

КРУГОВОЙ ДИХРОИЗМ ЧАСТИЦ ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ДИСПЕРСИЙ ДНК

© 2015 г. С.В. Семенов, Ю.М. Евдокимов*

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»,
123182, Москва, пл. Академика Курчатова, 1;

E-mail: Semenov_SV@nrcki.ru

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

E-mail: Yevdokim@eimb.ru

Поступила в редакцию 03.12.14 г.

Исследована оптическая активность жидкокристаллических дисперсий ДНК на основе теории поглощения электромагнитных волн большими молекулярными агрегатами. Изучено влияние на оптические свойства дисперсий взаимодействия комплексов молекул нуклеиновых кислот с наночастицами.

Ключевые слова: жидкокристаллические дисперсии, холестерики, круговой дихроизм, наночастицы.

Известно, что жесткие, линейные молекулы двухцепочечных (дц) нуклеиновых кислот при их фазовом исключении из водно-солевых растворов полимеров (в частности, полиэтиленгликоля (ПЭГ)) могут образовывать жидкокристаллические дисперсии (ЖКД) [1]. Соседние двухцепочечные молекулы нуклеиновых кислот (ДНК, РНК) в частицах дисперсии упаковываются в виде слоевых (ламеллярных [2]) структур, носящих название «квазинематических слоев» [1] в физике жидких кристаллов. Эти слои не содержат в своем составе молекул ПЭГ. Молекулы ДНК в квазинематических слоях сохраняют некоторые диффузионные степени свободы, характерные для исходных молекул, что придает системе «жидкостной характер».

В физико-химическом смысле каждую частицу ЖКД можно условно рассматривать как «каплю» концентрированного раствора нуклеиновой кислоты (в частности, ДНК), структура и свойства которой определяются, кроме прочих факторов (молекулярная масса ДНК, ионная сила, рН и температура раствора), величиной осмотического давления раствора [1]. В частности, расстояние (d) между соседними молекулами ДНК как в квазинематическом слое, так и между слоями может меняться в пределах от 2,5 до 5,0 нм в зависимости от осмотического давления раствора.

При этом анизотропные свойства молекул ДНК должны приводить к тому, что каждый последующий квазинематический слой поворачивается на определенный угол по отношению к предыдущему. В результате поворота должна формироваться пространственно-закрученная структура частиц ЖКД.

В качестве одного из доказательств формирования пространственно-закрученной структуры частиц ЖКД ДНК был использован подход, основанный на идеологии метода «внешнего» хромофора, «вводимого» в холестерические жидкокристаллические фазы синтетических соединений [3,4]. При определенном способе расположения «введенного» хромофора в холестерической фазе в полосе поглощения этого хромофора возникает интенсивная полоса в спектре кругового дихроизма (КД) [5–7].

Поскольку в структуре двухцепочечных молекул ДНК имеются азотистые основания (хромофоры), поглощающие в УФ-области спектра, которые достаточно жестко фиксированы по отношению к длинной оси молекул ДНК (угол наклона оснований составляет около 90°), образование квазинематического слоя означает, что азотистые основания оказываются встроенными («введенными») в его структуру. Если исходить из идеологии метода «внешнего» хромофора, то можно ожидать, что при возникновении пространственно-закрученной (или, как говорят, холестерической) упаковки соседних молекул ДНК в образующихся частицах ЖКД в спектре КД в области поглощения азо-

Сокращения: дц – двухцепочечный, ПЭГ – полиэтиленгликоль, ЖКД – жидкокристаллические дисперсии, КД – круговой дихроизм, ХЖКД – холестерические ЖКД.

тистых оснований (хромофоров) ДНК должна возникнуть интенсивная полоса. Амплитуда этой полосы должна зависеть (при постоянстве вторичной структуры ДНК и свойств азотистых оснований) от структурных параметров частиц ЖКД (шаг спиральной структуры холестерика, размер частиц дисперсии и т.д.) [8]. Чтобы подчеркнуть принципиальное различие между «молекулярным» круговым дихроизмом ($\Delta\epsilon$, 2–5 ед.), который отражает свойства изолированных азотистых оснований или азотистых оснований в составе линейных молекул ДНК и может быть рассчитан теоретически, и «структурным» круговым дихроизмом, для обозначения интенсивных полос в спектрах кругового дихроизма холестерических ЖКД (ХЖКД) нуклеиновых кислот, независимо от их знака, был использован термин «аномальная полоса» [9].

