

УДК 577.31+577.171.53

ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ И ПЛЕНКИ ИЗ АМФИФИЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ. СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЯ

М. В. Фок

Показано, что постоянное электрическое поле может вызвать на большом участке мономолекулярного слоя амфифильных молекул изотермический фазовый переход между состояниями двумерной жидкости и двумерного кристалла. Переход начинается с коллективного поворота дипольных головок на всем этом участке под действием поля. Вероятность поворота резко зависит от размеров участка, на котором он может происходить независимо от состояния соседних участков. Она тем меньше, чем больше размеры участка. В цитоплазматических мембранах участки небольшие и переход в новое состояние происходит почти сразу после изменения поля, а в искусственных пленках они гораздо больше и после изменения поля фазовый переход может задержаться на много часов. В этом – наиболее важное различие между ними и цитоплазматическими мембранами.

Цитоплазматическая мембрана (оболочка клетки) – это, как известно, тонкая пленка, состоящая из двух мономолекулярных слоев липидов, в которых молекулы ориентированы так, что их углеводородные хвосты обращены внутрь пленки, а дипольные головки – наружу, в сторону водной среды. От двухслойной ленгмюровской пленки она отличается лишь тем, что в нее встроены молекулы белка. Участки между этими молекулами у них принципиально не различаются. Поэтому и свойства цитоплазматической мембраны должны быть во многом аналогичны свойствам ленгмюровских пленок.

Чтобы выяснить, в чем состоит это сходство, выделим мысленно такой участок цитоплазматической мембраны, который не содержит ни одной молекулы белка, и рассмотрим один из его мономолекулярных липидных слоев. Вообще говоря, дипольные

головки в нем могут находиться в одном из двух относительно устойчивых положений, каждое из которых соответствует некоторому минимуму их потенциальной энергии. Они могут быть или перпендикулярны плоскости слоя, (рис. 1б, в) или же сильно наклонены (но обязательно все в одну сторону) (рис. 1а). Находясь в перпендикулярном положении, головки взаимно отталкиваются, ибо одноименные заряды соседних головок находятся ближе друг к другу, чем разноименные. Пленка не распадается благодаря притяжению головок к диполям воды, а также из-за водородных связей между углеводородными хвостами молекул липидов. Минимум потенциальной энергии, соответствующий перпендикулярному положению головок, получается потому, что при их наклоне изгибаются ковалентные связи между ними и углеводородными хвостами молекул. Даже при небольшом наклоне заметно возрастает упругая энергия слоя, а электростатическая энергия вначале уменьшается мало. Однако, по мере увеличения наклона головок положительный заряд на наружном конце каждой головки все сильнее приближается к отрицательному заряду в основании одной из соседних головок, притяжение между ними возрастает и электростатическая энергия слоя начинает уменьшаться все сильнее и сильнее. Начиная с некоторого наклона, это уменьшение происходит быстрее увеличения упругой энергии слоя, так что суммарная энергия слоя начинает уменьшаться. При некотором угле наклона это уменьшение прекращается из-за начавшегося резкого увеличения упругой энергии, вызванного слишком тесным сближением головок друг с другом. При таком сближении между молекулами возникают силы отталкивания, которые обеспечивают малую сжимаемость конденсированной фазы. В результате получается второй минимум потенциальной энергии головок, соответствующий некоторому углу их наклона. При отсутствии внешнего поля он глубже первого (соответствующего выпрямленным головкам). Наибольшая глубина минимума получается при строго упорядоченном расположении молекул липидов, отвечающем наименьшему расстоянию между противоположными зарядами соседних головок. Поэтому в слое возникает дальний порядок в расположении молекул липидов, подобный тому, какой имеется в каждом мономолекулярном слое объемного кристалла. Слой липидов в таком состоянии мы будем называть двумерным кристаллом.

