

Ориентационный порядок и эволюция свойств биомолекул в анизотропных средах

Е. М. Аверьянов¹⁾

Институт физики им. Киренского СО РАН, 660036 Красноярск, Россия

Поступила в редакцию 1 декабря 2011 г.

Для анизотропных пленок полипептида и ДНК получены экспериментальные значения компонент тензоров Лорентца и локального поля световой волны, которые отвечают возрастанию средней величины и анизотропии поляризуемости биомолекул относительно изотропного раствора. Эти изменения поляризуемости как индикатора отклика биомолекул на внешние воздействия, а также их химической и биологической активности задают направление эволюции свойств биомолекул в ориентационно упорядоченных средах.

1. Конденсированные фазы биомолекул (липидов, полипептидов, белков, нуклеиновых кислот) в живых системах имеют структуры, подобные нематической, холестерической и смектической А-фазам каламитных жидких кристаллов (ЖК) [1–3] и колоночным фазам $\text{Col}_{h(o,d)}$ дискотических ЖК [4]. Поскольку общей чертой этих структур является их ориентационная упорядоченность, возникают вопросы о роли ориентационного порядка биомолекул в эволюции их свойств в анизотропных средах, физических проявлениях этой эволюции и ее направлении.

В анизотропной среде с достаточно плотной упаковкой молекул межмолекулярные взаимодействия ближнего и дальнего порядков влияют на молекулярные восприимчивости разного ранга, которые характеризуют отклик молекул на внешние воздействия и адаптацию молекул к изменяющемуся окружению. Восприимчивостью низкого ранга является тензор молекулярной поляризуемости γ . Изменение γ в анизотропной среде отражает изменение межмолекулярных взаимодействий, поляризации, электронных свойств и конформации молекул [5, 6], что влияет на химическую, биологическую активность молекул и их функциональные свойства [7]. Для ответа на поставленные вопросы необходима информация об изменении тензора γ биомолекул в анизотропных средах.

Прямой метод определения компонент тензора γ для одноосных молекулярных сред является рефрактометрия, в рамках которой используется связь $\epsilon_j = 1 + 4\pi N f_j \gamma_j$ [5] компонент диэлектрической проницаемости с усредненными по ансамблю компонентами поляризуемости γ_j для световых волн, поляризованных вдоль ($j = \parallel$) и нормально ($j = \perp$) оптической оси среды \mathbf{n} . Здесь N – число молекул в единице

объема, $f_j = 1 + L_j(\epsilon_j - 1)$ – компоненты тензора локального поля, L_j – компоненты тензора Лоренца ($\text{Sp}L = 1$). В области прозрачности $\epsilon_j = n_j^2$, где n_j – показатели преломления среды. Для статистически одноосных макромолекул с продольной осью \mathbf{l} тензор γ характеризуется продольной (γ_l) и поперечной (γ_t) компонентами или средним значением $\bar{\gamma} = (\gamma_l + 2\gamma_t)/3$ и анизотропией $\Delta\gamma = \gamma_l - \gamma_t$. До сих пор значения $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$ для биомолекул в анизотропных средах определялись с использованием величины [8, 9]

$$\bar{\gamma}_H = \frac{3(\bar{\epsilon} - 1)}{4\pi N(\bar{\epsilon} + 2)} \quad (1)$$

в качестве $\bar{\gamma}$ (где $\bar{\epsilon} = (\epsilon_{\parallel} + 2\epsilon_{\perp})/3$), изотропного тензора $f_V = (\bar{\epsilon} + 2)/3$ [8, 9] или компонент $L_j = 1/3$ [10, 11]. Эти модели предопределяют значения $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$ и влекут нефизические следствия из спектральных данных [5].

Объективное исследование изменений $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$ для биомолекул в одноосных средах возможно при определении компонент L_j [12] из экспериментальных данных без априорных предположений о ненаблюдаемых параметрах молекул и свойствах тензоров L , f . В данной работе этот подход используется для случая биомолекул полипептида и ДНК в одноосных пленках для выяснения ограничений, налагаемых на значения $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$ образованием пленки и межмолекулярными взаимодействиями. Эти ограничения дают ответы на поставленные выше вопросы.