С учетом отмеченных выше факторов, влияющих на аномальную полосу в спектре КД, ее величину часто выражают не в виде величины $\Delta\epsilon$, а в виде легкоизмеряемой величины амплитуды полосы – ΔA .

При этом нужно иметь в виду тот факт, что высокая локальная концентрация ДНК и упорядоченное расположение этих молекул в жидкокристаллических частицах ЖКД создают условия для взаимодействия разных химических и биологически активных соединений с молекулами ДНК (интеркаляция между парами оснований, фиксация в бороздках на поверхности ДНК и т.д.) [10,11]. Следует отметить, что, несмотря на интерес к изучению свойств нанобъектов в разных условиях [1], вопрос о поведении наночастиц металлов в жидкокристаллической среде был рассмотрен лишь в одной работе [12].

Происходящие при взаимодействии разных соединений с ДНК искажения вторичной структуры этих молекул влияют не только на свойства квазинематических слоев, но и на характер взаимодействия между ними, а следовательно, и на особенности пространственной структуры любой частицы ЖКД и ее аномальные оптические свойства.

Сказанное выше означает, что интерес представляют развитие и совершенствование теоретических и экспериментальных подходов, позволяющих выявить зависимость формы аномальных оптических свойств частиц ХЖКД ДНК не только от параметров частиц дисперсии, но и от наличия в этой системе факторов, возмущающих пространственную структуру частиц.

Цель настоящей работы – развитие теоретического подхода, позволяющего рассчиты-

вать аномальные оптические свойства частиц ЖКД ДНК в разных условиях.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН С МОЛЕКУЛЯРНЫМИ АГРЕГАТАМИ

Эффективным методом изучения физико-химических характеристик агрегированного состояния нуклеиновых кислот является исследование оптической активности дисперсий [13,14].

Важное значение приобретает задача о выяснении влияния, которое оказывает на свойства конденсированных фаз биологических макромолекул их взаимодействие с наночастицами.

Известно, что молекулы ДНК содержат поглощающие УФ-излучение азотистые основания, пространственная упаковка которых определяется упаковкой молекул ДНК в частицах дисперсии. Это позволяет условно рассматривать частицу ХЖКД как набор хромофоров, имеющих холестерическое упорядочение и образующих трехмерную жесткую структуру, с размером, сравнимым с длиной волны полосы поглощения хромофора.

Для исследования воздействия разных факторов (таких как, например, молекулы биологически активных соединений или наночастицы металлов) на частицы ХЖКД ДНК, приводящие к возмущениям их холестерической упорядоченности и, как следствие, к изменению их аномальной оптической активности, необходимо разработать теоретический подход, который дает возможность рассчитывать коэффициент экстинкции находящихся в растворе частиц, обладающих различными типами внутренней упаковки.

Представляется целесообразным развить этот подход, пользуясь теорией поглощения электромагнитных волн большими молекулярными агрегатами [15,16]. При этом, когда размер агрегата примерно равен длине волны света, его оптические свойства определяются как величиной, так и формой частиц. Эти свойства обусловлены дальнедействующим взаимодействием между хромофорами, принадлежащими данной структуре, оптические характеристики которой можно изучать с помощью разбиения частицы на ячейки, каждую из которых можно рассматривать как единичный эффективный хромофор. Эти эффективные хромофоры, являющиеся поглощающими диполями, имеют упорядочение, аналогичное холестерической спирали с шагом P .

