

молекулы, несущие электрические заряды (см. ниже). В электрическом поле они поэтому перемещаются — происходит электрофорез (см. стр. 66). Стационарные измерения невозможны, и приходится пользоваться импульсным методом, т. е. проводить измерения синхронно с кратковременным включением поля. Интерпретация полученных при этом данных весьма затруднительна, так как они определяются релаксационными, кинетическими явлениями. Поэтому применительно к биополимерам эффект Керра мало перспективен. Двойное лучепреломление в потоке дает более надежные результаты.

§ 3.8. ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТЫ

Многие макромолекулы, в том числе белки и нуклеиновые кислоты, в водных растворах являются макроионами, т. е. они несут на себе множество зарядов. Биополимеры представляют собой *полиамфолиты*, т. е. они содержат и катионные, и анионные группы. Свойства макромолекулы полиэлектролита в растворе зависят от ее строения, а также от рН и ионной силы раствора (см. стр. 65).

Существуют как твердые макроионы (глобулярные белки и др.), так и гибкие полиэлектролитные цепи. Очевидно, что поведение таких макромолекул в существенной степени определяется взаимодействием содержащихся в них зарядов. Величины этих зарядов в свою очередь зависят от степени диссоциации ионогенных групп и от окружающей их ионной атмосферы.

Конформация гибкой полиэлектролитной цепи, впервые рассмотренная в [73], определяется условием минимума для суммы конформационной и электростатической свободной энергии. Наличие одноименных зарядов в цепи означает их взаимное отталкивание, которое приводит к разворачиванию клубка, к увеличению его размеров. Электростатическая свободная энергия гибкой макромолекулы вычисляется с учетом ионной атмосферы (см. стр. 63). Такой расчет был проведен Харрисом и Райсом [74] (см. также [75]).

Рассмотрим некоторую пространственную конфигурацию полииона с данным расположением неподвижных зарядов q . Электростатическая энергия взаимодействия зарядов выражается формулой (см. выше § 2.3)

$$U_{эл} = \frac{q^2}{2\epsilon} \sum_{k=1}^p \sum_{l=1}^p \sigma_k \sigma_l \frac{\exp(-\kappa r_{kl})}{r_{kl}}, \quad (3,134)$$

где суммирование производится по всем p ионогенным участкам, ϵ — диэлектрическая проницаемость среды, κ — параметр Дебая — Хюккеля (см. (2,9)), r_{kl} — расстояние между k -й и l -й

группами, σ_h и σ_l равны нулю для незаряженных и единице для заряженных участков. Воспользовавшись моделью цепи, построенной из свободно-сочлененных сегментов, можно представить $U_{эл}$ в виде суммы двух членов — энергий взаимодействия в пределах одного и того же сегмента $U_{эл 1}$ и энергии взаимодействия зарядов, расположенных в соседних сегментах $U_{эл 2}$ (энергией взаимодействия более удаленных сегментов можно пренебречь, так как $U_{эл}$ быстро убывает с ростом r_{hl}).

Расчет дает для сегментов одинаковой длины

$$U_{эл 1} = \frac{zq^2}{eb} \sum_{j=1}^{n-1} \frac{n(n-j)}{j} \exp\left(-j \frac{\kappa b}{n}\right), \quad (3,135)$$

где z — число сегментов в цепи, b — длина сегмента, n — число зарядов на сегменте, и

$$U_{эл 2} = \frac{n^2 q^2}{eb} \sum_{s=1}^{z-1} \frac{\exp(-\kappa b \cos^{1/2} \gamma_s)}{\cos^{1/2} \gamma_s} \quad (3,136)$$

(здесь r_{hl} заменено на $b \cos^{1/2} \gamma_s$). Углы γ_s характеризуют конформацию. Энергия $U_{эл}$ минимальна, если цепь полиэлектролита полностью вытянута. Параметр κ растет с ионной силой раствора, и поэтому при ее увеличении $U_{эл}$ уменьшается. Следовательно, увеличение ионной силы уменьшает набухание клубка, растяжение макромолекулы.

В табл. 3.3 приведены значения электростатической энергии гипотетического полиэлектролита с $z = 1000$ при различных радиусах инерции и ионных силах [53].

Таблица 3.3

Электростатическая свободная энергия
при разных радиусах инерции

Ионная сила, моль/л	$U_{эл}$ (кал/моль) при значениях R			
	100 Å	150 Å	300 Å	1000 Å
0,001	$1,12 \cdot 10^7$	$5,6 \cdot 10^6$	$1,25 \cdot 10^6$	$5,0 \cdot 10^4$
0,01	$3,43 \cdot 10^6$	$1,23 \cdot 10^6$	$1,80 \cdot 10^5$	5600
0,05	$9,4 \cdot 10^5$	$3,0 \cdot 10^5$	$4,05 \cdot 10^4$	1150

Эти значения вычислены с помощью упрощенной модели, в которой предполагается равномерное распределение неподвижных зарядов внутри сферы радиуса R [76].

