

§ 5.2. РЕНТГЕНОГРАФИЯ ФИБРИЛЛЯРНЫХ СТРУКТУР

В ряде случаев биополимеры образуют структуры, упорядоченные, т. е. периодические, в одном измерении. Сюда относятся фибриллярные белки (например, коллаген, см. стр. 255), ДНК. Рентгенограммы таких структур характеризуются специфическими особенностями.

Если периодичность биополимера определяется вектором c , то анало-

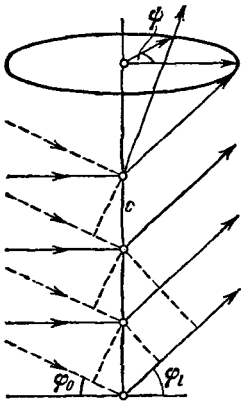


Рис. 5.7. К образованию рентгенограммы от фибриллярной структуры.



Рис. 5.8. Рентгенограмма текстуры натриевой соли ДНК в кристаллической форме А.

гично (5,15) структурная амплитуда $F(s)$ записывается в виде

$$F(s) = F(X, Y, l/c), \quad (5,20)$$

где X, Y — координаты в обратном пространстве, l — единственный миллеровский индекс. Иными словами, структурная амплитуда отлична от нуля только на «слоевых» плоскостях обратного пространства, для которых $Z = l/c$. Мы имеем дело с одномерной решеткой и получаем

$$F(s) = F(X, Y, l/c) = \sum_j f_j \exp[i(x_j X + y_j Y + z_j l/c)]. \quad (5,21)$$

Построение с помощью сферы Эвальда, приведенное на рис. 5.7, показывает, что на рентгенограмме получаются слое-

вые линии. Их положения удовлетворяют условию Брэгга — Вульфа для одномерной структуры

$$l\lambda = c (\sin \varphi_1 - \sin \varphi_0). \quad (5,22)$$

На рис. 5.8 приведена рентгенограмма натриевой соли ДНК в так называемой А-форме (см. стр. 489). Слоевые линии отчетливо видны на снимке. Конечно, это рентгенограмма не отдельной молекулы Na-ДНК, но осевой текстуры соли. *Осевой текстурой* называется одномерно упорядоченная система, в которой одни оси молекул приблизительно параллельны одному выделенному направлению, а другие оси ориентированы произвольно. Текстура характеризуется наличием одной оси симметрии бесконечного порядка.

Одномерные периодические системы представляют частный случай упорядоченных трехмерных систем — кристаллов. Установление распределения электронной плотности по распределению интенсивностей в дифракционной картине по-прежнему производится путем синтеза Фурье. Подробное изложение теории содержится в монографии Вайнштейна [9]. Здесь мы ограничимся лишь краткими сведениями.

Для одномерных систем удобно при расчетах пользоваться не декартовыми, а цилиндрическими координатами — радиусом r , полярным углом ψ и высотой z :

$$x = r \cos \psi, \quad y = r \sin \psi, \quad z = z,$$

и в обратном пространстве

$$X = R \cos \Psi, \quad Y = R \sin \Psi, \quad Z = Z.$$

Интеграл Фурье (5,10) приобретает в этих координатах вид $F(R, \Psi, Z) =$

$$= \int_0^{\infty} \int_0^{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \rho(r, \psi, z) \exp \{2\pi i [Rr \cos(\psi - \Psi) + zZ]\} r dr d\psi dz \quad (5,23)$$

и его фурье-образ — вид

$$\rho(r, \psi, z) = \int_0^{\infty} \int_0^{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} F(R, \Psi, Z) \exp \{-2\pi i [Rr \cos(\psi - \Psi) + zZ]\} R dR d\Psi dZ. \quad (5,24)$$

Для одномерных периодических структур (цепочечных молекул) зависимость ρ от r и ψ можно выделить. Двумерное распределение плотности в плоскости, перпендикулярной Z , вычисляется, как показывает теория, с помощью функций Бесселя.

Важнейшие модельные задачи (сплошной цилиндр, полые цилиндры со стенками конечной и бесконечно малой толщины, столбчатые структуры) подробно исследованы в [9].

При наличии периодичности вдоль оси z интеграл (5,23) приобретает вид

$$F_l(R, \Psi, l/c) = \int_0^\infty \int_0^{2\pi} \int_0^c \rho(r, \psi, z) \exp\{2\pi i [Rr \cos(\psi - \Psi) + zl/c]\} r dr d\psi dz. \quad (5,25)$$

Здесь ρ — распределение плотности в элементарной повторяющейся группе. Интегрирование по z производится от 0 до c , т. е. в пределах одного периода. F_l отлично от нуля лишь на слоевых линиях, отвечающих условию $Z = l/c$.