Такое состояние монослоя липидов существует до тех пор, пока тепловая флуктуация не повернет его дипольные головки в положение, перпендикулярное плоскости слоя. Но, поскольку молекулы липидов соприкасаются друг с другом, их дипольные головки на всем закристаллизовавшемся участке пленки могут повернуться лишь все одновременно. Поэтому высота потенциального барьера, который надо преодолеть при таком

повороте, пропорциональна числу молекул в закристаллизовавшемся участке. Это значит, что чем больше такой участок, тем реже дипольные головки переходят на нем из наклонного положения в перпендикулярное.

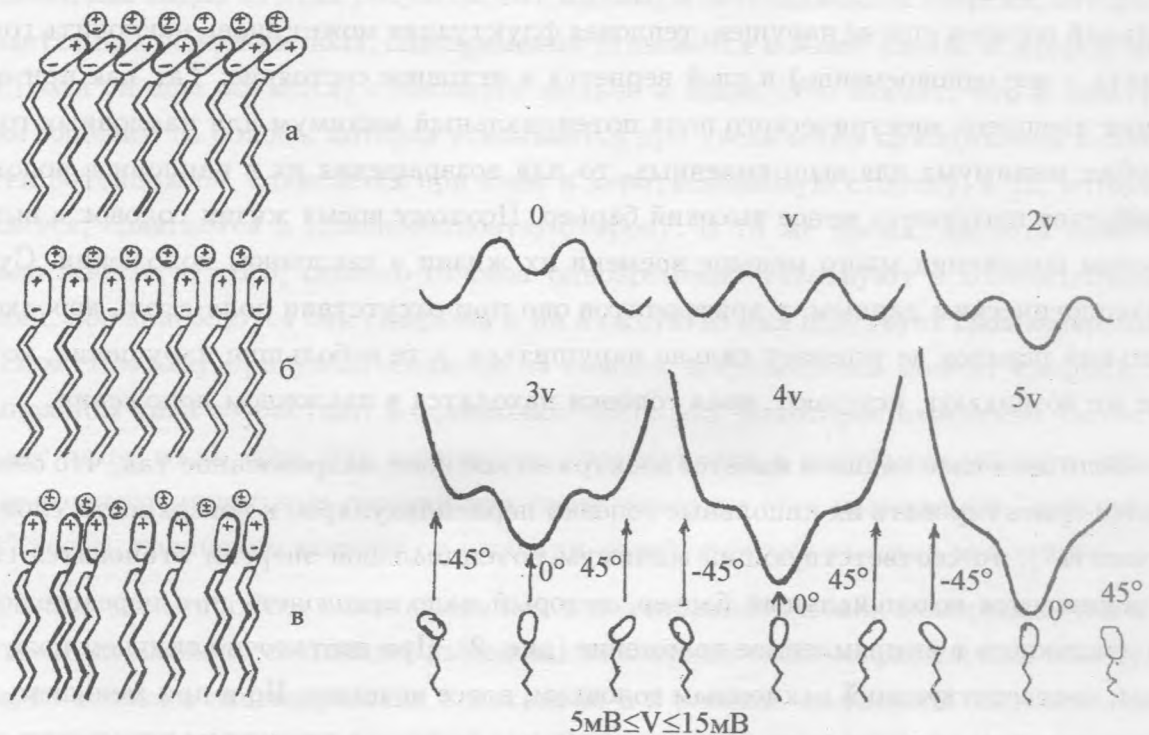


Рис. 1. Последовательные стадии перехода мономолекулярного слоя липидов из состояния двумерного кристалла в состояние двумерной жидкости. а) Дипольные головки наклонены, дальний порядок в расположении молекул имеется (двумерный кристалл); б) дипольные головки выпрямились, дальний порядок еще есть; в) дипольные головки выпрямлены, дальнего порядка уже нет (двумерная жидкость).