В настоящей работе мы используем упрощающее предположение, согласно которому

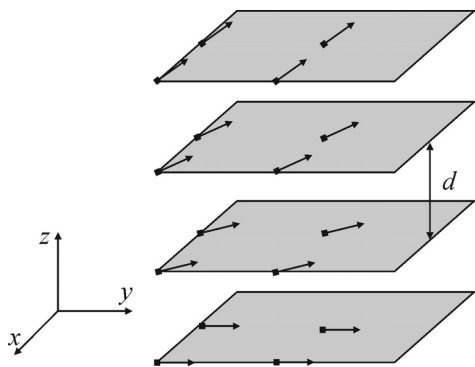


Рис. 1. Модель частицы холестерической жидкокристаллической дисперсии ДНК.

частицы ХЖКД ДНК (условно называемые далее молекулярными агрегатами) обладают кубической формой. Таким образом, частица ХЖКД ДНК моделируется набором параллельных слоев, находящихся на расстоянии d друг от друга, в которых расположены поглощающие диполи, поворачивающиеся на угол $\Delta\varphi$ при переходе от слоя к слою. Соответственно, $P = 2\pi d/\Delta\varphi$. Схема рассматриваемой системы изображена на рис. 1.

Электрическое поле в точке локализации определенного хромофора является суперпозицией поля падающего света и электрических полей, создаваемых индуцированными диполями, принадлежащими всем остальным хромофорам системы.

Как результат, поглощение света представляет собой процесс, в котором участвует весь молекулярный агрегат, и электрическое поле в пределах частицы можно найти путем решения самосогласованной системы линейных уравнений относительно амплитуд поля на каждом эффективном хромофоре.

Коэффициент экстинкции жидкокристаллической дисперсии можно записать в терминах усредненного по вращениям эффективного сечения экстинкции $\langle\sigma\rangle$:

$$\varepsilon = \frac{N_A}{1000 \ln 2} \langle\sigma\rangle, \tag{1}$$

где N_A – число Авогадро и полное сечение задается оптической теоремой:

$$\sigma = \frac{4\pi}{k} \text{Im} \left[\hat{\varepsilon}_0^* \mathbf{f}(\mathbf{k} = \mathbf{k}_0) \right]. \tag{2}$$

Здесь $k = 2\pi/\lambda$, λ – длина волны падающего света, $\hat{\varepsilon}_0$ – вектор поляризации электромагнитной волны и $\mathbf{f}(\mathbf{k} = \mathbf{k}_0)$ – векторная амплитуда рассеяния вперед для электрического поля, определяемая выражением:

$$\lim_{r \rightarrow \infty} \mathbf{E}_{\text{scatt}} = E_0 \mathbf{f}(\mathbf{k}) \frac{e^{ikr}}{r}, \tag{3}$$

где E_0 – амплитуда падающей плоской волны. Волновое уравнение для электрического поля имеет вид:

$$\text{rot rot } \mathbf{E} - k^2 \boldsymbol{\varepsilon}(\mathbf{x}) \mathbf{E} = 0, \tag{4}$$

где $\boldsymbol{\varepsilon}(\mathbf{x})$ – тензор диэлектрической проницаемости, который для дискретного набора хромофоров определяется следующим образом:

$$\boldsymbol{\varepsilon}(\mathbf{x}) = \mathbf{1} + 4\pi \sum_i \boldsymbol{\alpha}_i \delta^3(\mathbf{x} - \mathbf{x}_i), \tag{5}$$

где $\boldsymbol{\alpha}_i$ и \mathbf{x}_i – тензор поляризуемости и радиус-вектор i -го хромофора. Для определения амплитуды рассеяния \mathbf{f} может быть получено интегральное уравнение с использованием функции Грина:

$$\mathbf{E}(\mathbf{x}) = \mathbf{E}_0(\mathbf{x}) + 4\pi k^2 \int \Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{x}') \frac{\boldsymbol{\varepsilon}(\mathbf{x}') - \mathbf{1}}{4\pi} \mathbf{E}(\mathbf{x}') d^3x', \tag{6}$$

где функция Грина определяется уравнением

$$\text{rot rot } \Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{x}') - k^2 \Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{x}') = \mathbf{1} \delta^3(\mathbf{x} - \mathbf{x}')$$