2. Рассмотрим одноосную пленку с планарной (параллельно плоскости пленки) или гомеотропной (перпендикулярно пленке) ориентацией оптической оси \mathbf{n} . Предположим, что пленка состоит из статистически одноосных макромолекул, ориентационная упорядоченность которых относительно \mathbf{n} характеризуется величиной $S = \langle 3\cos^2\theta - 1 \rangle / 2$, где θ – угол между осями \mathbf{l} и \mathbf{n} , треугольные скобки озна-

¹⁾ e-mail: aver@iph.krasn.ru

чают усреднение по ансамблю макромолекул. Знак S определяет осевую ($0 < S \leq 1$) или плоскостную ($-0.5 \leq S < 0$) ориентации макромолекул. Процедура определения компонент L_{\perp} , $L_{\parallel} = 1 - 2L_{\perp}$ зависит от знака $\Delta n = (n_{\parallel} - n_{\perp}) \sim \Delta\gamma S$ [12].

Для исследуемых здесь пленок с $\Delta n > 0$ в видимой области прозрачности используем параметры $\bar{\varepsilon}$, $Q = (\varepsilon_{\parallel} - \varepsilon_{\perp})/(\bar{\varepsilon} - 1)$ и величины

$$r_0 = 1 - \frac{2Q^2(\bar{\varepsilon} - 1)}{3(3 + Q)(\bar{\varepsilon} + 2)}, \quad b = \frac{3(\bar{\varepsilon} - 1)}{4\pi N\bar{\gamma}(\bar{\varepsilon} + 2)} - r_0, \quad (2)$$

$$b_1 = \frac{2r_0Q^2}{(3 - Q)(3 + 2Q)}, \quad b_2 = b_1[(6 + Q)/Q]^2.$$

При состоянии пленки, характеризуемом индексом T , эти величины являются функциями T и длины световой волны λ . Искомое значение $L_{\perp}(T)$ дается выражением [12]

$$L_{\perp} = L_{\perp k} - \frac{(\bar{\varepsilon} + 2)}{12(\bar{\varepsilon} - 1)} \times$$

$$\times \left[(b_1 b_2)^{1/2} - b - [(b_1 - b)(b_2 - b)]^{1/2} \right], \quad (3)$$

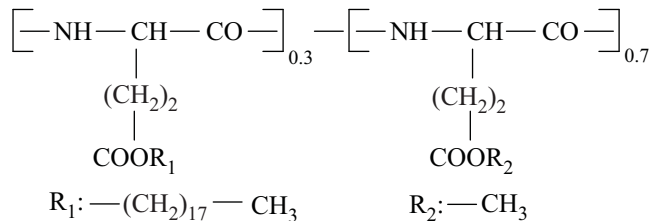
где $L_{\perp k} = (3 + 2Q)/[3(3 + Q)]$. Сюда входит функция $b(\lambda, T)$, зависящая от неизвестной функции $\bar{\gamma}(\lambda, T)$. Определение компоненты $L_{\perp}(T)$ состоит в следующем. При известных значениях $n_j(\lambda, T)$ для дискретного набора величин λ_i ($i = 1 - p$) в видимой области функция $b(\lambda, T)$ в интервале $\lambda_1 - \lambda_p$ аппроксимируется полиномом

$$b(\lambda, T) = a_0(T) + a_1(T)\lambda + \dots + a_m(T)\lambda^m. \quad (4)$$

Величина $L_{\perp}(T)$ не зависит от λ , и состоянию T отвечают $m + 2$ неизвестных ($L_{\perp}^{(m)}$, $a_0 - a_m$). Они находятся из системы $m + 2 = p$ уравнений (3), каждое из которых соответствует одному из значений λ_i . Критерием адекватности используемого в (4) приближения является согласие значений $L_{\perp}^{(m)}$ с величинами $\langle L_{\perp}^{(m-1)} \rangle$, усредненными по значениям $L_{\perp}^{(m-1)}$, которые отвечают сочетаниям $p - 1$ реперов λ_i из набора $\lambda_1 - \lambda_p$ [12].

