

в протонных растворителях вследствие изменения взаимного расположения спектров флуоресценции и наведенного S—S поглощения [5].

Таким образом, результаты настоящей работы полностью согласуются с теорией [1—4], согласно которой процессы ориентационного релаксационного характера отчетливо проявляются в спектрально-люминесцентных и генерационных характеристиках красителей, и их необходимо учитывать при обсуждении данных, относящихся как к спонтанному, так и к стимулированному излучению растворов красителя. Наибольшей эффективностью генерации обладают растворы кумарина 1 в полярных растворителях, в которых ориентационная межмолекулярная релаксация приводит к благоприятному для генерации расположению энергетических уровней молекул красителя и к снижению порога генерации по сравнению с порогом в неполярных растворителях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Непорент Б. С., Бахшиев Н. Г., Мазуренко Ю. Т. // Элементарные фотопроцессы в молекулах. М.; Л., 1966. С. 80—111. [2] Бахшиев Н. Г. Спектроскопия межмолекулярных взаимодействий. Л., 1972. [3] Бахшиев Н. Г. // Опт. и спектр. 1972. 32, № 6. С. 1151—1158. [4] Студенов В. И., Бахшиев Н. Г. Опт. и спектр. 1974. 36, № 2. С. 392—397. [5] Крашаков С. А. и др. Журн. прикл. спектр. 1984. 40, № 1. С. 52—58. [6] Аристов А. В., Викторова Е. Н., Козловский Д. А., Кузин В. А. // Опт. и спектр. 1970. 28, № 3. С. 546—549.

Поступила в редакцию
24.12.85

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 3, ФИЗИКА. АСТРОНОМИЯ. 1987. Т. 28, № 2

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИКА

УДК 532.782;532:541.64;532:577.11

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА С ВОДОЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ ВОДОРОДНЫХ ИОНОВ ПО ДАННЫМ РЭЛЕЕВСКОГО РАССЕЯНИЯ

Г. П. Петрова, Ю. М. Петрусевич, И. И. Ширкова, О. П. Ревокатов

(кафедра молекулярной физики и физических измерений)

Белки, важная составная часть живых организмов, часто присутствуют в них в виде водных растворов. В связи с этим актуальной проблемой молекулярной физики является исследование физических свойств водных растворов белков. В частности, важно знать такие параметры белковых макромолекул в растворах, как размер, форма, масса, поверхностный заряд, характер их межмолекулярного взаимодействия. Суммарный поверхностный заряд макромолекулы белка может достигать очень больших величин, с чем связано аномально высокое значение ее дипольного момента.

Перечисленные параметры определяют динамику белковых макромолекул в растворах и могут использоваться для расчета ряда динамических характеристик, таких как различные времена корреляции и параметры переноса, измеряемые разными физическими методами.

Прямым и достаточно эффективным методом измерения указанных выше статических параметров молекул служит метод рэлеевского рассеяния света [1—3]. Результаты немногочисленных исследований

растворов белков методами светорассеяния, приводимые в литературе [1, 3—5], оказываются весьма неоднозначными. Кроме того, несомненный интерес представляет изучение поляризационных свойств макромолекул белков в водных растворах, поскольку изменения тензора электронной поляризуемости молекулы белка связаны с непосредственным взаимодействием ее поверхностных групп с молекулами окружающей воды.

В связи с этим в данной работе была поставлена задача — с помощью метода рэлеевского рассеяния света изучить влияние величины суммарного поверхностного заряда белковой молекулы на характер межмолекулярного взаимодействия и поляризационные свойства макромолекул в водных растворах при различных концентрациях белка.

Известно [1,2], что для случая малых по сравнению с длиной волны молекул коэффициент рассеяния $R_{90^\circ} = cHMK$, где M — молекулярный вес растворенного вещества, c — его концентрация, $H = 2\pi^2 n_0^2 (dn/dc)^2 / (\lambda_0^2 N_A)$, n_0 — показатель преломления растворителя, λ_0 — длина волны падающего света в вакууме, dn/dc — инкремент показателя преломления раствора, N_A — число Авогадро, коэффициент K учитывает вклад в рассеяние, обусловленный анизотропией молекул и определяемый коэффициентом деполяризации Δ_v , $K = (3 + 3\Delta_v) / (3 - 4\Delta_v)$.