В физике биополимеров особую роль играют спиральные структуры. Уравнение непрерывной спиральной линии радиуса r_0 с шагом спирали C имеет в цилиндрических координатах вид

$$r = r_0, \quad \psi = 2\pi z/C. \quad (5,26)$$

В простейшей модели можно принять плотность вдоль спирали равной единице, т. е. положить

$$\rho(r, \psi, z) = \delta(r - r_0) \delta(\psi - 2\pi z/C)$$

(δ — символ δ -функции). Тогда интеграл (5,25) принимает вид

$$F_l(R, \Psi, l/C) = \int_0^\infty \int_0^{2\pi} \int_0^C \exp\{2\pi i [Rr_0 \cos(2\pi z/C - \Psi) + lz/C]\} r dr d\psi dz. \quad (5,27)$$

Вычисление дает

$$F_{l=n}(R, \Psi, l/C) = 2\pi r_0 I_n(2\pi R r_0) \exp[in(\Psi + 1/2\pi)], \quad (5,28)$$

где I_n — функция Бесселя n -го порядка. Модуль этого выражения имеет цилиндрическую симметрию. Функция распределения интенсивности $|F|^2$ на слоевой линии номера $|l| = n$ пропорциональна квадрату функции Бесселя n -го порядка. Радиус R_1 первого максимума I_n возрастает с увеличением n , и поэтому распределение интенсивности имеет крестообразную форму (см. рис. 5.8). Происхождение такого креста легко понять, рассмотрев, как расположены густо заселенные ряды атомов в спирали. Наибольшие значения интенсивностей рассеянного излучения ориентированы в обратном пространстве вдоль перпендикуляров к этим рядам (рис. 5.9). Наличие креста на рентгенограмме непосредственно свидетельствует о спиральном строении исследуемого биополимера. Именно такого рода

снимки и привели к открытию двуспирального строения ДНК, сыгравшему столь важную роль в развитии современной биологии и биофизики [34, 271].

Не следует думать, что простое обозрение рентгенограммы приводит к решению задачи. Исследуемый объект представляет собой агрегат цепных молекул, обладающий в целом несравненно меньшей упорядоченностью, чем трехмерный кристалл.

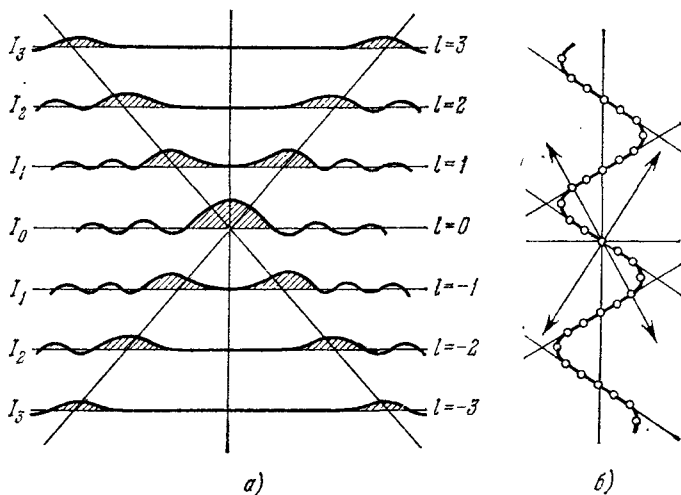


Рис. 5.9. Графики бесселевых функций I_l .

а) Бесселевы функции I_l , определяющие значения интенсивности по слоевым линиям при разных $|l|$; *б)* схема, иллюстрирующая соответствие крестообразного расположения главных максимумов интенсивности по слоевым линиям и креста нормалей к плотным рядам атомов.

Соответственно дифракционная картина оказывается бедной рефлексами. Разработан ряд приемов для расшифровки такой картины. Применяется метод «проб и ошибок»: на основании структурно-физических представлений и анализа атомных моделей вводится пробная модель системы, для которой и вычисляется распределение интенсивностей. Его совпадение с наблюдаемым доказывает истинность модели. Если совпадение хорошее, можно вычислить фазы и провести синтез Фурье электронной плотности изучаемого объекта. Для фибриллярных структур оказывается удобным пользоваться цилиндрическими симметричными функциями Паттерсона (см. [9]).

