

**ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА**

P14-87-88

**В.Ю.Беззаботнов, В.И.Горделий, Ю.М.Останевич,
Л.С.Ягужинский***

**НАБЛЮДЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ ДЕФЕКТОВ
В ЛЕЦИТИНОВЫХ МЕМБРАНАХ
С ПОМОЩЬЮ МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЙЯНИЯ
НЕЙТРОНОВ**

Направлено в журнал "Биофизика"

* Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Введение

В начале семидесятых годов усилиями ряда исследователей /1,2/ была сформулирована жидкостно-мозаичная модель биологических мембран. Согласно этой модели важнейшим структурным компонентом мембраны является "жидкий" бимолекулярный слой (липидный бислой), обладающий подвижной молекулярной структурой в плоскости мембраны. Взаимное расположение молекул липида в одном слое и существование и характер дефектов (нарушений пространственной структуры), однако, до сих пор остаются предметом экспериментальных исследований. В настоящее время встречаются два типа взглядов на дефекты в мембранах. Согласно одному из них в липидных мембранах существуют дефекты типа пор, пронизывающих "жидкую" мембрану /3,4/ и ответственных за проницаемость чистых фосфолипидных мембран для воды, ионов, других молекул. Другая группа исследователей, по-видимому, начиная с Мак-Фарленда, Мак-Коннела и Левина /5,6/, придерживаются более сложной модели, согласно которой молекулы липида образуют "домены", состоящие из плотно упакованных одинаково наклоненных (по отношению к ламеллярной плоскости) начальных участков (ближайших к полярным головкам липидов) углеводородных цепей, а роль дефектов играют переходные области, разделяющие соседние домены с различающимися осями смектического упорядочения. Аргументами в пользу этой точки зрения служат результаты ЭПР-экспериментов, выполненных с помощью спиновых меток (время жизни домена $> 10^{-8}$ с) /5/, и латеральная дифракция рентгеновских лучей, обнаруживающая диффузный рефлекс с $d = 4,6 \text{ \AA}$, характерный для жидких парафинов, образующих домены с параллельной укладкой цепей. Однако эксперименты по рентгеновской неламеллярной дифракции на мультислойных липидных структурах, предпринятые с целью определения размера домена, или хотя бы обнаружения дефектов в области размеров 30-80 \AA , до сих пор не давали положительных результатов /6/. В 1984 г. В.Г.Ивков /7,8/ предложил модель динамической кластерной (доменной) организации бислоя, которая позволила дать оценки размеров доменов и дефектов и стимулировала постановку описываемого ниже нейтронографического эксперимента.

Малоугловое диффузное рассеяние рентгеновских лучей или нейтронов является наиболее прямым методом наблюдения достаточно крупных неоднородностей /9/. Однако для данной задачи применение нейтронов является предпочтительным, так как позволяет существенно повысить контраст искомым дефектам и тем самым повысить чувствительность эксперимента.

При экстраполированной к нулевой длине вектора рассеяния

9 $4\pi \cdot \sin \theta / \lambda$ (θ - угол рассеяния, λ - длина волны излучения)

интенсивность излучения, рассеянная единицей объема излучаемого вещества, дается соотношением:

$$\bar{I}(q=0) = I_0 \cdot n \cdot (\rho - \rho_s)^2 V^2, \quad (I)$$

где I_0 - интенсивность падающего на образец излучения, n - число неоднородностей в единице объема, V - объем одной неоднородности, $\rho - \rho_s$ - разность плотностей амплитуд рассеяния в неоднородности и в среднем по образцу. Выражение (I) является достаточно хорошим приближением для $n \cdot V \ll 1$, т.е. тогда, когда концентрация неоднородностей достаточно низка. Поскольку амплитуда рассеяния (и ее плотность) существенно зависит от вида излучения (рентген, нейтроны), наблюдаемая интенсивность также очень сильно ($I \sim (\rho - \rho_s)^2$) отличается для двух видов излучения. Если принять, что дефекты в мембранах пусты или заполнены водой (в случае нейтронов контраст становится особенно большим при использовании тяжелой воды D_2O), то легко сравнить величину ожидаемого эффекта, пропорционального контрасту $(\rho - \rho_s)^2$ для ряда случаев (табл. I). Видно, что при поиске дефектов, заполненных водой, применение нейтронов дает примерно 30-кратный выигрыш в контрасте, что может иметь решающее значение при выполнении эксперимента.