Рис. 2. Влияние внешнего электрического поля, стремящегося выпрямить дипольные головки, на зависимость потенциальной энергии монослоя от угла наклона головок. O – примерный вид потенциальной кривой при отсутствии внешнего поля; V – к слою приложена такая разность потенциалов, при которой минимумы для двух положений головок имеют одинаковую глубину; $2V...5V$ – потенциальные кривые для разностей потенциалов $2V...5V$. Кривые $V...5V$ получены из кривой O путем учета изменения энергии диполя при его повороте в электрическом поле.

Сам по себе такой поворот еще не нарушает упорядоченного расположения молекул в

слое. Оно нарушается несколько позже, когда тепловое движение разорвет достаточное количество водородных связей между их углеводородными хвостами. Лишь тогда молекулы начнут перемещаться в плоскости слоя друг относительно друга и двумерный кристалл перейдет в состояние двумерной жидкости, "расплавится" (рис. 1а). Но пока дальний порядок еще не нарушен, тепловая флуктуация может вновь наклонить головки (опять – все одновременно) и слой вернется в исходное состояние. Так как при отсутствии внешнего электрического поля потенциальный минимум для наклонных головок глубже минимума для выпрямленных, то для возвращения их в наклонное положение требуется преодолеть менее высокий барьер. Поэтому время жизни головок в выпрямленном положении много меньше времени их жизни в наклонном положении. Судя по физиологическим данным, у эритроцитов оно при отсутствии поля столь коротко, что дальний порядок не успевает сильно нарушиться, а те небольшие нарушения, которые все же возникают, исчезают, пока головки находятся в наклонном положении.

Если же в слое липидов имеется электрическое поле, направленное так, что оно стремится ориентировать их дипольные головки перпендикулярно к поверхности слоя ("выпрямить"), то соответствующий минимум потенциальной энергии становится глубже и понижается потенциальный барьер, который надо преодолеть при переводе головки из наклонного в выпрямленное положение (рис. 2). При достаточно сильном поле минимум, соответствующий наклонным головкам, вовсе исчезает. Но и при меньшем, но все же достаточно сильном поле, время пребывания головок в наклонном положении сильно уменьшается, хотя соответствующий минимум еще имеется. Поэтому монослой из двумерного кристалла превращается в двумерную жидкость. По существу, – это самый настоящий фазовый переход, но изотермический, ибо он управляется не температурой, а напряженностью электрического поля.

Заметим, что когда поле направлено в противоположную сторону, т.е. стремится наклонить головки, то при увеличении поля потенциальный минимум, соответствующий выпрямленному положению, хотя постепенно и становится мельче, но исчезает лишь при значительно более сильном поле, чем то, при котором исчезал минимум для наклонных головок, когда поле их выпрямляло. В то же время, когда поле наклоняет головки, то соответствующий этому положению минимум потенциальной энергии углубляется гораздо резче, чем углублялся минимум, соответствующий выпрямленным головкам, когда поле их выпрямляло (рис. 3). Поэтому, задолго до исчезновения минимума для выпрямленного положения, минимум, соответствующий наклонным головкам, становится столь глубоким, что тепловые флуктуации оказываются неспособными перевести

головки в выпрямленное положение.

Из рис. 2 и 3 видно также, что частота колебаний дипольных головок в монослое зависит от направления и величины приложенного к нему электрического поля. Действительно, как видно из этих рисунков, тот минимум потенциальной энергии, который углубляется при усилении поля, одновременно становится и более узким. А второй минимум (если он еще остается) становится мельче и шире. Это значит, что в спектре СВЧ поглощения та полоса, которая усиливается при увеличении приложенной к слою разности потенциалов, сдвигается при этом в коротковолновую сторону, а та, которая ослабляется, сдвигается в длинноволновую сторону. В то же время, частота колебаний мало зависит от того, сколько головок одновременно участвуют в колебательном движении, ибо колеблются они синфазно и на каждую из них действует своя возвращающая сила. Поэтому при увеличении числа головок и суммарный момент инерции, и возвращающая сила возрастают в одинаковое число раз. Некоторое изменение частоты возникает лишь из-за того, что количество участвующих в колебании молекул воды, которые толкают дипольные головки при своем повороте (так называемой "присоединенной" воды), нелинейно зависит от площади колеблющегося участка монослоя.