Для неидеальных растворов при условии, что осмотическое давление можно представить в виде вириального разложения по степеням концентрации, из соотношения $cHK/R_{90^\circ} = 1/M + 2cB + \dots$ можно получить величину молекулярного веса и второго вириального коэффициента раствора B . Второй вириальный коэффициент связан с величиной исключенного объема V_0 (т. е. того объема, из которого данная молекула вытесняет все другие): $B = V_0 N_A / 2M^2$. В растворах макромолекулы белков являются заряженными, поэтому вириальное разложение применимо в случае сильно разбавленных растворов, когда дебаевский радиус экранирования D много больше среднего расстояния между макроионами d . В таком растворе исключенный объем будет больше за счет сил отталкивания между исключительно заряженными молекулами и величина второго вириального коэффициента B будет больше, чем в растворе нейтральных молекул такой же концентрации.

Для определенных задач представляет интерес исследование растворов белков с минимальным количеством фаз (например, при отсутствии в растворе солей). В данной работе изучались растворы сыровоточного альбумина (фирмы «Serva») в воде при концентрациях белка 0,1%; 0,33% и 1% (для выполнения условия $D \gg d$) и низких значениях ионной силы (от 0,0001 до 0,0005 моль/л). Для приготовления образцов использовалась обеспыленная дистиллированная вода. Содержание свободных ионов водорода или гидроксидов в растворе изменялось с помощью добавления малых количеств HCl или KOH. Величина pH раствора измерялась на pH-метре (с точностью до 0,025) и изменялась в диапазоне от 2,00 до 10,00.

Для изучения рассеивающих свойств макромолекул альбумина в растворах была применена оптическая установка с He—Ne-лазером ($\lambda_0 = 632$ нм) в качестве источника света и фотоэлектрической регистрации рассеянного излучения. Аналогичная установка описана в работе [6]. Для постоянного контроля за интенсивностью возбуждающего излучения использовалась часть начального пучка, отраженная от стеклянной пластинки за выходным зеркалом лазера и попадаю-

шая на фотодиод, соединенный с цифровым вольтметром. Показания вольтметра использовались для нормировки измеренной интенсивности рассеянного света. Для повышения чувствительности при измерении интенсивности рассеянного излучения (отношения сигнал/шум) падающий пучок (луч лазера с вертикальным направлением колебаний электрического вектора) модулировался механическим прерывателем со звуковой частотой (~ 80 Гц). На эту же частоту был настроен резонансный усилитель У2-6, соединенный с регистрирующей системой (ФЭУ-79).

Интенсивность рассеянного излучения измерялась при двух взаимно перпендикулярных поляризациях пучка (параллельной I_{vh} и перпендикулярной I_{vv} плоскости поляризации возбуждающего света), что позволяло также одновременно определять величину коэффициента деполаризации $\Delta_v = I_{vh}/I_{vv}$.

Для определения молекулярного веса и второго вириального коэффициента были измерены относительные интенсивности рассеянного света I_{90° при различных значениях рН для указанных концентраций, при этом учитывалось значение I_{90° для чистой воды. Коэффициент рассеяния R_{90° в исследуемых образцах определялся с помощью калибровки по эталонной жидкости — бензолу ($R_{90^\circ}^{(6)} = 12,64 \cdot 10^{-6}$ см $^{-1}$ для $\lambda = 632$ нм [2]) с учетом поправки на разность показателей преломления бензол—вода. Среднеквадратичная ошибка при этом составляла $\delta[R_{90^\circ}] \simeq 6\%$. Инкремент показателя преломления образцов (dn/dc) определялся с точностью $\sim 2\%$. При этом погрешность измерения Δn с помощью интерферометра (ИТР-2) составляла $5 \cdot 10^{-6}$.

Из концентрационной зависимости величин sHK/R_{90° при различных рН (от 2 до 10) был определен молекулярный вес альбумина, равный 72000 ± 8000 г/моль ($\delta M \simeq 10\%$) и одинаковый для всех рН. Значения VM^2 , определенные с точностью $\sim 15\%$, в зависимости от рН показаны на рис. 1.