Таблица I

Среда	Дефект	$(\rho - \rho_s)^2 \times 10^{-20} (\text{см}^{-4})$		Соотношение эффектов нейтроны/рентген
		нейтроны	рентген	
углеводородные цепи	D_2O	452	144	31,4
	пустота	0,116	67,0	$1,7 \cdot 10^{-3}$
полярные головки	D_2O	208	129	1,62
	пустота	324	169,0	$1,9 \cdot 10^{-2}$

2. Материалы и методы

Мультиламеллярная структура готовилась из хроматографически чистого лецитина (дипальмитоилфосфатидилхолина-ДРРС) по методике,

близкой к описанной в [10]. 10% раствор липида в этаноле, нанесенный на кварцевую подложку (24x24 мм), медленно испарялся при температуре $T = 70^\circ\text{C}$ (выше точки Крафта). Для получения высокоориентированных образцов применялась процедура медленного отжига [11]. Мозаичность мультиламеллярной структуры (ширина рокинг-распределения на половине высоты) составляла примерно 2° . Сухой вес липида в трех приготовленных образцах составлял (50 ± 3) мг.

Для контроля за содержанием воды в образце применялся герметичный кварцевый контейнер, на дне которого помещался насыщенный водный раствор соли K_2SO_4 [12], поддерживающий в объеме контейнера относительную влажность $\psi = 97\%$. Измерения на каждом образце велись при двух значениях относительной влажности: $\psi = 97\%$ (в парах D_2O) и $\psi = 0\%$ (в контейнер помещалась H_2O), и при двух температурах 23°C ("твердая" $L_{\beta'}$ -фаза) и 55°C ("жидкая" L_{α} -фаза). Контроль за фазовым состоянием образцов велся по положению дифракционного рефлекса от углеводородных цепей ($d = 4,2 \text{ \AA}$ в $L_{\beta'}$ -фаза и $d = 4,6 \text{ \AA}$ в L_{α} -фаза [13]). На установление равновесия при заданных ψ и T отводилось не менее 2 часов.

Нейтронные измерения проводились на времяпролетном спектрометре малоуглового рассеяния на импульсном реакторе ИБР-2 [14]. Пучок нейтронов, падающих на образец, коллимировался до диаметра 22 мм, поток тепловых нейтронов (интеграл по спектру) составлял $3,2 \cdot 10^7 \text{ см}^{-2} \text{ с}^{-1}$. Расстояние образец - детектор составляло 10,63 м, что позволило вести съемку в интервале длин векторов рассеяния $0,02 \leq q \leq 0,4 \text{ \AA}^{-1}$. Съемка каждого образца регулярно (\sim через 5 минут) чередовалась со съемкой стандартного рассеивателя, в качестве которого использовался металлический ванадий. Съемка одного образца продолжалась примерно 10 часов.

Обработка экспериментальных данных включала внесение поправок на мертвое время регистрирующей системы и нормировку на стандартный рассеиватель. Так как целью эксперимента было обнаружение дефектов, содержащих D_2O , из результатов съемки влажного образца ($\psi = 97\%$) вычитались результаты измерений "сухого" образца ($\psi = 0\%$). Тем самым обеспечивалось вычитание не только фона установки, но и интенсивности рассеяния нейтронов от пустой кюветы и "сухого" липида. Вся оставшаяся после вычитания интенсивность, таким образом, связана с внесением воды в мультиламеллярную структуру.

