $\Delta\omega \sim \tau_c^{-1}$. Для диффузионного движения в соответствии с формулой Эйнштейна

$$\Delta\omega \sim \tau_c^{-1} = q^2 D, \quad (24)$$

где D — коэффициент диффузии. Для сферической частицы радиуса a в растворе вязкости η формула Стокса — Эйнштейна дает

$$D = kT/6\pi a\eta. \quad (25)$$

Здесь k — константа Больцмана, T — абсолютная температура. Например, для вируса R17 при радиусе $a \approx 14$ нм получаем $D = 1,5 \cdot 10^{-7}$ см²/с. Это дает характерный сдвиг частоты (при рассеянии на угол порядка единицы) $\Delta\nu \sim D/\lambda^2 \approx 40$ Гц.

Перейдем теперь к количественному описанию диффузии. Рассмотрим сначала разбавленный раствор. В таком растворе внутреннее состояние частицы и ее ориентация, описываемые амплитудой χ_A (23), не коррелированы. Рассматривая далее для простоты одинаковые частицы (монодисперсный раствор), приходим к выводу, что в форм-факторе (18), через который выражается окончательный результат (17), происходит факторизация на два множителя:

$$S_\lambda(q, \tau) = S_A(\lambda, q, \tau) S_H(q, \tau). \quad (26)$$

Здесь множитель S_A (форм-фактор частиц) описывает релаксацию флуктуаций внутреннего состояния и ориентации частицы:

$$S_A = \langle \chi_A(\tau) \chi_A^*(0) \rangle, \quad (27)$$

а второй множитель S_H , называемый гидродинамическим форм-фактором, описывает флуктуации объемной плотности рассеивающих частиц в растворе:

$$S_H(q, \tau) = \langle \rho(q, \tau) \rho(q, 0) \rangle, \quad (28)$$

где

$$\rho(q, \tau) = \sum_A e^{iqr_A(\tau)} \quad (29)$$

есть фурье-образ объемной плотности частиц в момент времени τ .

Поскольку диффузия описывается движением центров масс частиц r_A , то заранее ясно, что за нее ответствен гидродинамический форм-фактор S_H (28). Как его вычислить? Обычно при этом используют гипотезу Онсагера и приближение Вайнярда (см. статьи Э. Р. Пайка и П. Н. Пьюзи в [2]), точность которых трудно оценить. Однако прямой путь связан с использованием флуктуационно-диссипативной теоремы.

Эта теорема (см., например, [14]) устанавливает связь между форм-фактором $S_H(\mathbf{q}, \omega)$ (фурье-образом от (28)) и вариацией плотности $\rho(\mathbf{q}, \omega)$ (\mathbf{q} — волновой вектор, ω — частота) вследствие наложенного на систему слабого внешнего поля с потенциалом $\varphi(\mathbf{q}, \omega)$. Для низких частот ($\omega/2\pi \ll kT/h \sim 10^{12}$ Гц) флуктуационно-диссипативная теорема дает связь

$$S_H(\mathbf{q}, \omega) \propto (1/\omega) \text{Im} \rho(\mathbf{q}, \omega) / \varphi(\mathbf{q}, \omega). \quad (30)$$

Здесь и далее мы опускаем не существенные для нас коэффициенты.

Если движение частиц во внешнем поле является чисто диффузионным, то для изменения плотности $\rho(\mathbf{q}, \omega)$ справедливо диффузионное уравнение, имеющее вид в фурье-представлении:

$$(i\omega + Dq^2) \rho(\mathbf{q}, \omega) + \frac{\rho^2 D \rho_0}{kT} \varphi(\mathbf{q}, \omega) = 0, \quad (31)$$

где ρ_0 — средняя объемная плотность частиц. Отсюда с помощью (30) найдем выражение для гидродинамического форм-фактора системы одинаковых частиц в фурье-представлении

$$S_H(\mathbf{q}, \omega) = \frac{1}{\pi} \frac{Dq^2}{\omega^2 + (Dq^2)^2}. \quad (32)$$

Обращая его, приходим к простому экспоненциальному закону распада флуктуаций плотности частиц, впервые выведенному ван Ховом:

$$S_H(\mathbf{q}, \tau) = \exp(-Dq^2\tau). \quad (33)$$

Это точный результат до тех пор, пока релаксация макроскопических флуктуаций плотности описывается диффузионным уравнением вне зависимости от того, взаимодействуют между собой частицы или нет. Коэффициент диффузии D , конечно, зависит от этого взаимодействия. В заключение отметим, что форм-фактор (33) в координатном представлении имеет вид

$$S_H(\mathbf{r}, \tau) = \langle \rho(\mathbf{r}, \tau) \rho(0, 0) \rangle = 1/(4\pi D\tau)^3 \exp(-r^2/4D\tau) \quad (34)$$

и подчиняется макроскопическому диффузионному уравнению для $\rho(\mathbf{r}, \tau)$. Это есть выражение гипотезы Онсагера.