Параболический вид зависимости B от рН (или от величины суммарного поверхностного заряда на молекуле) может быть качественно описан формулой вида [3, 4]

$$B = \frac{1}{2M^2} \left\{ \frac{\partial(\ln \gamma)}{\partial m} + \frac{Z^2}{2\mu} \right\},$$

где Z — суммарный электрический заряд на поверхности макромолекулы, μ — величина ионной силы, γ — активность, m — моляльность белка. Как можно видеть, минимум кривой $VM^2 = f(\text{pH})$ на рис. 1 соответствует изоэлектрической точке альбумина (рН 4,7).

Значения параметра VM^2 , полученные в нашей работе, близки по величине к данным, приведенным в [5]. Этот результат подтверждает, что параметр, характеризующий межмолекулярное взаимодействие, возрастает при изменении поверхностного потенциала белковой макромолекулы.

Основной вклад в интенсивность рассеяния света в растворах макромолекул дает рассеяние на флуктуациях концентрации, которые, как показывают полученные результаты, резко возрастают при перезарядке молекул с изменением рН среды. При этом должны, очевидно, изменяться и поляризационные характеристики растворов, связанные с флуктуациями ориентации анизотропных молекул.

Известно, что анизотропная молекула может быть описана тензором поляризуемости (симметричным, второго ранга) с отличными

от нуля диагональными членами [1, 2]. Средняя поляризуемость молекулы

$$\alpha = \frac{1}{3}(\alpha_1 + \alpha_2 + \alpha_3) = \frac{n_0 M}{2\pi N_A} (dn/dc),$$

где $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$ — компоненты тензора поляризуемости.

Коэффициент деполаризации связан с характеристиками тензора поляризуемости соотношением $\Delta_v = \frac{(3/45)g^2}{\alpha^2 + (4/45)g^2}$, где $g^2 = \{(\alpha_1 - \alpha_2)^2 + (\alpha_2 - \alpha_3)^2 + (\alpha_3 - \alpha_1)^2\}/2$. За меру оптической анизотропии молекулы принимается величина

$$\delta^2 = \frac{(\alpha_1 - \alpha_2)^2 + (\alpha_2 - \alpha_3)^2 + (\alpha_3 - \alpha_1)^2}{(\alpha_1 + \alpha_2 + \alpha_3)^2}.$$

Были проведены измерения коэффициентов деполаризации при различных величинах pH, причем для каждого значения pH раствора альбумина данные экстраполировались к нулевой концентрации

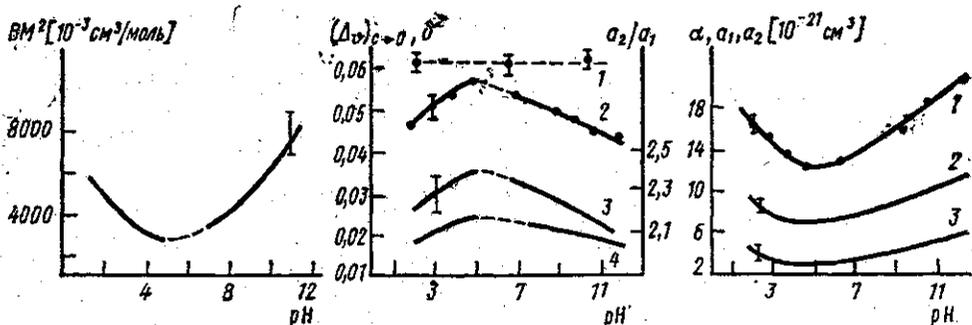


Рис. 1. Зависимость VM^2 от pH в водном растворе альбумина

Рис. 2. Зависимости коэффициента деполаризации Δ_v для чистой воды (1) и альбумина в водном растворе при $c \rightarrow 0$ (2), отношения компонент тензора поляризуемости a_2/a_1 (3) и оптической анизотропии молекулы альбумина δ^2 (4) от pH

Рис. 3. Зависимости эффективной электронной поляризуемости α (1) и компонент тензора поляризуемости a_2 (2) и a_1 (3) молекулы альбумина от pH в водном растворе

(рис. 2) (среднеквадратичная ошибка $\delta[\Delta_v] \sim 10\%$). Коэффициент деполаризации чистой воды при тех же значениях pH, также показанный на рис. 2, хорошо согласуется с литературными данными [2]. Как можно видеть, Δ_v альбумина уменьшается с изменением pH относительно изоэлектрической точки.