Все сказанное относится к монослоям как в цитоплазматических мембранах, так и в искусственных пленках, состоящих из мономолекулярных слоев амфифильных молекул, причем, не только в ленгмюровских пленках, но и в пленках на твердой подложке. Однако, искусственные пленки разнообразнее. Они могут быть и однослойными, и двух- или многослойными. Состоять они могут не только из липидов, но и из других амфифильных молекул (т.е. имеющих на одном конце гидрофильную дипольную головку, а на другом – гидрофобный участок). Молекулы в соседних монослоях могут быть ориентированы дипольными головками в одну и ту же или в противоположные стороны. Все это, конечно, отражается на их свойствах. А цитоплазматическая мембрана всегда двухслойная и дипольные головки в ее слоях направлены в противоположные стороны (к водной среде). Цитоплазма всех клеток (за исключением нервных во время прохождения импульса) заряжена отрицательно. Поэтому поле в мембране стремится еще сильнее наклонить головки на ее внешней стороне и выпрямить на внутренней. Там головки могут быть то в том, то в другом положении, в соответствии с напряженностью поля в мембране.

Конечно, и ленгмюровскую пленку тоже возможно сделать двухслойной, в которой, как и у цитоплазматической мембраны, дипольные головки находятся на внешней поверхности. Как видно, между искусственными пленками, особенно, ленгмюровскими, и

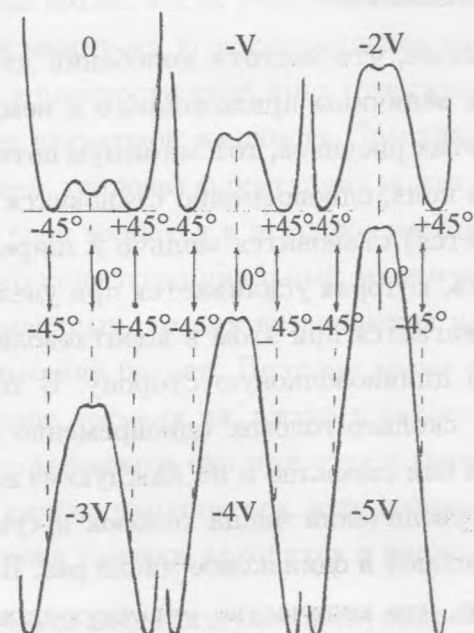


Рис. 3. Влияние внешнего поля, стремящегося наклонить дипольные головки, на зависимость потенциальной энергии монослоя от угла наклона головок. Обозначения как на рис. 2, но все кривые продолжены в область больших углов и масштаб по оси ординат уменьшен вдвое. Минус при V означает, что поле направлено в противоположную сторону.

цитоплазматическими мембранами имеется много общего.

Но с количественной стороны они сильно различаются. Дело в том, что цитоплазматические мембраны состоят из отдельных, сравнительно небольших блоков, в которых липидные монослои могут находиться в жидком или кристаллическом состоянии независимо от того, в каком состоянии находятся слои в соседних блоках. Каждый такой блок образуется вокруг встроенной в мембрану молекулы белка, служащей центром кристаллизации (когда головки наклонены). В противоположность этому, искусственные мембраны, как правило, не содержат чужеродных включений такого размера, как молекулы белка. Поэтому в свежеприготовленном монослое, пока он находится на поверхности воды, независимые блоки – огромного размера. Не исключено даже, что один блок занимает весь монослой. Сравнительно мелкие моноблоки могут получиться, если перенести пленку на подложку из мелкокристаллического материала. Тогда поле каждого микрокристаллика будет по-своему упорядочивать расположение находящихся на его поверхности молекул монослоя. Это упорядочивающее действие может простирается на много лежащих друг на друге монослоев. Так, из опытов с трехмерными кристаллами

известно, что упорядочивающее действие кристаллической подложки проявляется даже, если на ней лежит аморфный слой толщиной в 1000 Å. Толщина же монослоя ленгмюровской пленки раз в 10 меньше.