4.2. *Диффузия сферических вирусов.* Если частицы построены из оптически изотропного материала, то форм-фактор частицы (27) не зависит от поляризаций фотонов. Если к тому же частицы имеют сферическую симметрию, то этот форм-фактор не зависит и от ориентационных углов частицы и является просто константой, выпадающей из результата. В этом случае все квазиупругое рассеяние на частицах вызывается их диффузией; соответственно автокорреляционная функция $g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$ (17) и спектр биений рассеянного света $g(\mathbf{q}, \omega)$ (14) выражаются через гидродинамический форм-фактор (32), (33):

$$g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau) = S_H(\mathbf{q}, \tau), \quad g(\mathbf{q}, \omega) = S_H(\mathbf{q}, \omega). \quad (35)$$

В этом случае форм-фактор $S_H(\mathbf{q}, \tau)$ — действительная положительная функция, и проблемы определения фазы в корреляционном методе не возникает:

$$g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau) = \sqrt{g^{(2)}(\mathbf{q}, \tau)}. \quad (36)$$

Характерной особенностью автокоррелятора $g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$ в случае чисто пространственной диффузии является его зависимость только от одной безразмерной комбинации

$$X = Dq^2\tau, \quad g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau) = e^{-X}. \quad (37)$$

Эта зависимость находится в соответствии с оценкой (24). Она была подвергнута детальной экспериментальной проверке в работе [15] для фага R17, имеющего форму, близкую к сферической. Измерения про-

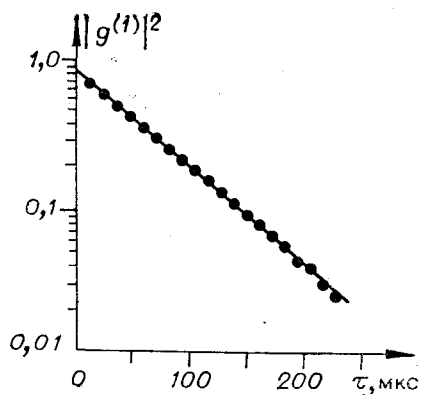


Рис. 1. Автокорреляционная функция рассеянного на угол 90° света $g^{(2)}(\tau) = |g^{(1)}(\tau)|^2$ отложена в полулогарифмическом масштабе как функция времени задержки τ для проверки экспоненциального закона затухания [15].
(Измерения для вируса R17.)

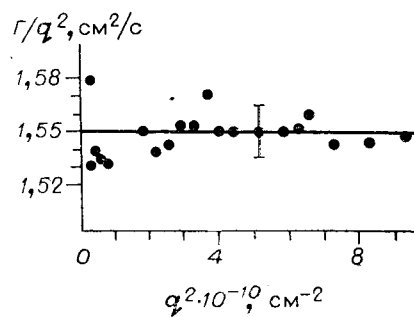


Рис. 2. Проверка диффузионной зависимости ширины автокорреляционной функции $\Gamma = Dq^2$.
Отложено отношение Γ/q^2 как функция квадрата волнового вектора рассеяния q^2 [15]. (Измерения для вируса R17.)