3. Результаты и обсуждение

На рис.1 представлена зависимость избыточной интенсивности $I(q)$ от q^2 для одного из образцов (№ 2), полученная при 23°C и 55°C (в "твердой" и "жидкой" фазах соответственно). В "твердой" фазе,

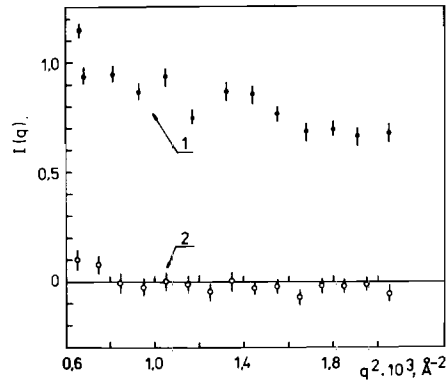


Рис.1. Избыточная интенсивность малоуглового рассеяния нейтронов (возникающая при увлажнении образца) в зависимости от q^2 ($q = (4\pi \cdot \sin \theta / \lambda) / 2$) (Образец № 2 - 8,7 мг/см² мультислойной структуры ДРРС). "1" - в L_α -фазе, "2" - в $L_{\beta'}$ -фазе. $I(q)$ - в относительных единицах.

в пределах точности измерений, избыточной интенсивности не возникает, что указывает на сохранение высокой степени упорядоченности (однородности) межмолекулярной упаковки липидов в плоскости мембраны при увлажнении образца. В "жидкой" L_α -фазе избыточная интенсивность хорошо наблюдаема. Аналогичные результаты получены и для двух других образцов. Наличие эффекта в $L_{\beta'}$ -фазе и его отсутствие в L_α -фазе говорит также в пользу того, что обнаруженные неоднородности принадлежат собственно бислою.

На рис.2 избыточная интенсивность представлена в т.н. гинье-координатах $1/q$. Видно, что в этом представлении экспериментальные данные хорошо описываются линейной зависимостью, что позволяет воспользоваться гинье-аппроксимацией для определения параметров, характеризующих наблюдаемые неоднородности. Для неоднородностей, расположенных в плоскости, после усреднения по ориентациям, гинье-аппроксимация имеет вид $1/q$:

$$I(q) = I(0) \cdot \exp(-q^2 R_g^2 / 2), \quad (2)$$

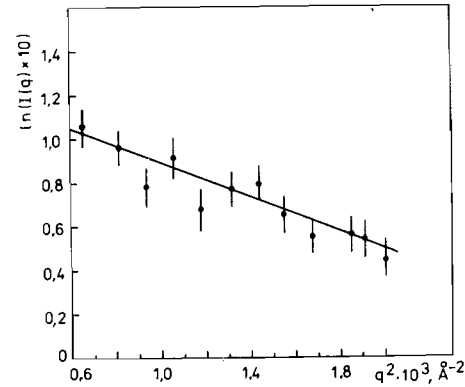


Рис.2. Избыточная интенсивность малоуглового рассеяния нейтронов в гинье-представлении. (Образец № 2, $\psi = 97\%$ D_2O , L_α -фаза).

где R_g - радиус инерции неоднородности относительно оси, проходящей через ее центр тяжести и перпендикулярной плоскости мембраны. Значения параметров $I(0)$ и R_g , найденные методом наименьших квадратов, приведены в табл.2. Сравнение между собой найденных зна-

Таблица 2

Образец	$I(0)$ (см ⁻¹) в абсолютных единицах	R_g (Å)	χ^2 на степе- нь свобо- ды
№ 1	$0,48 \pm 0,06$	$29,8 \pm 2,6$	1,1
№ 2	$0,34 \pm 0,09$	$29,7 \pm 6,9$	0,5
№ 3	$0,28 \pm 0,05$	$26,7 \pm 3,8$	0,8
среднее взве- шенное для трех образцов	$0,36 \pm 0,04$	29 ± 2	

чений для 3 образцов показывает хорошее (в пределах ошибок) согласие для радиусов инерции, но несколько худшее для интенсивностей. Последнее, вероятно, связано с погрешностью определения массы липидов в образцах.

Дальнейшее обсуждение результатов требует привлечения модельных представлений. Мы ограничиваемся двумя моделями - пористой мембраны и кластерной структуры с протяженными кольцевыми дефектами, расположенными вблизи поверхности мембраны (рис.3), и будем пользоваться средними значениями R_g и $I(0)$ (см. табл.2).