Теория Дебая — Хюккеля, исходящая из линейаризованного уравнения Пуассона — Больцмана для плотности зарядов (см. стр. 63), строго говоря, неприменима к полиэлектролитам. Дело в том, что при не очень малых степенях ионизации электростатическое поле вокруг молекулы полиэлектролита велико, его энергия в несколько раз больше тепловой. Поэтому необходимо решать задачу с нелинейаризованным уравнением Пуассона — Больцмана.

Флори построил теорию размеров цепей полиэлектролитов, сходную с предложенной им теорией объемных эффектов (см. стр. 143). Очевидно, что электростатическое отталкивание также приводит к набуханию клубка, зависящему от ионной силы [77]. Флори предполагал, что клубок вместе с иммобилизованным им растворителем в целом электрически нейтрален. Расчет показывает, что электростатические взаимодействия не могут превратить клубкообразную макромолекулу в вытянутую — происходит лишь набухание клубка. Это согласуется с экспериментальными данными — с зависимостью характеристической вязкости $[\eta]$ от M . Птицын развил более строгую статистическую теорию заряженных макромолекул [78]. Исходное предположение этой теории состоит в том, что из-за большего экранирующего действия противоположно заряженные группы макромолекулы, расположенные далеко друг от друга по цепи, взаимодействуют лишь при их случайном сближении в результате флуктуационного изгибания цепи. Из теории Птицына следует, что конформационные свойства заряженных макромолекул промежуточны между свойствами ненабухших статистических клубков и жестких стержней. Для полиэлектролитов $\bar{h}^2 \propto M^{1/2}$ и $[\eta] \propto M$, для ненабухших клубков $\bar{h}^2 \propto M$ и $[\eta] \propto M^{1/2}$, а для стержней $\bar{h}^2 \propto M^2$ и $[\eta] \propto M^2/\ln M$. Эти результаты расчета согласуются с опытом (в частности, для денатурированной ДНК).

Из теории Птицына следует линейная зависимость квадрата коэффициента линейного набухания от $J^{-1/2}$ (J — ионная сила), что также подтверждено опытом.

Как уже сказано, наибольшая степень развертывания макромолекулярной цепи полиэлектролитов достигается при очень низкой ионной силе. На рис. 3.19 показано влияние заряда на

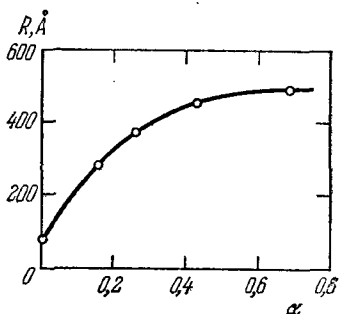
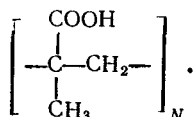


Рис. 3.19. Зависимость радиуса инерции макромолекул полиметакриловой кислоты от степени диссоциации карбоксильных групп.

радиус инерции макромолекул полиметакриловой кислоты



Эти данные получены методом рассеяния света для растворов, не содержащих солей [79]. Степень диссоциации поликислоты регулируется добавлением основания. При этом, конечно, ионная сила не остается постоянной.

Набухание клубка увеличивается с разбавлением раствора, так как уменьшение концентрации полиэлектролита при постоянной степени диссоциации означает уменьшение ионной силы. Соответственно наблюдаются аномалии на графиках концентрационной зависимости удельной вязкости η_{sp}/c (см. стр. 148) от обратной приведенной интенсивности (см. стр. 158). Удельная вязкость нелинейно возрастает с разбавлением вместо того, чтобы убывать. На кривых η_{sp}/c могут наблюдаться максимумы. Интерпретация таких данных не проста. Для получения ясной информации о структуре и свойствах макромолекул полиэлектролитов в растворах пользуются *изоионным разбавлением*: раствор полиэлектролита разбавляется раствором соли с той же ионной силой, что и у наиболее концентрированного раствора полиэлектролита, с тем, чтобы сохранять постоянной общую концентрацию противоионов. В этих условиях удается получать линейные зависимости η_{sp}/c от c (см. [53]).