водились корреляционным методом, т. е. прямо измерялась величина $|g^{(1)}(q, \tau)|^2$ для разных углов рассеяния и откладывалась в полулогарифмическом масштабе на графике против времени задержки τ . Результат для угла $\theta = 90^\circ$ показан на рис. 1. Прекрасное согласие с линейной зависимостью свидетельствует о чисто экспоненциальном законе распада корреляции в соответствии с теорией (37). Далее проверялся вид функциональной зависимости $\Gamma = Dq^2$. Полученные для разных углов рассеяния (от 180 до 30°) и разных длин волн значения Γ делились на q^2 и откладывались на графике как функция q^2 . При этом должна была получиться горизонтальная прямая со значением ординаты, равным D . График на рис. 2 демонстрирует прекрасное качественное согласие с этим предсказанием. Авторы оценили статистическую ошибку в определении D по одной точке на этом графике в $\pm 1\%$ (вертикальная черта на рисунке). Позволяет ли статистический анализ обнаружить систематическое отклонение точек от горизонтальной прямой? Ответ отрицателен: применяя χ^2 -критерий, мы получаем из указанного значения погрешности $\chi^2 = 15$ при 19 степенях свободы. Это соответствует $P > 90\%$, т. е. с этой вероятностью отклонения точек от прямой $D = \text{const}$ имеют случайную причину. По всем 20 точкам рис. 2 мы получаем $D = (1,548 \pm 0,003) \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$, т. е. точность $\approx 0,2\%$. Типичное время измерения D с точностью 1% составило 1 мин. При возрастании времени измерения t ошибка в измерении D падает, как $t^{-1/2}$, поскольку имеет статистический характер; в частности, при $t = 20$ мин (20 точек) ошибка в D составляет $0,2\%$ в соответствии с приведенным выше значением.

В последнее время этот метод стал основным при определении коэффициентов диффузии вирусов, причем применяется как корреляционная спектроскопия (например, [15, 16]), так и частотный анализ рассеянного света [8]. Возникает вопрос: что дает измерение коэффициентов диффузии вирусов со столь большой точностью и как соотносится описанный метод с другими методами определения D ?

По сравнению с классическим способом расслоения границы раздела спектроскопия рассеянного света является значительно более точным, быстрым, а также невозмущающим методом, использующим сравнительно малые концентрации вирусов ($0,1$ — $0,5 \text{ мкг}/\text{см}^3$ или 10^7 — 10^{10} частиц/ см^3).

Точное измерение коэффициента диффузии позволяет оперативно идентифицировать вирус, контролировать его интактность, в частности следить за старением суспензии [8], а также за ее чистотой. В принципе возможно непрерывно (в реальном времени) следить за взаимодействием вирусов с клетками в суспензии, так как при взаимодействии вирусов с рецепторами клеток, последующем прикреплении к поверхности клетки, внедрении в нее и выходе новых вирусов пик квазиупругого рассеяния будет изменяться как по спектру, так и по величине. Однако такие работы нам не известны.

По коэффициенту диффузии вируса сферической формы можно рассчитать, согласно формуле Стокса — Эйнштейна (25), его радиус. Фактически идет речь о гидродинамическом (эффективном) радиусе $a_H = kT/6\pi D\eta$. Например, для вируса R17 из приведенного выше значения D следует $a_H = (14 \pm 0,05)$ нм. Как a_H соотносится с радиусами частицы, измеряемыми другими методами? Электронно-микроскопические исследования часто дают противоречивые значения геометрического радиуса вируса, по-видимому, вследствие присущих этому методу артефактов, возникающих при высушивании и контрастировании препарата. Однако общая тенденция такова, что электронно-микроскопический радиус на 10—20% меньше a_H или согласуется с a_H [16]. Потенциально большей точностью и надежностью отличается метод рассеяния рентгеновских лучей на малые углы (см., например, [11]), в котором измеряется электронный радиус вращения частицы a_G . Такую же информацию дает метод измерения индикатрисы рэлеевского рассеяния [1]. Однако последний метод обладает низкой точностью для малых частиц ($ka \ll 1$), в число которых попадают все молекулы ферментов и почти все вирусы, а также очень чувствителен к паразитным отражениям в измерительной кювете. Строго говоря, a_G и a_H следует рассматривать как две независимые величины, которые должны быть относительно близкими для больших частиц. Фактически же для вирусов с размерами порядка 10 нм радиусы a_G и a_H совпадают в пределах экспериментальной точности; имеющаяся тенденция [16] к превышению a_H над a_G на $\approx 5\%$ не должна приниматься серьезно, поскольку такого же порядка погрешности в измеренной величине a_G . С теоретической точки зрения разница $a_H - a_G \approx 0,3$ нм может быть объяснена гидратацией вирусных частиц. Отметим, что в сочетании с седиментацией определение радиуса a_H оптическим методом позволяет вычислить молекулярный вес частиц с точностью до процента.