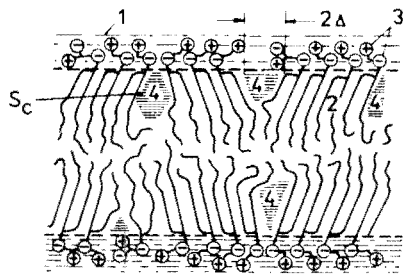


Рис.3. Поперечный разрез мембраны с дефектами в кластерной модели. 1 - вода; 2 - углеводородные цепи липидов; 3 - полярные головы липидов; 4 - дефекты, содержащие воду; S_c - поперечное сечение дефекта; 2Δ - размер дефекта, обращенный к поверхности углеводородного слоя.

3.1. Модель пористой мембраны

В этой модели предполагается, что дефекты - суть цилиндрические поры радиусом R_n , пронизывающие мембрану насквозь. Ось цилиндрической поры предполагается перпендикулярной плоскости мембраны. Тогда радиус поры $R_n = \sqrt{2} \cdot R_g = 41 \text{ \AA}$, объем $V = \pi R_n^2 \cdot l = 158 \cdot 10^3 \text{ \AA}^3$, где для толщины гидрофобной области мембраны в L_α -фазе принято $l \approx 30 \text{ \AA}$. Далее, с помощью (1) находим концентрацию пор:

$$n = \frac{I(0)}{(P-P_3)^2 \cdot V^2} = 2,88 \cdot 10^{15} \text{ см}^{-3}, \text{ доля объема, занятую порами, } n \cdot V = 4,6 \cdot 10^{-4}, \text{ число пор на } 1 \text{ см}^2 \text{ одной мембраны}$$

$n_s = n \cdot d = 1,4 \cdot 10^9 \text{ см}^{-2}$, где $d \approx 50 \text{ \AA}$ - период мультислойной структуры, и, наконец, долю площади, занимаемую порами, $S_p = n_s \cdot \pi R_n^2 = 7,4 \cdot 10^{-4}$. Последняя величина определяет проницаемость мембраны для молекул воды [16]:

$$P = \frac{D}{d} \cdot S_p = 7,4 \cdot 10^{-2} \text{ см/с}, \quad (3)$$

где D - коэффициент диффузии молекул воды в воде ($D = 5,02 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$ при $T = 50^\circ\text{C}$). Экспериментально установленное значение $P = 1,7 \cdot 10^{-3} \text{ см/с}$ [17] от модельного отличается в меньшую сторону почти в 50 раз. Таким образом, наблюдаемые нами неоднородности не могут быть объяснены в рамках простой модели пористой мембраны.

3.2. Кластерная модель

Как уже отмечалось во введении, в кластерной модели роль дефекта играет переходная область, располагающаяся между кластерами с высокой степенью регулярности упаковки липидных молекул. Дефекты в

этой модели сопряжены с раскрытием гидрофобного слоя мембраны и проникновением воды в него на некоторую глубину. Из соображений симметрии следует ожидать, что подобные дефекты окружают кластеры в плоскости мембраны со всех сторон, образуя замкнутые контуры. В качестве простейшей мы рассмотрим модель кольцевого дефекта. Согласно [17], поперечное сечение дефекта $S_c \approx 2l \text{ \AA}^2$ (рис.3), а размер дефекта в сечении $2\Delta \leq 7 \text{ \AA}$, что значительно меньше наблюдаемого радиуса инерции. В этом случае с достаточной степенью точности мы можем полагать средний радиус кольца равным радиусу инерции. Тогда объем дефекта $V = 2\pi R_g \cdot S_c = 3,8 \cdot 10^3 \text{ \AA}^3$ (~ 120 молекул воды). Повторяя выкладки, проводившиеся в предыдущей модели, находим:

$$\text{концентрация дефектов } n = 5,5 \cdot 10^{18} \text{ см}^{-3},$$

$$\text{доля объема, занятая дефектами, } n \cdot V = 2,1 \cdot 10^{-2},$$

$$\text{число дефектов на } 1 \text{ см}^2 \text{ мембраны } n_s = 2,7 \cdot 10^{12} \text{ см}^{-2}$$

$$\text{или число дефектов на } 1 \text{ см}^2 \text{ монослоя } n_{s/2} = 1,35 \cdot 10^{12} \text{ см}^{-2}.$$