3. Полипептидный сополимер полиглутамат (PG) имеет α -спиральные стержнеобразные макромолекулы с показанной на рисунке структурой мономеров [13].

Для одноосной нематической пленки PG толщиной 0.5425 мкм с планарной ориентацией \mathbf{n} и осевой ориентацией молекулярных осей I α -спиралей относительно \mathbf{n} показатели преломления $n_j(\lambda_i)$ табулированы в работе [13] с точностью 10^{-4} при значениях $\lambda_1 = 0.4762$, $\lambda_2 = 0.4825$, $\lambda_3 = 0.5309$, $\lambda_4 = 0.5682$ и $\lambda_5 = 0.6471$ мкм в области прозрачности. Боковые



Структурная формула мономера PG

фрагменты мономеров PG ориентационно не упорядочены и не дают заметного вклада в Δn . В результате для молекул PG в пленке имеем $\Delta\gamma > 0$, $S > 0$ и $\Delta n > 0$. Использование значений $n_j(\lambda_i)$ [13] для пленки PG дает одинаковые величины: $L_{\perp}^{(3)} = 0.3412$, $\langle L_{\perp}^{(2)} \rangle = 0.3410 \pm 0.0004$.

Другими объектами исследования являются одноосные пленки DNA_{1,2} толщиной 2–4 мкм с гомеотропной ориентацией \mathbf{n} и плоскостной ориентацией стержнеобразных спиральных макромолекул ДНК природного морского лосося [14]. Пленки DNA₁ (DNA₂) сушили в вакууме при 35–45 °С (хранились они на воздухе при 21 °С) в течение суток. Их показатели преломления $n_j(\lambda_i)$, измеренные при относительной влажности 45% (50–55%), табулированы в работе [14] с точностью 10^{-4} при значениях $\lambda_1 = 0.6328$ и $\lambda_2 = 0.8140$ мкм в области прозрачности. Для анизотропии поляризуемости $\Delta\gamma_m$ мономерного фрагмента ДНК и величины $\Delta\gamma$ для макромолекулы выполняются соотношения $\Delta\gamma_m < 0$ и $\Delta\gamma < 0$ [15], чему при $S < 0$ для пленок DNA_{1,2} отвечает $\Delta n > 0$. Для пленок DNA₁ и DNA₂ значения $n_j(\lambda_i)$ дают близкие величины: $L_{\perp}^{(0)} = 0.3421$ и 0.3407 .

Представим параметры $\bar{f} = (f_{\parallel} + 2f_{\perp})/3$ и $\Delta f = f_{\parallel} - f_{\perp}$ в виде

$$\bar{f} = (\bar{\varepsilon} + 2)[1 - A(1 - r_0)]/3, \quad (5)$$

$$\Delta f = Q(\bar{\varepsilon} - 1)(1 - A)/3,$$

где $A = (L_{\perp} - 1/3)/(L_{\perp k} - 1/3)$. Для пленок PG и DNA_{1,2} в области прозрачности полученные значения L_{\perp} отвечают неравенствам $L_{\perp} > L_{\perp k} > 1/3$, $A > 1$ и $\Delta f < 0$. Учет неравенства $S\Delta\gamma\Delta f < 0$ для этих объектов в соотношении

$$\bar{\varepsilon} - 1 = 4\pi N(\bar{\gamma}\bar{f} + 2S\Delta\gamma\Delta f/9) \quad (6)$$

приводит к ограничениям

$$\bar{\gamma} > \frac{\bar{\varepsilon} - 1}{4\pi N\bar{f}} > \frac{3(\bar{\varepsilon} - 1)}{4\pi Nr_0(\bar{\varepsilon} + 2)} \equiv \bar{\gamma}_0. \quad (7)$$

Величина $S\Delta\gamma$ дается выражением [12]

$$S\Delta\gamma = \bar{\gamma}Q(1 + \sigma), \quad (8)$$

где поправка σ на анизотропию Δf имеет вид

$$\sigma = \frac{\Delta f(Q^2 - 9)(3 + 2Q)}{Q[3(3 + Q)(\bar{\varepsilon} + 2)r_0 + \Delta f(3 - Q)(3 + 2Q)]}. \quad (9)$$