Таким образом, малоугловое рентгеновское рассеяние и спектроскопия квазиупругого рассеяния дают почти идентичную информацию о размерах сферических вирусов. Однако спектроскопический метод точнее, быстрее, безопаснее и, кроме того, позволяет работать с суспензиями вирусов, на три порядка менее концентрированными, чем в рентгеновском методе. Кроме того, оптическая спектроскопия в отличие от рентгеновской — неповреждающий метод. Укажем также, что некоторые липидсодержащие (миксо) вирусы, например вирус гриппа, являются малоконтрастными рентгеновскими объектами, но ввиду их больших размеров (> 100 нм) представляют идеальные объекты для квазиупругого рассеяния [8]. Недавний прогресс в рентгеновской спектроскопии, связанный с использованием синхронного излучения [17], позволяет надеяться на увеличение точности определения a_G более чем на порядок и на резкое сокращение времени измерения. Тогда разница $a_H - a_G$ станет источником важной биофизической информации о гидратных оболочках вирусов и макромолекул в растворах. Отметим в заключение, что синхротронное излучение ввиду сложности и дороговизны получения долго еще останется привилегией немногих крупных центров.

4.3. Диффузия несферических частиц. Рассмотрим теперь эффекты несферичности частиц, которые по-прежнему будем считать построен-

ными из оптически изотропного материала. Эти эффекты теоретически обсуждались на феноменологическом уровне в работах [18, 19]. Мы рассмотрим сначала эти эффекты качественно. Несферическая частица в жидкости подвержена вращательной диффузии — хаотическим изменениям ее ориентации вследствие тепловых флуктуаций. Корреляционное (характерное) время такого движения τ_R выражается через коэффициент вращательной диффузии D_R , который для почти сферических частиц имеет вид

$$\tau_R^{-1} \sim D_R = \frac{kT}{8\pi a^3 \eta} \quad (38)$$

и соотносится с характерным временем пространственной диффузии τ_c (24), как

$$\tau_R/\tau_c \sim (qa)^2. \quad (39)$$

Для малых частиц ($ka \ll 1$) или для малоуглового рассеяния ($qa \ll 1$) ротационное время значительно короче трансляционного. Это означает, что за характерное время трансляционной диффузии (см. обсуждение к формуле (24)) частица успевает много раз сменить ориентацию. При этом трансляционная диффузия будет изотропной, некоррелированной с вращательной, что оправдывает расщепление корреляторов (26), и будет задаваться единственным коэффициентом диффузии D ; эта величина определяется усредненным по ориентациям частицы коэффициентом диффузии. Формула Стокса была обобщена на случай эллипсоидов в [20]. Для вытянутого эллипсоида вращения с большой осью L и малой l средний коэффициент трансляционной диффузии имеет вид

$$D = \frac{kT}{3\pi L \eta} \ln \frac{2L}{l} \quad (40)$$

и лишь логарифмическим множителем отличается от выражения (25) для шара равного габарита ($L = 2a$).

Установив порядок времен корреляции τ_c (24) и τ_R (38), теперь пойдем, как ведет себя корреляционная функция $g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$ (26) при учете вращательной диффузии. Поскольку при полном вращательном усреднении (т. е. при $\tau \gg \tau_R$) вклад, соответствующий изотропной пространственной диффузии, остается, то, предполагая, что вращательная релаксация также носит экспоненциальный характер, получим

$$g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau) = e^{-\tau/\tau_c} (1 - \zeta(\mathbf{q}, 0) + \zeta(\mathbf{q}, \tau) e^{-\tau/\tau_R}). \quad (41)$$

Здесь $\zeta(\mathbf{q}, \tau)$ — некоторая не возрастающая экспоненциально функция. Вращательная диффузия сказывается на свойствах рассеянного света вследствие зависимости амплитуды рассеяния χ_A (23) света на частице от ее ориентации. Для частиц, состоящих из изотропного вещества, эта зависимость исчезает при $q \rightarrow 0$, причем линейный по q член ($\sim qr_A$) выпадает, так как движение центра масс r_A уже учтено пространственной диффузией. Следовательно, $\zeta(\mathbf{q}, \tau)$ падает, по крайней мере, как $(qa)^2$. Фактически же это падение еще сильнее, так что при $qa \rightarrow 0$

$$\zeta(\mathbf{q}, \tau) \propto (qa)^4. \quad (42)$$

Укажем, что такими же свойствами обладает любое внутреннее движение составной частицы (например, колебание или переходы между двумя конформациями макромолекулы), определяемое движением составляющих ее частиц (ср. (23)). Поэтому для малых частиц ($ka < 1$) наблюдение вращения либо внутреннего движения через спектр (автокорреляционную функцию) рассеянного света затруднено; квазиупругое рассеяние целиком обязано изотропной трансляционной диффузии.