Площадь кластера, охваченного кольцевым дефектом, $S_k \approx \pi R_g^2 = 2600 \text{ \AA}^2$. Принимая, что на каждую молекулу липида приходится примерно 50 \AA^2 поверхности мембраны, мы получаем оценку числа молекул в одном кластере $n_k \sim 50$, и числа углеводородных цепей $n_s \sim 100$. Наконец, если принять предложенную в [17] оценку толщины кольца $\leq 7 \text{ \AA}$, для поверхности одного дефекта, обращенной к полярной части мембраны, получаем оценку $S_1 = 1,3 \cdot 10^{-13} \text{ см}^2$; доля поверхности, занятая дефектами, равна $\Sigma = n_{s/2} \cdot S_1 = 0,16$.

В [7,8] размеры кластеров R и доля поверхности, занятая дефектами, Σ были определены из совершенно других соображений: R - из ширины дифракционного рефлекса с $d = 4,6 \text{ \AA}$, а Σ - из сравнения площадей, приходящихся на полярную голову липида и вычисленных из фурье-профилей, полученных из малоугловой ламеллярной дифракции рентгеновских лучей и нейтронов, а также из данных по рентгеновской дифракции на углеводородных цепях ($d = 4,6 \text{ \AA}$). Приводимые там значения $R = 28,7 \pm 0,5 \text{ \AA}$ и $\Sigma = 0,14$ находятся в очень хорошем согласии с найденными нами. Однако необходимо отметить, что из нашего эксперимента независимо от [7,8] (и без дополнительных предположений, в отличие от [7,8]) определяется только радиус инерции дефекта. При отыскании других характеристик мы пользуемся данными о площади сечения кольца S_c и его толщине, приводимыми в [7,8]. В частности, для Σ явная связь с измеренными и модельно-зависимыми величинами имеет вид

$$\Sigma = \frac{I(0)}{(P-P_3)^2} \cdot d \cdot \frac{1}{2\pi R_g} \cdot \frac{\Delta}{S_c^2}, \quad (4)$$

где 2Δ - средний размер кольца.

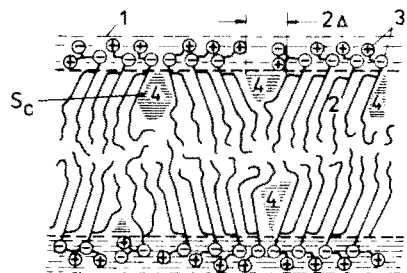


Рис.3. Поперечный разрез мембраны с дефектами в кластерной модели. 1 - вода; 2 - углеводородные цепи липидов; 3 - полярные головы липидов; 4 - дефекты, содержащие воду; S_c - поперечное сечение дефекта; 2Δ - размер дефекта, обращенный к поверхности углеводородного слоя.

3.1. Модель пористой мембраны

В этой модели предполагается, что дефекты - суть цилиндрические поры радиусом R_n , пронизывающие мембрану насквозь. Ось цилиндрической поры предполагается перпендикулярной плоскости мембраны. Тогда радиус поры $R_n = \sqrt{2} \cdot R_g = 41 \text{ \AA}$, объем $V = \pi R_n^2 \cdot \ell = 158 \cdot 10^3 \text{ \AA}^3$, где для толщины гидрофобной области мембраны в L_α -фазе принято $\ell \approx 30 \text{ \AA}$. Далее, с помощью (1) находим концентрацию пор:

$$n = \frac{I(10)}{(P-P_3)^2 \cdot V^2} = 2,88 \cdot 10^{15} \text{ см}^{-3}, \text{ доля объема, заня-$$