Для обсуждаемых объектов величины $\sigma > 0$ не малы и существенны для определения значений $S\Delta\gamma$ по формуле (8). Для PG имеем $\sigma(\lambda_5) = 0.652$, для DNA₁ (DNA₂) получаем $\sigma(\lambda_1) = 0.305$ (0.245). Из формул (7), (8) следуют ограничения

$$S\Delta\gamma > \frac{\Delta\varepsilon(1 + \sigma)}{4\pi N\bar{f}} > \frac{3\Delta\varepsilon}{4\pi Nr_0(\bar{\varepsilon} + 2)} \equiv S\Delta\gamma_0. \quad (10)$$

Верхние оценки величин $\bar{\gamma}$, $S\Delta\gamma$ в формулах (7), (10) близки к их точным значениям в (6), (8). Правые части формул (7), (10) отвечают значениям $\bar{\gamma}_0$, $S\Delta\gamma_0$ при $\Delta f = 0$ и изотропном тензоре $f = \bar{f}(A = 1) = r_0(\bar{\varepsilon} + 2)/3$.

При заданных значениях Q и S , определяемых условиями приготовления пленки, ограничения (7), (10) отражают влияние межмолекулярных взаимодействий в пленке на компоненты поляризуемости

$$\gamma_l = \bar{\gamma} \left[1 + \frac{2Q(1 + \sigma)}{3S} \right], \quad \gamma_t = \bar{\gamma} \left[1 - \frac{Q(1 + \sigma)}{3S} \right], \quad (11)$$

которые изменяются взаимосогласованно с величинами $n_j(\lambda)$, L_j , $f_j(\lambda)$. Для пленки PG с $Q > 0$, $S > 0$ экспериментальное значение $\sigma > 0$ повышает (снижает) величины γ_l и $\Delta\gamma$ (γ_t) относительно их значений, отвечающих моделям с $\sigma \leq 0$. То же самое справедливо для молекул-липидов в бислоидной липидной мембране и смектиках A [12], а также для молекул с $\Delta\gamma > 0$ в квазинематическом слое холестерических ЖК [16].

Для пленок DNA_{1,2} с $Q > 0$, $S < 0$ экспериментальные значения $\sigma > 0$ снижают (повышают) величину γ_l (γ_t и $|\Delta\gamma|$) относительно ее значения, отвечающего моделям с $\sigma \leq 0$. Того же самого следует ожидать для квазинематических слоев холестерических дисперсий ДНК [3] и колумнарной гексагональной фазы ДНК [4], подобной фазам Col_{h(o,d)} дискотических ЖК с $Q < 0$, $S > 0$ и $\sigma > 0$ [12].

Таким образом, для всех известных ориентационно упорядоченных конденсированных фаз биомолекул со структурой каламитных или дискотических ЖК экспериментальные значения L_j и f_j , полученные без априорных предположений о ненаблюдаемых молекулярных параметрах и свойствах тензоров L и f , отвечают ограничениям снизу (7), (10) на параметры $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$ (или $|\Delta\gamma|$).

4. Сравним полученный результат с данными модельных подходов к определению $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$ в анизотропных биомолекулярных средах. Из формул (1), (7)

видно, что следствием неравенства $r_0 < 1$ является $\bar{\gamma}_0 > \bar{\gamma}_H$ и величина $\bar{\gamma}_H$ занижена по сравнению с $\bar{\gamma}$. Из выражения (2) для b следует, что условие $\bar{\gamma} = \bar{\gamma}_H$ [8, 9] отвечает величине $b(\bar{\gamma}_H) = 1 - r_0 = b_H > 0$ и значениям $L_\perp(b_H) = L_\perp^{(H)} < L_{\perp k}$, $\Delta f(L_\perp^{(H)}) > 0$. Вместо (8) теперь имеем

$$S\Delta\gamma_H = \bar{\gamma}_H Q(1 + \sigma_H) \quad (12)$$

с $\sigma_H < 0$. Для PG $\sigma_H(\lambda_5) = -0.159$, для DNA₁ (DNA₂) $\sigma_H(\lambda_1) = -0.177$ (-0.170). Из формул (8), (12) следует, что

$$\Delta\gamma_H/\Delta\gamma = \bar{\gamma}_H(1 + \sigma_H)/[\bar{\gamma}(1 + \sigma)] \quad (13)$$

и $\Delta\gamma_H$ существенно занижено по сравнению с $\Delta\gamma$.