В агрегатах цепных молекул фигурируют самые разные степени упорядоченности, начиная с истинного кристалла, обладающего аксиальной текстурой, и кончая аморфным полимером, в котором цепные молекулы разупорядочены. Строгая теория

позволяет судить на основании дифракционной картины о тех или иных нарушениях порядка, вызываемых сдвигами, изгибами и отклонениями от параллельной упаковки макромолекулярных цепей. Полимерные структуры в ряде случаев образуют *паракристаллы* — системы, лишенные истинного трехмерного порядка, но состоящие из цепных молекул, сдвинутых и повернутых параллельно друг другу. В свою очередь паракристалл может быть идеальным и неидеальным. В последнем случае координационное число сохраняется, но имеются нарушения указанной параллельной упаковки цепей. Для ряда фибриллярных

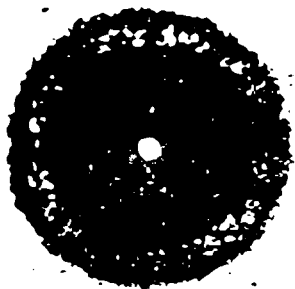


Рис. 5.10. Дебаеграмма кальцинированного коллагена.

белков (α - и β -кератин, коллаген), целлюлозы и некоторых других волокнистых веществ характерны нарушения упорядоченности с сохранением примерной параллельности ориентаций осей молекул. Особенно детально изучалась целлюлоза. Работы, в которых на основании качественных соображений, не связанных с точными расчетами, предполагалось ее аморфное строение, оказались ошибочными. Китайгородский и Цванкин провели строгое исследование рентгенограмм целлюлозы и показали, что этот природный полимер имеет чаще всего паракристаллическое строение, причем

размеры упорядоченных областей в нем ограничены (порядка 100 Å) [35]. Некоторые производные целлюлозы образуют истинные монокристаллы.

Многообразие молекулярных и надмолекулярных биополимерных структур весьма значительно. Их изучение очень существенно для биофизики.

Синтетические аморфные полимеры (прежде всего каучуки) дают дифракционные картины в виде совокупности концентрических колец (диаграммы Дебая — Шерера, рис. 5.10). Для такой картины, несравненно более бедной, чем лауэграмма кристалла, характерно наличие размытого кольца — аморфного гало, диаметр которого определяется преимущественными расстояниями между рассеивающими центрами объекта. При растяжении аморфного полимера возникает текстура и вместо равномерных по интенсивности колец наблюдаются более или менее протяженные дуги вблизи меридиана или экватора кольца. Сходные картины дают такие фибриллярные белки, как кератин, миозин, фибриноген и другие белки, изученные Астбюри [36] (см. стр. 258).

Дальнейшие перспективы рентгеноструктурного анализа биологически функциональных веществ связаны с двумя направлениями исследований. Это, во-первых, усовершенствование методов прямого определения фаз по сильным рефлексам. При этом удается обходиться без изоморфного замещения. Во-вторых, возможности изоморфного замещения далеко не исчерпаны, и этот метод подлежит дальнейшей разработке. В частности, представляется перспективным применение не полностью изоморфных производных.

Наряду с изучением биологических макромолекул для развития биофизики необходимы структурные исследования надмолекулярных биологических систем в нативном состоянии, например мембран, мышечных волокон и т. д. Перспективы этих исследований определяются развитием скоростной рентгенографии, т. е. созданием мощных источников рентгеновского излучения с мало расходящимися пучками лучей. По-видимому, здесь может оказаться эффективным синхротронное, магнитнотормозное излучение, возникающее при центростремительном ускорении электронов в магнитном поле. В отличие от обычного рентгеновского излучения, синхротронное излучение характеризуется большой мощностью, малой расходимостью пучка, но высокой степенью поляризации (см. [37]).

§ 5.3. РАССЕЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ МАКРОМОЛЕКУЛАМИ В РАСТВОРЕ

Дискретное рассеяние рентгеновских лучей под малыми углами есть частный случай дифракции на кристаллах — малый угол, под которым наблюдаются интерференции, соответствует периодам решетки, значительно большому длине волны.

Диффузное рассеяние под малыми углами позволяет изучать макромолекулы в растворе. При этом наблюдается суммарное рассеяние на беспорядочно расположенных отдельных макромолекулах, т. е. происходит усреднение интенсивности рассеянного излучения по их всевозможным ориентациям. Фазы рассеяния при таком усреднении смешиваются, и поэтому можно построить лишь функцию, аналогичную функции Паттерсона. Эта функция, однако, позволяет охарактеризовать форму и размеры рассеивающего объекта. Ситуация здесь подобна той, с которой мы имеем дело при изучении рассеяния света растворами макромолекул (см. стр. 159 и далее). Получение такой ограниченной информации много проще, чем при рентгеноструктурном анализе кристаллов.

Непосредственно определяется лишь радиус инерции распределения электронной плотности молекулы и (при измерении интенсивности в абсолютной шкале) молекулярный вес. Радиус