тую порами, $n \cdot V = 4,6 \cdot 10^{-4}$, число пор на 1 см^2 одной мембраны $n_s = n \cdot d = 1,4 \cdot 10^9 \text{ см}^{-2}$, где $d \approx 50 \text{ \AA}$ - период мультислабеллярной структуры, и, наконец, долю площади, занимаемую порами, $S_p = n_s \cdot \pi \cdot R_n^2 = 7,4 \cdot 10^{-4}$. Последняя величина определяет проницаемость мембраны для молекул воды ^{/16/}:

$$P = \frac{D}{d} \cdot S_p = 7,4 \cdot 10^{-2} \text{ см/с}, \quad (3)$$

где D - коэффициент диффузии молекул воды в воде ($D = 5,02 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$ при $T = 50^\circ\text{C}$). Экспериментально установленное значение $P = 1,7 \cdot 10^{-3} \text{ см/с}$ ^{/17/} от модельного отличается в меньшую сторону почти в 50 раз. Таким образом, наблюдаемые нами неоднородности не могут быть объяснены в рамках простой модели пористой мембраны.

3.2. Кластерная модель

Как уже отмечалось во введении, в кластерной модели роль дефекта играет переходная область, располагающаяся между кластерами с высокой степенью регулярности упаковки липидных молекул. Дефекты в

этой модели сопряжены с раскрытием гидрофобного слоя мембраны и проникновением воды в него на некоторую глубину. Из соображений симметрии следует ожидать, что подобные дефекты окружают кластеры в плоскости мембраны со всех сторон, образуя замкнутые контуры. В качестве простейшей мы рассмотрим модель кольцевого дефекта. Согласно ^{/17/}, поперечное сечение дефекта $S_c \approx 2I \text{ \AA}^2$ (рис.3), а размер дефекта в сечении $2\Delta \lesssim 7 \text{ \AA}$, что значительно меньше наблюдаемого радиуса инерции. В этом случае с достаточной степенью точности мы можем полагать средний радиус кольца равным радиусу инерции. Тогда объем дефекта $V = 2\pi R_g \cdot S_c = 3,8 \cdot 10^3 \text{ \AA}^3$ (~ 120 молекул воды). Повторяя

выкладки, проводившиеся в предыдущей модели, находим: концентрация дефектов $n = 5,5 \cdot 10^{18} \text{ см}^{-3}$, доля объема, занятая дефектами, $n \cdot V = 2,1 \cdot 10^{-2}$, число дефектов на 1 см^2 мембраны $n_s = 2,7 \cdot 10^{12} \text{ см}^{-2}$ или число дефектов на 1 см^2 монослоя $n_{s/2} = 1,35 \cdot 10^{12} \text{ см}^{-2}$. Площадь кластера, охваченного кольцевым дефектом, $S_k \approx \pi R_g^2 = 2600 \text{ \AA}^2$. Принимая, что на каждую молекулу липида приходится примерно 50 \AA^2 поверхности мембраны, мы получаем оценку числа молекул в одном кластере $n_k \sim 50$, и числа углеводородных цепей $n_c \sim 100$. Наконец, если принять предложенную в ^{/17/} оценку толщины кольца $\lesssim 7 \text{ \AA}$, для поверхности одного дефекта, обращенной к полярной части мембраны, получаем оценку $S_1 = 1,3 \cdot 10^{-13} \text{ см}^2$; доля поверхности, занятая дефектами, равна $\Sigma = n_{s/2} \cdot S_1 = 0,16$.

В ^{/7,8/} размеры кластеров R и доля поверхности, занятая дефектами, Σ были определены из совершенно других соображений: R - из ширины дифракционного рефлекса с $d = 4,6 \text{ \AA}$, а Σ - из сравнения площадей, приходящихся на полярную голову липида и вычисленных из фурье-профилей, полученных из малоугловой ламеллярной дифракции рентгеновских лучей и нейтронов, а также из данных по рентгеновской дифракции на углеводородных цепях ($d = 4,6 \text{ \AA}$). Приводимые там значения $R = 28,7 \pm 0,5 \text{ \AA}$ и $\Sigma = 0,14$ находятся в очень хорошем согласии с найденными нами. Однако необходимо отметить, что из нашего эксперимента независимо от ^{/7,8/} (и без дополнительных предположений, в отличие от ^{/7,8/}) определяется только радиус инерции дефекта. При отыскании других характеристик мы пользуемся данными о площади сечения кольца S_c и его толщине, приводимыми в ^{/7,8/}. В частности, для Σ явная связь с измеренными и модельно-зависимыми величинами имеет вид

$$\Sigma = \frac{I(10)}{(P-P_3)^2} \cdot d \cdot \frac{1}{2\pi R_g} \cdot \frac{\Delta}{S_c^2}, \quad (4)$$

где 2Δ - средний размер кольца.