и имеет следующий вид [4]:

$$\Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{x}') = (\mathbf{1} - \hat{\mathbf{r}}\hat{\mathbf{r}}) \frac{e^{ikr}}{r} + (3\hat{\mathbf{r}}\hat{\mathbf{r}} - \mathbf{1}) \left(\frac{1}{k^2 r^2} - \frac{i}{kr} \right) \frac{e^{ikr}}{4\pi r} - \frac{1}{3k^2} \delta^3(\mathbf{r}), \tag{7}$$

где $\mathbf{r} = \mathbf{x} - \mathbf{x}'$, $r = |\mathbf{x} - \mathbf{x}'|$, $\hat{\mathbf{r}} = \mathbf{r}/r$, $\mathbf{E}_0(\mathbf{x})$ – электрическое поле падающей электромагнитной волны, $\mathbf{E}_0(\mathbf{x}) = E_0 \hat{\varepsilon}_0 e^{i\mathbf{k}_0 \mathbf{x}}$, $\hat{\varepsilon}_0$ и \mathbf{k}_0 – вектор поляризации и волновой вектор падающего света.

Подставляя выражение (5) для $\boldsymbol{\varepsilon}(\mathbf{x})$ в формулу (6), можно получить следующее уравнение:

$$\mathbf{E}(\mathbf{x}) = \mathbf{E}_0(\mathbf{x}) + 4\pi k^2 \sum_i \Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i) \boldsymbol{\alpha}_i \mathbf{E}(\mathbf{x}_i). \tag{8}$$

Поскольку $\boldsymbol{\mu}_i = \boldsymbol{\alpha}_i \mathbf{E}(\mathbf{x}_i)$ – электрический дипольный момент, индуцированный на i -м хромофоре электрическим полем $\mathbf{E}(\mathbf{x}_i)$, уравнение (8) может быть записано в виде:

$$\mathbf{E}(\mathbf{x}) = \mathbf{E}_0(\mathbf{x}) + \sum_i \mathbf{E}_{\text{dipole},i}(\mathbf{x}), \tag{9}$$

где $\mathbf{E}_{\text{dipole},i}(\mathbf{x}) = 4\pi k^2 \Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i) \boldsymbol{\mu}_i$ – электрическое поле в точке \mathbf{x} , создаваемое осциллирующим диполем, находящимся в пространственной точке \mathbf{x}_i .

Следует отметить, что выражение (7) для $\Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i)$ содержит вклад порядка $1/r^3$, соответствующий полю статического диполя и преобладающий в точках наблюдения, близких к диполю $\boldsymbol{\mu}_i$, вклад порядка $1/r^2$, называемый промежуточным [15] и вклад, пропорциональный $1/r$, определяющий расходящуюся сферическую волну на больших расстояниях. Как показывают вычисления, для больших молекулярных агрегатов существенны все три слагаемых.

Амплитуда рассеяния $\mathbf{f}(\mathbf{k})$ может быть найдена при помощи предельного перехода к большим расстояниям во втором слагаемом в правой части уравнение (9) и сравнения этого предела с уравнением (3):

$$\begin{aligned} \lim_{r \rightarrow \infty} \mathbf{E}_{\text{scatt}} &= \lim_{r \rightarrow \infty} 4\pi k^2 \sum_i \Gamma(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i) \boldsymbol{\alpha}_i \mathbf{E}(\mathbf{x}_i) = \\ &= k^2 (\mathbf{1} - \hat{\mathbf{k}} \hat{\mathbf{k}}) \sum_i e^{-i\mathbf{k}_0 \mathbf{x}_i} \boldsymbol{\alpha}_i \mathbf{E}(\mathbf{x}_i) \frac{e^{ikr}}{r}. \end{aligned}$$