Для молекулы альбумина, представляющей собой эллипсоид вращения [3], разумно предположить, что две компоненты тензора поляризуемости равны между собой ($a_1 = a_2 = a_1, a_3 = a_2$). В этом случае возможно рассчитать эффективные значения a_1, a_2 и их отношение a_2/a_1 , а также величины средней поляризуемости α и оптической анизотропии δ^2 (рис. 2 и 3).

Из полученных результатов следует, что средняя поляризуемость и оптическая анизотропия молекул альбумина существенно зависят от поверхностного заряда макромолекулы и имеют экстремум в изоэлектрической точке, в которой этот заряд равен нулю. Таким обра-

зом, обнаружено, что тензор электронной поляризуемости макромолекулы белка становится более симметричным при увеличении суммарного заряда на ее поверхности. Это, по-видимому, связано с тем, что при вариациях pH раствора изменяется характер взаимодействия поверхностных групп белка с молекулами окружающей воды.

Результаты исследований ЯМР-релаксации воды вблизи поверхности белка на тех же объектах и при тех же условиях [7] могут быть объяснены аналогичным образом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Цветков В. Н., Эскин В. Е., Френкель С. Я. Структура макромолекул в растворах. М., 1964. [2] Фабелинский И. Л. Молекулярное рассеяние света. М., 1965. [3] Тенфорд Ч. Физическая химия полимеров. М., 1965. [4] Edsall J. T., Edelhoch H., Lontie R., Morrison P. R. // J. Am. Chem. Soc. 1950. 72. P. 4641—4646. [5] Eisenberg H. Multicomponent solution of biological macromolecules. Oxford. 1974. [6] Петрова Г. П., Соломатин В. С., Шелковников Н. К. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 3, Физ. Астроном. 1983. 24, № 6. С. 53—56. [7] Вострикова Н. Г., Денисов В. П., Петрусевич Ю. М., Ревокатов О. П. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 3, Физ. Астроном. 1986, 27, № 5. С. 76—78.

Поступила в редакцию
29.12.85
После переработки —
11.09.86

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 3, ФИЗИКА. АСТРОНОМИЯ. 1987. Т. 28, № 2

ФИЗИКА ТВЕРДОГО ТЕЛА

УДК 539.211

РОЛЬ СТРУКТУРНЫХ ДЕФЕКТОВ И ПРИМЕСЕЙ В РЕКОНСТРУКЦИИ ПОВЕРХНОСТИ КРЕМНИЯ (100)

В. В. Бурмистров, Е. М. Дубинина, С. С. Еловиков, В. П. Иванников

(кафедра электроники)

Многочисленные эксперименты по дифракции медленных электронов (ДМЭ) показали, что структура поверхности кремния (100) наблюдается реконструированной в виде двухдоменных (2×1) или $c(4 \times 2)$ структур [1—3]. В ряде работ были представлены модели, в которых перестройка структуры реализуется либо путем различных смещений атомов [1, 4—9], либо путем образования поверхностных вакансий [2, 3, 10, 11].

Общий вывод при анализе многочисленных работ, в том числе недавних [12, 13], рассматривающих (100) грань кремния, состоит в следующем: во всех случаях результаты расчетов качественно согласуются с экспериментом, но окончательно им не подтверждаются; всеобъемлющей модели, описывающей реконструкцию, не существует. Кроме того, все упомянутые выше модели имели дело с чистой, т. е. идеальной, поверхностью кристалла, что в эксперименте никогда не реализуется.

В настоящей работе для анализа (2×1) структуры и впервые зафиксированных нами на поверхности Si (100) сверхструктур $p(2 \times 2)$, $c(4 \times 4)$ и (4×1) наряду с ДМЭ-методикой применялась электронная оже-спектроскопия. В приближении валентных связей построена модель взаимного перехода указанных элементарных ячеек друг в друга. Решающая роль в рамках предлагаемой модели отводится примесям и структурным дефектам.