Макромолекула полиэлектролита связывает противоионы. Поэтому полиион при взаимодействии с другими полиионами ведет себя как нейтральная система, что находит свое отражение в значениях второго вириального коэффициента, определяемого методом осмометрии (см. стр. 147) или светорассеяния (см. стр. 158) [80]. Противоионы могут специфически связываться ионизованными группами полиэлектролита — такое связывание зависит от химической природы макроиона и малого иона. Следует отличать это связывание, сводящееся к образованию солевых связей в фиксированных точках макромолекулы, от неспецифического связывания — образования ионной атмосферы. В солевой связи противоион находится на значительно меньшем расстоянии от полииона, чем то, на которое могут приближаться подвижные противоионы. Специфическое связывание противоионов определяет ионообменные свойства полиэлектролитов. Эти свойства имеют важные практические применения. Сшитые поперечными связями нерастворимые полиэлектролиты, набухающие в воде и других жидкостях, применяются в качестве ионообменных смол или ионитов [81]. Иониты оказываются способными сорбировать определенные ионы из растворов, что находит

применение при очистке и фракционировании различных электролитов, при очистке неэлектролитов от ионных примесей.

В полиамфолитах возможно образование солевых связей между катионными и анионными группами, служащими противоионами по отношению друг к другу.

В белках фигурируют кислотные (Глу, Асп, Тир) и основные (Арг, Гис, Лиз) аминокислотные остатки (см. стр. 56). В нуклеиновых кислотах присутствуют кислотные фосфатные группы

и основные группы $\text{N} \begin{array}{l} \diagup \\ \diagdown \end{array}$, NH , NH_2 азотистых оснований. По-

этому исследования строения и свойств молекул биополимеров обязательно должны учитывать их полиамфолитную природу и, следовательно, рН и ионную силу среды. Структура нативных и денатурированных молекул белков и нуклеиновых кислот в значительной мере зависит от электростатических, ионных взаимодействий. Теми же факторами, наряду с другими, определяются взаимодействия биополимеров с малыми молекулами и ионами, имеющие столь важное значение для биологической функциональности. Специфическое связывание ионов, ионный обмен ответственны за поведение таких надмолекулярных систем, как биологические мембраны. Прохождение малых ионов сквозь мембрану происходит специфическим способом посредством их сорбции и десорбции. Взаимодействие белковых полиионов с ионами K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} определяет важнейшие биологические явления, например распространение нервного возбуждения и мышечное сокращение.

Эти явления тесно связаны с механохимическими процессами. Слабо сшитые полиэлектролитные гели способны трансформировать химическую энергию в механическую работу. Представим себе полианионный гель, изготовленный, например, из полиметакриловой кислоты и набухший в воде при нейтральном рН. Добавление щелочи к такому гелю увеличит степень ионизации кислотных групп, их взаимное электростатическое отталкивание и, следовательно, степень набухания. Добавление кислоты вызовет сокращение геля. Изменение объема геля можно использовать для совершения работы. Если изготовить из слабо сшитого полиэлектролита волокно, то оно будет удлиняться или укорачиваться при добавлении щелочи или кислоты и производить соответствующую работу, опуская или подымая груз. Напротив, механическое растяжение такого волокна приводит к изменению ионного состава омывающей жидкости. Аналогичные процессы происходят в результате изменения ионной силы — введения в набухший полиэлектролит нейтральной соли. Качальский и Оплатка построили непрерывно работающую машину, в которой полиэлектролитное волокно (коллаген) попеременно погружается

в раствор соли и в чистую воду (рис. 3.20) [51]. Работа машины прекращается, когда в результате переноса малых ионов волокном в воду химические потенциалы обоих резервуаров выравниваются. Такая машина может быть пущена в обратную

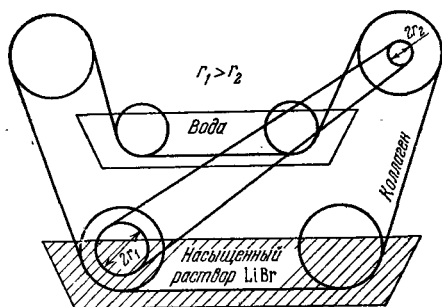


Рис. 3.20. Механохимическая машина Качальского и Опатки.

сторону за счет внешнего источника энергии, так же как тепловая машина может быть обращена в холодильник. При этом машина служит для извлечения соли из раствора, скажем, для опреснения морской воды.

Набухание и сжатие полиэлектролита, по-видимому, весьма существенно в мембранных явлениях, но в большинстве случаев механические процессы в биологии имеют иной характер.

Более подробно свойства полиэлектролитов описаны в монографиях [48, 53, 82].