Сейчас продолжим рассмотрение вращательной диффузии и дадим схему ее количественного описания. Для выделения зависимости от

ориентации частицы удобно перейти к мультипольному разложению амплитуды (23); воспользовавшись известной формулой разложения экспоненты по сферическим гармоникам, получим

$$\chi_A(\mathbf{q}, r) = 4\pi \sum_{m, l \neq 1} i^l Q_{lm}(\mathbf{q}, \tau) Y_{lm}^*\left(\frac{\mathbf{q}}{q}\right), \quad (43)$$

где Y_{lm} — сферическая гармоника [21], Q_{lm} — сферический мультипольный момент ранга l поляризуемости частицы:

$$Q_{lm}(\mathbf{q}, \tau) = \int d^3r \chi_0(\mathbf{r}) Y_{lm}\left(\frac{\mathbf{r}}{r}\right) j_l(qr), \quad (44)$$

здесь $\chi_0(\mathbf{r})$ — плотность поляризуемости частицы, j_l — сферическая функция Бесселя [21]. Мультипольные моменты Q_{lm} пропорциональны координатам центра тяжести (поляризации) частицы и могут быть выбраны равными нулю (ср. с обсуждением к (42)). Зависимость от времени возникает в (44) вследствие эволюции во времени трех эйлеровских углов ψ , определяющих ориентацию частицы. Зависимость от этих углов для мультиполей является универсальной (она дается матрицами Вигнера) и, кроме того, ортогональной для разных l и m . Поэтому мультиполи разных типов не смешиваются при вычислении форм-фактора частицы (27), для которого справедливо представление

$$S_A(\mathbf{q}, \tau) = \sum_{m, l \neq 1} |Q_{lm}^0(\mathbf{q})|^2 \mathcal{F}_{lm}(\tau). \quad (45)$$

Здесь $Q_{lm}^0(\mathbf{q})$ — мультипольные моменты (44), вычисленные в неподвижной относительно частицы системе координат (не зависят от τ); $\mathcal{F}_{lm}(\tau)$ — угловые корреляционные факторы (не зависят от \mathbf{q}); $\mathcal{F}_{00} = 1$.

Из асимптотики при $qr \rightarrow 0$ $j_l(qr) \approx (qr)^l / (2l+1)!!$ следует, что $Q_{lm}^0(\mathbf{q}) \propto (qa)^l$ при $qa \rightarrow 0$. Поэтому старший зависящий от τ член в (45) имеет порядок $(qa)^4$ в соответствии с (42). Для аксиально-симметричной частицы в работе [18] вычислено в приближении вращательной диффузии

$$\mathcal{F}_{lm}(\tau) = \delta_{m0} 1/2(1 + (-1)^l) \exp(-l(l+1)\tau D_R), \quad (46)$$

где D_R — коэффициент вращательной диффузии вокруг оси, нормальной к оси симметрии частицы. Формулы (44)–(46) при подстановке в (26), (27) и решают важную задачу о вращательной диффузии. Полученный результат находится в согласии с формулой (41) при $\tau_R = 1/6D_R$.

Теперь проанализируем ситуацию, возникающую при исследовании формы частицы через вращательную диффузию. Поскольку величина $\zeta(\mathbf{q}, \tau)$, описывающая вклад вращения (и внутренних движений) в $g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$ (41), для малых частиц падает, как $(qa)^4$, то, очевидно, что при $qa \ll 1$ ее измерение невозможно. В обратном предельном случае ($qa \gg 1$) величина $\zeta(\mathbf{q}, \tau)$ не мала, но зато мал показатель вращательной экспоненты τ/τ_R (41) при временах τ , не слишком превосходящих τ_c , что следует из оценки (39). Если же $\tau \gg \tau_c$, то вся корреляционная функция $g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$ оказывается экспоненциально малой. Таким образом, при $qa \gg 1$ измерение вращательной диффузии опять невозможно. Это означает, что остается только узкий коридор $qa \approx 1$. Для больших ($ka \gg 1$) частиц это условие всегда можно выполнить подбором угла рассеяния θ .