Таким образом, амплитуда $\mathbf{f}(\mathbf{k} = \mathbf{k}_0)$ задается выражением:

$$\begin{aligned} \mathbf{f}(\mathbf{k} = \mathbf{k}_0) &= \frac{k^2}{E_0} (\mathbf{1} - \hat{\mathbf{k}}_0 \hat{\mathbf{k}}_0) \sum_i e^{-i\mathbf{k}_0 \mathbf{x}_i} \boldsymbol{\alpha}_i \mathbf{E}(\mathbf{x}_i) = \\ &= \frac{k^2}{E_0} (\mathbf{1} - \hat{\mathbf{k}}_0 \hat{\mathbf{k}}_0) \sum_i e^{-i\mathbf{k}_0 \mathbf{x}_i} \boldsymbol{\mu}_i. \end{aligned}$$

Следовательно, эффективное сечение экстинкции, как это следует из уравнения (2), имеет вид:

$$\sigma = \frac{4\pi \ddot{e}}{E_0} \text{Im} \left[\sum_i (\hat{\boldsymbol{\epsilon}}_0^* e^{-i\mathbf{k}_0 \mathbf{x}_i} \boldsymbol{\mu}_i) \right]. \quad (10)$$

Из формулы (10) следует, что достаточно найти N векторов $\boldsymbol{\mu}_i$ (N – число хромофоров) для того, чтобы рассчитать σ и, в результате, круговой дихроизм молекулярной системы.

Для электрического поля $\mathbf{E}(\mathbf{x}_j)$ в принадлежащей частице дисперсии точке \mathbf{x}_j , где расположен j -й хромофор, как это следует из уравнения (8), можно построить систему $3N$ линейных уравнений для N векторов:

$$\mathbf{E}(\mathbf{x}_j) = \mathbf{E}_0(\mathbf{x}_j) + 4\pi k^2 \sum_{i \neq j} \Gamma(\mathbf{x}_j, \mathbf{x}_i) \boldsymbol{\mu}_i. \quad (11)$$

Удобно преобразовать уравнение (11) таким образом, чтобы получить уравнение для индуцированных дипольных моментов на каждом хромофоре $\boldsymbol{\mu}_i = \boldsymbol{\alpha}_i \mathbf{E}(\mathbf{x}_i)$:

$$\boldsymbol{\alpha}_j^{-1} \boldsymbol{\mu}_j = \mathbf{E}_0(\mathbf{x}_j) + 4\pi k^2 \sum_{i \neq j} \Gamma(\mathbf{x}_j, \mathbf{x}_i) \boldsymbol{\mu}_i$$

или

$$\sum_j [\boldsymbol{\alpha}_i^{-1} \delta_{ij} - 4\pi k^2 \Gamma(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j)] \boldsymbol{\mu}_j = \mathbf{E}_0(\mathbf{x}_i). \quad (12)$$

Таким образом, система (12) является системой $3N$ линейных уравнений для $3N$ неизвестных $\boldsymbol{\mu}_{j1}, \boldsymbol{\mu}_{j2}, \boldsymbol{\mu}_{j3}, j = 1, \dots, N$. Здесь, чтобы учесть условие $i \neq j$, полагается, что матрицы $\Gamma(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_i)$ равны нулю. Для простоты обозначений можно определить два $3N$ -мерных вектора $|\boldsymbol{\mu}\rangle$ и $|E_0\rangle$ с компонентами $\boldsymbol{\mu}_i$ и $E_0 \hat{\boldsymbol{\epsilon}}_0 e^{i\mathbf{k}_0 \mathbf{x}_i}$ соответственно. Тогда уравнение (12) можно записать в матричной форме:

$$A^{-1} |\boldsymbol{\mu}\rangle = |E_0\rangle, \quad (13)$$

где $3N \times 3N$ матрица A^{-1} составлена из N^2 3×3 матричных блоков:

$$(A^{-1})_{kl}^{ij} = \boldsymbol{\alpha}_{kl}^{-1} \delta_{ij} - 4\pi k^2 \Gamma(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j)_{kl}, \quad (14)$$

$k, l = 1, 2, 3; i, j = 1, \dots, N$. Тогда вектор $|\boldsymbol{\mu}\rangle$ может быть найден с помощью матрицы A , обратной по отношению к A^{-1} :

$$|\boldsymbol{\mu}\rangle = A |E_0\rangle \quad (15)$$

и, следовательно,

$$\sigma = \frac{4\pi k}{E_0^2} \text{Im} \langle E_0 | A | E_0 \rangle. \quad (16)$$