Из (4) ясно видно, что наш эксперимент определяет Σ с точностью до отношения Δ/ξ^2 , которое нами и взято из [7,8]. Тем не менее согласие значений Σ у нас и в [7] из равенства использованных Δ/ξ^2 автоматически не следует и поэтому отмеченное выше согласие также может рассматриваться как независимый аргумент в пользу кластерной модели.

Аналогичное рассмотрение для проницаемости в модели пор дает выражение

$$P = D \cdot \frac{I(0)}{(p-p_s)^2 \cdot d^2} \cdot \frac{1}{\pi R^2}, \quad (5)$$

из которого следует, что при оценке проницаемости свободных параметров не остается. Последнее выражение интересно с точки зрения оценки возможностей обнаружения пор в мембране методом рассеяния. Очевидно, (5) можно переписать в виде

$$I(0) = P/D \cdot (p-p_s)^2 \cdot d^2 \cdot \pi R^2, \quad (6)$$

после чего видно, что при заданной проницаемости мембраны P интенсивность оказывается пропорциональной площади сечения поры. Наблюдаемая в эксперименте интенсивность примерно в 40 раз превышает ожидаемую по (6) при радиусе пор $\sim 40 \text{ \AA}$ (следующему из наблюдаемого радиуса инерции). Если принять, что более вероятно существование пор меньшего размера [4], то приходится констатировать, что условия для их обнаружения методами рассеяния становятся крайне плохими, так как межкластерные дефекты создают существенно большую интенсивность.

При анализе результатов мы сознательно пренебрегаем возможным влиянием конечной концентрации дефектов на кривую рассеяния. Учет этого влияния пока невозможен, т.к. мы не располагаем какими-либо сведениями ни о реальной форме дефектов и мерах их полидисперсности, ни о парных корреляциях между дефектами, определяющих интерференционные явления, связанные с конечной концентрацией неоднородностей. Возможности управлять концентрацией дефектов (например, изменением температуры, влажности или типа липида) также пока не исследованы. Из общей теории малоуглового рассеяния, однако, следует [15], что найденные нами радиус инерции и интенсивность, во всяком случае, состоятельны как нижние оценки соответствующих величин. С другой стороны, хорошее согласие наших данных с оценками из [7,8] позволяет надеяться, что роль конечной концентрации дефектов не слишком велика.

Мы намерены вернуться к этим вопросам, если в дальнейшем удастся повысить точность подобных экспериментов.

4. Заключение

При введении воды в мультислойную структуру из ДРРС в L_d -фазе появляется дополнительное диффузное рассеяние нейтронов, идентифицируемое как рассеяние на дефектах латеральной структуры мембран. В $L_{\beta'}$ -фазе подобное возрастание интенсивности не наблюдается. Размеры дефектов и интенсивность рассеяния от них хорошо согласуются с кластерной моделью мембраны [7,8] и не согласуются с моделью пористой мембраны. Последнее несоответствие, однако, не следует рассматривать как довод против существования пор, так как ожидаемая интенсивность рассеяния от пор существенно меньше наблюдаемой. вполне возможно, что в мембранах одновременно присутствуют оба типа дефектов, но низкая концентрация пор делает их ненаблюдаемыми с помощью рассеяния на фоне межкластерных дефектов.

Из описанных в данной работе экспериментов следует: средний радиус кластеров $R = (29 \pm 2) \text{ \AA}$, доля площади, занимаемой дефектами на поверхности мембраны, $\Sigma \approx 16\%$, возрастание объема бислоя из-за внедренных в него дефектов $\Delta V/V \approx 2\%$.

Авторы благодарят Ш.Борбея, В.Г.Ивкова и И.Плештила за интерес к работе и полезные замечания.