Использование тензора $f_V = (\bar{\varepsilon} + 2)/3$ [8, 9] с $\Delta f_V = \sigma_V = 0$ в формулах (6), (8), (10) дает $\bar{\gamma}_V = \bar{\gamma}_H$ и значение $\Delta\gamma_V = \Delta\gamma\bar{\gamma}_H/[\bar{\gamma}(1 + \sigma)] = \Delta\gamma_0 r_0$, заниженное относительно $\Delta\gamma_0$.

Значениям $L_j = 1/3$ [10, 11] отвечают величины $A = 0$, $\bar{f}^* = (\bar{\varepsilon} + 2)/3$, $\Delta f^* = Q(\bar{\varepsilon} - 1)/3$ и соотношение

$$S\Delta\gamma^* = \bar{\gamma}^* Q(1 + \sigma^*) \quad (14)$$

с $\sigma^* < 0$. С учетом неравенства $S\Delta\gamma^*\Delta f^* > 0$ из формулы (6) следует ограничение $\bar{\gamma}^* < \bar{\gamma}_H$. Для PG имеем $\sigma^*(\lambda_5) = -0.294$, для DNA₁ (DNA₂) получаем $\sigma^*(\lambda_1) = -0.324$ (-0.313) и величины $|\sigma^*|$, вдвое больше значений $|\sigma_H|$. В пределе $Q \rightarrow 0$ имеем

$$\sigma_{\text{lim}}^* = (1 - \bar{\varepsilon})/(\bar{\varepsilon} + 2), \quad (15)$$

причем $1 + \sigma^* < 1 + \sigma_{\text{lim}}^* = 3/(\bar{\varepsilon} + 2)$.

Сравним значение $\Delta\gamma^*$ для жесткоцепных макромолекул в анизотропной пленке с величиной $\Delta\gamma_s$ для тех же молекул в растворе. Известно, что для жестких анизотропных молекул величины $\Delta\gamma_s$ близки к значениям $\Delta\gamma_V$, полученным для тех же молекул из показателей преломления анизотропных сред с использованием тензора f_V [17]. С учетом этого и соотношения $\bar{\gamma}^* < \bar{\gamma}_H$ получаем

$$\Delta\gamma^*/\Delta\gamma_s \approx \Delta\gamma^*/\Delta\gamma_V < 1 + \sigma^* < 3/(\bar{\varepsilon} + 2). \quad (16)$$

Для изученных в работе [11] одноосных пленок ДНК (*calx thymus* DNA) с гомеотропной ориентацией \mathbf{n} и плоскостной ориентацией молекул средний показатель преломления $n = 1.47$ ($\lambda = 0.55$ мкм) дает ограничение $\Delta\gamma^*/\Delta\gamma_s < 0.721 = 3/(\bar{\varepsilon} + 2)$. Эта верхняя оценка согласуется с экспериментальным значением $\Delta\gamma^*/\Delta\gamma_s \approx 0.61$ [11] и объясняет его величину и причину. Используя приведенные выше значения σ^* , для пленки DNA₁ (DNA₂) при $\lambda = \lambda_1$ из (16) получаем

$\Delta\gamma^*/\Delta\gamma_s < 0.676$ ($\Delta\gamma^*/\Delta\gamma_s < 0.687$), что согласуется с данными [11]. Для пленки PG при $\lambda = \lambda_5$ имеем $\Delta\gamma^*/\Delta\gamma_s < 0.706$.