В последнем случае ($qa \gtrsim 1$) появляется, однако, принципиальная сложность. Согласно оценке (39) ротационное и трансляционное времена когерентности становятся одного порядка. Это означает, что за время трансляционной диффузии частица не успевает переориентироваться и ее пространственное движение (в направлении \mathbf{q}) коррелирует с ее ориентацией. Поэтому, строго говоря, обычно применяемая факторизация (26) несправедлива и разделение движения частицы на трансля-

ционное и вращательное невозможно. В этом же случае по аналогичным причинам может показаться невозможным отделение и внутреннего движения (например, колебаний) частицы. Тем не менее, учитывая, что коэффициент трансляционной диффузии не слишком сильно (обычно через логарифм) зависит от ориентации частицы (см. [20], а также [1], § 3.6), можно надеяться, что при $qa \gg 1$ для жесткой частицы будет получено близкое к правильному значение D_r .

ЛИТЕРАТУРА

1. Волькенштейн М. В. Молекулярная биофизика. М., Наука, 1975.
2. Спектроскопия оптического смешения и корреляция фотонов. Под ред. Г. Камминса и Э. Пайка. М., Мир, 1978.
3. Рудницкий А. Л. Применение лазерной анемометрии в гидроаэродинамике. — Автометрия, 1979, № 4.
4. Перина Я. Когерентность света. М., Мир, 1974.
5. Камминс Г. З. Применение спектроскопии оптического смешения в биологии. — В кн.: Спектроскопия оптического смешения и корреляция фотонов. М., Мир, 1978, с. 287.
6. Ахизер А. И., Берестецкий В. Б. Квантовая электродинамика. М., Наука, 1969, гл. IV, § 27.
7. Ньютон Р. Теория рассеяния волн и частиц. М., Мир, 1969, гл. 2, 3.
8. Арефьев И. М., Еськов А. П., Харитonenков И. Г., Христова М. Л., Елизарова Г. В. Определение коэффициентов диффузии и средних размеров микровирусов методом лазерной спектроскопии оптического смешения. — Вопросы вирусологии, 1976, № 6.
9. Schmidt R. L., Boyle J. A., Mayo J. A. Intensity fluctuation spectroscopy of DNA. I. Temperature profile of bacteriophage N1 DNA. — Biopolymers, 1977, vol. 16, p. 317.
10. Tsunashima Y. et al. Characterization of group C meningococcal polysaccharides by light scattering spectroscopy. III. Determination of molar weight, radius of gyration, translational diffusion coefficient. — Biopolymers, 1978, vol. 17, p. 251.
11. Арефьев И. М., Барсегянц Л. О., Еськов А. П., Алексеева В. И. Определение видовой специфичности крови методом спектроскопии оптического смешения. — Судебно-медицинская экспертиза, 1978, № 1.
12. Nossal R., Chen S. H., Lai C. C. Use of laser scattering for quantitative determination of bacterial motility. — Opt Comm, 1971, vol. 4, p. 35.
13. Арефьев И. М., Еськов А. П., Козлов Г. Г. Определение активности спермы методом светорассеяния. — Бюл. exper. биологии и медицины, 1978, № 2.
14. Лифшиц Е. М., Питаевский Л. П. Статистическая физика. Ч. 2. М., Наука, 1978, гл. IX, § 86.
15. Pusey P. N., Koppel D. E., Schaefer D. W., Camerini-Otero R. D., Koenig S. H. Intensity fluctuations spectroscopy of laser light scattered by solution of spherical viruses. — Biochemistry, 1974, vol. 13, p. 952.
16. Camerini-Otero R. D., Pusey P. N., Koppel D. E., Schaefer D. W., Franklin R. M. Intensity fluctuations spectroscopy of laser light scattered by solution of spherical viruses: A17, β , BSV, PM2, T7. Diffusion coefficients, molecular weights, solvation, and particle dimensions. — Biochemistry, 1974, vol. 13, p. 960.
17. Кулипанов Г. Н., Скринский А. Н. Использование синхротронного излучения: состояние и перспективы. — УФН, 1977, т. 122, с. 369.
18. Pecora R. Spectral distribution of light scattered by monodisperse rigid rods. — J. Chem. Phys., 1968, vol. 48, p. 4126.
19. Aragon S. R., Pecora R. Theory of dynamic light scattering from large anisotropic particles. — J. Chem. Phys., 1977, vol. 66, p. 2506.
20. Perrin F. — J. de Phys., 1934, vol. 5, p. 33; 1936, vol. 7, p. 1.
21. Корн Г., Корн Т. Справочник по математике. М., Наука, 1968, гл. 21.

Поступила в редакцию 28 июня 1979 г.