Полиэлектролитными свойствами белков определяется возможность их разделения и исследования методом *электрофореза*. Если раствор, содержащий заряженные частицы, находится в электрическом поле, то частицы перемещаются по направлению к соответствующим электродам. Электрофоретическая подвижность белка зависит от его суммарного заряда при данных значениях pH, ионной силы и т. д. Следовательно, она дает важную характеристику макромолекулы. Разработан ряд электрофоретических методов для анализа белков и их смесей. В методе движущейся границы, или фронтального электрофореза, определяется скорость перемещения в электрическом поле резкой границы между раствором исследуемого вещества и растворителем. Для препаративного разделения смесей более удобен метод зонального электрофореза, в котором раствор исследуемого вещества помещают вначале в виде узкого слоя между двумя слоями растворителя. За достаточно большой промежуток времени вещества с различной подвижностью расходятся на значительное расстояние, их зоны перестают перекрываться и продукты разделения могут быть

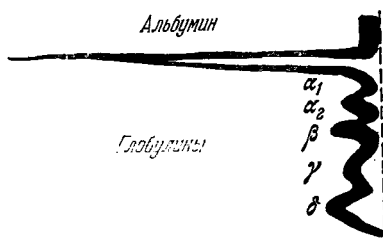


Рис. 3.21. Электрофореграмма белков сыворотки крови человека.

извлечены из раствора. Очевидно, что разделению препятствует конвекционное перемещение зон. Конвекцию сводят к минимуму, вводя поддерживающую пористую среду — гели, бумагу и т. д. По-видимому, наилучшим способом стабилизации системы является применение градиента плотности (ср. стр. 153). Электрофорез в этом случае проводится в вертикальной трубке, в которой содержится буферный раствор с плотностью, возрастающей с глубиной, т. е. с градиентом плотности.

Как и при диффузии и седиментации, регистрация электрофоретической картины производится с помощью оптических методов. Получаемая электрофореграмма содержит ряд пиков, отвечающих различным компонентам смеси. На рис. 3.21 показана электрофореграмма белков сыворотки крови человека [77].

Описание методов электрофореза, их теории и результатов их применения к белкам содержится в ряде книг и статей (см., в частности, [83—86]).

Литература

1. Г. Штаудингер, Высокомолекулярные органические соединения, ОНТИ, 1935.
2. М. В. Волькенштейн, Конфигурационная статистика полимерных цепей, изд-во АН СССР, 1959.
3. Т. М. Бириштейн, О. Б. Птицын, Конформации макромолекул, «Наука», 1964.
4. L. Pedersen, K. Morokuma, J. Chem. Phys. **46**, 3941 (1967).
5. П. Флори, Статистическая механика цепных молекул, «Мир», 1971.
6. T. Hill, J. Chem. Phys. **16**, 399, 938 (1948).
7. L. Bartell, J. Chem. Phys. **32**, 827 (1960).
8. А. И. Китайгородский, ДАН СССР **124**, 1267 (1959); **137**, 116 (1961); Tetrahedron **9**, 183 (1960); Acta Crystall. **18**, 585 (1965); Молекулярные кристаллы, «Наука», 1971.
9. А. И. Китайгородский, К. В. Мирская, Кристаллография **6**, 507 (1961).
10. G. Ramachandran, V. Sasisekharan, Adv. Protein Chem. **23**, 283 (1968).
11. М. В. Волькенштейн, Изв. АН СССР, сер. физ. **14**, 466 (1950).
12. К. В. Ф. Кольрауш, Спектры комбинационного рассеяния, ИЛ, 1952.
13. С. Мидзусима, Строение молекул и внутреннее вращение, ИЛ, 1958.
14. Н. П. Борисова, М. В. Волькенштейн, Ж. структ. хим. **2**, 469 (1961).
15. Н. П. Борисова, Т. М. Бириштейн, Высокомол. соед. **5**, 279 (1963).
16. Н. П. Борисова, Высокомол. соед. в сб. «Карбоцепные соединения», 1963, стр. 74.
17. В. Г. Дашевский, Конформации органических молекул, «Химия», 1974.
18. Е. М. Попов и др., Мол. бюл. **2**, 612 (1968).
19. Э. Илшел, Стереохимия соединений углерода, «Мир», 1965.
20. Э. Илшел, Н. Аллинджер, С. Энжиал, Г. Моррисон, Конформационный анализ, «Мир», 1969.
21. С. Чандрасекар, Стохастические проблемы в физике и астрономии, ИЛ, 1947.
22. S. Oka, Proc. Phys. Math. Soc. Japan **24**, 657 (1942).
23. С. Е. Бреслер, Я. И. Френкель, ЖЭТФ **9**, 1094 (1939).
24. Я. И. Френкель, Кинетическая теория жидкостей. Собрание избранных трудов, т. 3, Изд-во АН СССР, 1959.
25. М. В. Волькенштейн, ДАН СССР **78**, 879 (1951); Ж. физ. хим. **26**, 1072 (1952).