5. Суммируя изложенное, получаем неравенства

$$\begin{aligned} \bar{\gamma}_0 > \bar{\gamma}_H = \bar{\gamma}_V \approx \bar{\gamma}_s > \bar{\gamma}^*, \\ \Delta\gamma_0 > \Delta\gamma_s \approx \Delta\gamma_V > \Delta\gamma_H > \Delta\gamma^*, \end{aligned} \quad (17)$$

которые вместе с ограничениями (7), (10) дают ответ на поставленные вопросы. Повышение значений $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$ в анизотропных биомолекулярных средах задает направление эволюции физико-химических, биологических и функциональных свойств молекул, зависящих от $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$. Независимо от условий образования природной или искусственной анизотропной молекулярной среды наличие в ней дальнего ориентационного порядка молекул и анизотропии ближнего координационного окружения молекул является фактором, определяющим анизотропные межмолекулярные взаимодействия, которые проявляются в анизотропии тензоров L , f [18] и изменении молекулярных параметров $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$.

Это выделяет анизотропные биомолекулярные среды в отношении факторов, благоприятствующих биологической эволюции биомолекул, на фоне изотропных конденсированных сред и растворов, поскольку физические и биохимические процессы, приводящие к росту $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$ в анизотропном биомолекулярном ансамбле, повышают его стабильность, что, в свою очередь, способствует протеканию этих процессов. Таким образом, наличие ориентационного порядка достаточно плотно упакованных биомолекул придает автокаталитический характер химическим реакциям и процессам, способствующим росту $\bar{\gamma}$ и $\Delta\gamma$. Так, процесс ренатурации молекул ДНК при снижении температуры протекает более эффективно при их расположении в квазинематических слоях холестерических дисперсий [3], чем в случае изолированных молекул ДНК в растворе, поскольку сопровождается ростом $\bar{\gamma}$, $\Delta\gamma$ наряду со

стерическими ограничениями со стороны соседних молекул [3].

1. Г. Браун, Дж. Уолкен, *Жидкие кристаллы и биологические структуры*, М.: Мир, 1982.
2. Y. Bouligand, *Liquid Crystalline Order in Polymers* (ed. by A. Blumstein), N.Y.–London: Academic Press, 1978, Ch. 8, p. 262.
3. Ю. М. Евдокимов, В. И. Саянов, С. В. Семенов, С. Г. Скуридин, *Жидкокристаллические дисперсии и наноконструкции ДНК*, М.: Радиотехника, 2008.
4. F. Livolant and A. Leforestier, *Progr. Polym. Sci.* **21**, 1115 (1996).
5. Е. М. Аверьянов, *Эффекты локального поля в оптике жидких кристаллов*, Новосибирск: Наука, 1999.
6. Е. М. Аверьянов, *Стерические эффекты заместителей и мезоморфизм*, Новосибирск: Изд. СО РАН, 2004.
7. А. Н. Верещагин, *Поляризуемость молекул*, М.: Наука, 1980.
8. M. R. Flowers, R. L. Marlowe, S. A. Lee et al., *Biophys. J.* **63**, 323 (1992).
9. P. J. Adams, M. L. VanSteenberg, S. A. Lee, and A. Rupprecht, *J. Biomolec. Struct. Dynam.* **11**, 1277 (1994).
10. А. Е. Грищенко, А. Н. Черкасов, *УФН* **167**, 269 (1997).
11. А. Е. Грищенко, А. И. Кононов, Л. В. Наумова и др., *Высокомолекулярное соед.* **52**, 47 (2010).
12. Е. М. Аверьянов, *ЖЭТФ* **137**, 705 (2010).
13. A. Mathy, K. Mathauer, G. Wegner, and C. Bubeck, *Thin Solid Films* **215**, 98 (1992).
14. A. Samoc, M. Samoc, J. G. Grote et al., *Proc. SPIE* **6401**, 640106 (2006).
15. В. Н. Цветков, Е. И. Рюмцев, И. Н. Штенникова, *Жидкокристаллический порядок в полимерах* (под ред. В. Н. Цветкова), М.: Мир, 1981, гл. 2, с. 57.
16. Е. М. Аверьянов, *Письма в ЖЭТФ* **89**, 381 (2009).
17. М. Ф. Вукс, *Рассеяние света в газах, жидкостях и растворах*, Л.: Изд. ЛГУ, 1977.
18. Е. М. Аверьянов, *ЖЭТФ* **135**, 194 (2009).