Пока монослой находится на поверхности воды, центрами кристаллизации в нем могут служить, разве что, пылинки, оседающие на него из воздуха. Сначала их практически нет, но с течением времени появляется все больше и больше, значит, блоки становятся все меньше и меньше. Пленка стареет. Это – не новость для тех, кто работает с ленгмюровскими пленками.

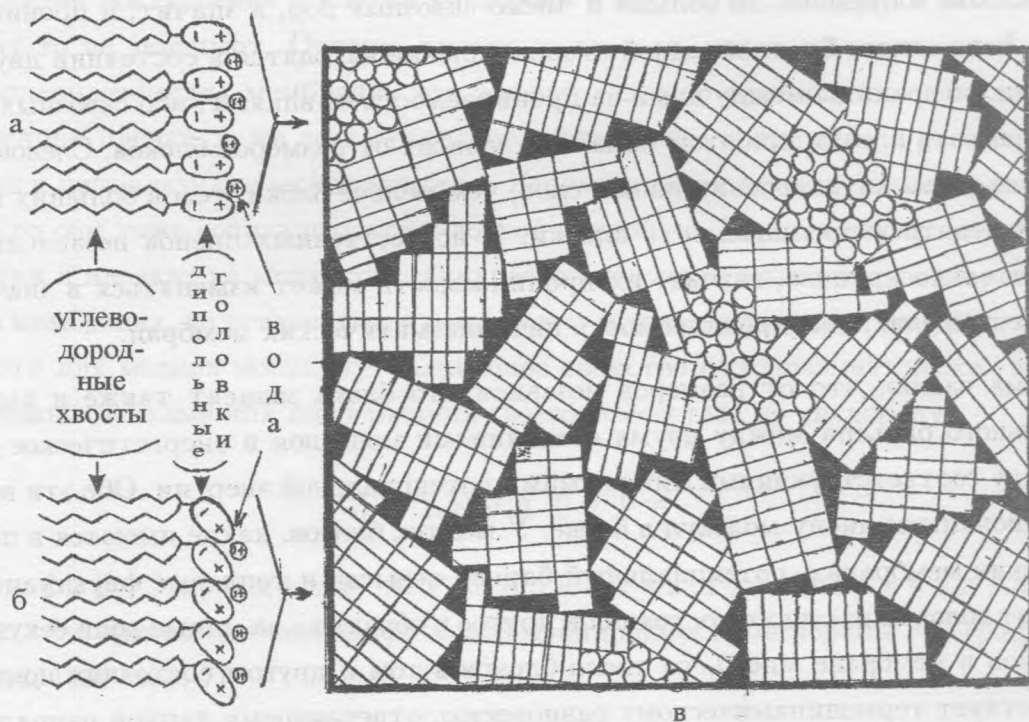


Рис. 4. Схематическое изображение монослоя. Группы прямоугольников – участки в состоянии двумерного кристалла, группы кружков – участки в состоянии двумерной жидкости. Зачернены сквозные поры на границах между кристаллическими участками, случайным образом ориентированными друг относительно друга. Они в десятки раз преувеличены по сравнению с размерами независимых участков.