Литература

1. Fineau J.B.-Sub.Cellul.Biochem., 1972, v.1, No.4, p.363.
2. Singer S.J. In: Ann.Rev.Biochem., Palo Alto Cal 1974, v.43, p.805.
3. Katchalsky A., Kedem O., Klibansky C., de Vries A. In: Flow Properties of Blood and other Biological Systems, N.Y. : Pergamon Press, 1960, p.155.
4. Маркин В.С., Козлов М.М.-Биологические мембраны, 1985, т.2, № 2, стр.205.
5. McFarland B.G., McConnell H.M.-Proc.Nat.Acad.Sci. USA, 1971, v.68, No.6, p.1274.
6. Levine Y.K. In: Progr. Biophys. Mol.Biol., 1972, 24, p.17.
7. Ивков В.Г., Казаков В.А., Корнев А.Н.-Биофизика, 1984, т.29, в.3, с.410.
8. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Динамическая структура бислоя. М.: Наука, 1982, с.147.
9. Останевич Ю.М., Сердюк И.Н.-УФН, 1982, т.137, с.1, с.85.
10. Балагуров А.М., Горделий В.И., Ягужинский Л.С.-Биофизика, 1986, т.XXXI, в.1, с.31.

11. Powers L., Pershan -Biophysical Journal 1977, v.20, p.137.
12. Büldt G., Gally H.V., Seelig J., Zaccai G. -J.Mol.Biol., 1979, 134, p.674.
13. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Динамическая структура бислоя . "Наука", М., 1981, с.94.
14. Вагов В.А., Кунченко А.Б., Останевич Ю.М., Саламатин И.М. ОИЯИ, Р14-83-896, Дубна, 1983.
15. Guinier A., Fournet G., Small-angle scattering of X-rays, N.Y., London, 1955, p.29.
16. Основные формулы физики , Москва, 1957, стр.607.
17. Andrasko J., Forsen S.-Biochem. and Biophys. Res.Communs, 1974, v.60, No.2, p.813.

Рукопись поступила в издательский отдел
13 февраля 1987 года.

Беззаботнов В.Ю. и др. Р14-87-88
Наблюдение структурных дефектов в лецитиновых мембранах
с помощью малоуглового рассеяния нейтронов

Методом малоуглового рассеяния нейтронов /латеральная дифракция/ на высокоориентированных мультимеллярных мембранах из дипальмитоилфосфатидилхолина в жидкой L_{α} -фазе обнаружены неоднородности, интерпретируемые как междоменные дефекты. Размеры и концентрации дефектов близки к предсказанным в рамках динамической кластерной модели бислоя /Ивков, 1984/. В "твердой" L_{β} -фазе неоднородностей не обнаружено /интенсивность диффузного рассеяния уменьшается по крайней мере в 10 раз/. Из описанных в данной работе экспериментов следует: средний радиус кластеров $R = (29 \pm 2) \text{ \AA}$, для площади, занимаемой дефектами на поверхности мембраны, $\Sigma = 16\%$, возрастание объема углеводородной части бислоя из-за внедренных в него дефектов $\Delta V/V = 2\%$.

Работа выполнена в Лаборатории нейтронной физики ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1987

Перевод О.С.Виноградовой

Bezzabotnov V.Yu. et al. Р14-87-88
Observation of Structural Defects in Lecithine Membranes
Observed by Small-Angle Neutron Scattering

Small-angle neutron scattering (SANS) on highly oriented dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) multilayers in liquid (L_{α}) phase (lateral diffraction) clearly shows the existence of extra-inhomogeneities of scattering density (water-filled defects) appearing when a sample is wetted by a saturated heavy water vapour. The existence of defects, their size and concentration found from SANS-data are in excellent agreement with predictions of dynamically clustered bilayer model (Ivkov, 1984). In solid (L_{β}) phase of DPPC no extra-defects are observed after sample wetting (the diffusion scattering intensity was at least ten times less). It follows from the experiments described: mean cluster radius $R = (29 \pm 2) \text{ \AA}$, for the area occupied by the defects on the membrane surface $\Sigma = 16\%$, increase in the bilayer carbon part volume due to implanted defects $\Delta V/V = 2\%$.

The investigation has been performed at the Laboratory of Neutron Physics, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1987