Рассмотрим, какие свойства зависят от размеров независимых блоков в монослое. Когда эти блоки находятся в кристаллическом состоянии, то, поскольку они повернуты друг относительно друга случайным образом, на границах между ними, как и в

трехмерных кристаллах, имеются краевые дислокации. Области разрезания этих дислокаций образуют сквозные поры, по которым сквозь слой легко диффундируют атомы и мелкие молекулы (рис. 4). В трехмерных кристаллах краевые дислокации образуют каналы, пронизывающие многие тысячи монослоев, а в цитоплазматической мембране их всего два. Такие поры существуют пока в обоих соприкасающихся независимых блоках все монослои находятся в кристаллическом состоянии. Но стоит одному монослою в одном из блоков перейти в жидкое состояние, как вскоре тепловое движение молекул закрывает эти поры и проницаемость пленки уменьшается. Чем меньше размеры блоков, тем больше общая длина границ между ними. Поэтому, когда все они находятся в кристаллическом состоянии, то больше и число сквозных пор, а значит, и проницаемость пленки. Если же все блоки на одной стороне пленки находятся в состоянии двухмерной жидкости, то границы между ними на проницаемость не влияют, ибо сквозных пор нет. Проницаемость пленки при этом мала и не зависит от размеров блоков. Следовательно, при одном и том же изменении поля в слое, чем мельче блоки, тем в больших пределах может изменяться проницаемость пленки. У искусственных пленок независимые блоки значительно крупнее, значит, их проницаемость может изменяться в значительно меньших пределах, чем проницаемость цитоплазматических мембран.

Весьма важно, что от размеров независимого блока зависят также и высота потенциального барьера между двумя состояниями монослоя и энергетическое расстояние между соответствующими минимумами потенциальной энергии. Обе эти величины пропорциональны числу молекул в блоке. У мелких блоков, какие имеются в цитоплазматических мембранах, потенциальный барьер невысок и тепловые флуктуации часто переводят головки из одного состояния в другое и обратно – за малые доли секунды. Так как блоков в мембране много, то число блоков в том и другом состоянии почти точно соответствует термодинамическому равновесию, отвечающему данной напряженности поля в мембране. Поэтому и ее проницаемость почти всегда однозначно связана с напряженностью имеющегося в данный момент электрического поля. Гистерезис занимает не более нескольких десятых секунды.

Так как у искусственных пленок, даже нанесенных на мелкокристаллическую подложку, независимые блоки гораздо крупнее, то потенциальные барьеры, разделяющие два состояния монослоя, настолько высоки, что нет однозначной связи между его состоянием и напряженностью имеющегося в нем электрического поля. Как правило, независимые блоки переходят в состояние, соответствующее более глубокому потенциальному минимуму, через многие часы после изменения поля. Это приводит к невоспроизводимо-

сти свойств пленок. Например, если для каких-либо измерений на пленку накладывали несколько десятых вольта, ее свойства могли измениться и эти изменения будут долго сохраняться после выключения поля. В пленке на изолирующей подложке сильное поле может возникнуть и помимо воли экспериментатора – его могут создать заряды, локализовавшиеся на ней во время ее приготовления. Все это необходимо учитывать при работе с искусственными пленками.

Из сказанного следует, что и в искусственных пленках, и в цитоплазматических мембранах большую роль играют коллективные эффекты в ансамблях в большей или меньшей степени упорядоченных амфифильных молекул. Природа использует эти эффекты для регуляции поступления в клетки кислорода и других веществ [1], а исследователи их почему-то не замечают. Однако, именно из-за того, что в искусственных пленках и в цитоплазматических мембранах эти эффекты сильно различаются количественно, искусственные пленки, даже ленгмюровские, в настоящее время нельзя рассматривать, как аналоги цитоплазматических мембран. Ленгмюровские пленки ближе к мембранам, потому что они тоже соприкасаются с водной средой, но блоки в них непомерно велики. А блоки в пленках на мелкокристаллической подложке много ближе по размерам к блокам в мембранах, но неизвестно, каким путем можно исследовать изменения их проницаемости для мелких молекул – важнейшее свойство цитоплазматических мембран, используемое клетками для поддержания своего гомеостаза по кислороду.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Фок М. В., Зарицкий А. Р., Зарицкая Г. А., Переведенцева Е. В. Авторегуляция неспецифической проницаемости мембраны эритроцита. М., Наука, 1999 г., с. 77.

Поступила в редакцию 20 марта 2001 г.