Явное выражение для сечения экстинкции можно представить в виде:

$$\sigma = 4\pi k \text{Im} \left[\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N e^{i\mathbf{k}_0(\mathbf{x}_j - \mathbf{x}_i)} \sum_{k=1}^3 \sum_{l=1}^3 \hat{\boldsymbol{\epsilon}}_{0k}^* A_{kl}^{ij} \hat{\boldsymbol{\epsilon}}_{0l} \right], \quad (17)$$

здесь A^{ij} – 3×3 матричные блоки матрицы A , соответствующие взаимодействию между i -м и j -м хромофорами.

Как это следует из уравнения (15), матрицу A можно рассматривать как обобщенный оператор поляризуемости, который связывает вектор дипольного момента $|\boldsymbol{\mu}\rangle$ системы многих взаимодействующих хромофоров с вектором,

характеризующим внешнее электрическое поле, $\langle E_0 \rangle$.

Для дальнейшего рассмотрения и проведения численных расчетов полезно разбить A^{-1} на две части [15–17], соответствующие двум матрицам, входящим в выражение (14):

$$A^{-1} = \alpha^{-1} - \gamma, \quad (18)$$

где строго диагональная по отношению к индексам i, j матрица α^{-1} имеет вид:

$$(\alpha^{-1})_{ij} = \alpha_i^{-1} \delta_{ij},$$

а матрица γ недиагональная по отношению к этим индексам, так как матрицы $\Gamma(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j)$ равны нулю:

$$(\gamma)_{ij} = 4\pi k^2 \Gamma(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j).$$

Матрица γ определяет взаимодействие между различными хромофорами. В случае достаточно малых поляризуемостей отдельных хромофоров связь между ними будет также мала, и поэтому можно применить полезное приближение для того, чтобы упростить вычисления и избежать прямого численного обращения имеющей большую размерность матрицы A^{-1} . Как следует из уравнения (18),

$$A^{-1} = \alpha^{-1} - \gamma = \alpha^{-1}(I - \alpha\gamma).$$

Тогда обобщенный оператор поляризуемости может быть записан как:

$$A = (I - \alpha\gamma)^{-1}\alpha.$$

На практике матрицу $\alpha\gamma$ можно считать малой по сравнению с единицей. Например, для ХЖКД ДНК выбор параметров системы приводит к матричным элементам $\alpha\gamma$, не превышающим 0,2. Поэтому можно разложить $(I - \alpha\gamma)^{-1}$ по степеням $\alpha\gamma$:

$$\begin{aligned} A &\cong (I + \alpha\gamma + \alpha\gamma\alpha\gamma + \dots)\alpha = \\ &= \alpha + \alpha\gamma\alpha + \alpha\gamma\alpha\gamma\alpha + \dots \end{aligned} \quad (19)$$

Первое слагаемое в уравнении (19) относится к системе несвязанных хромофоров, второе соответствует двухчастичному взаимодействию и так далее.

В дальнейшем мы будем использовать выражение для поляризуемости, которое описывает стержнеобразный хромофор:

$$\alpha_i = \alpha \hat{\mathbf{t}}_i \hat{\mathbf{t}}_i, \quad (20)$$

Предполагается, что все хромофоры имеют одинаковую величину поляризуемости α , но

могут иметь различные направления, соответствующие, например, холестерической упорядоченности. Эти направления задаются единичными векторами $\hat{\mathbf{t}}_i$, причем вектора не зависят от длины волны. Таким образом, моделирование изменений направлений векторов $\hat{\mathbf{t}}_i$, в том числе происходящих в результате взаимодействия дисперсий с наночастицами, дает возможность изучать различные типы упаковки хромофоров в агрегате и, соответственно, исследовать влияние характера упорядоченности на оптическую активность частиц ХЖКД.

Как следует из уравнения (1), круговой дихроизм молекулярного агрегата определяется следующим выражением:

$$CD = \varepsilon_L - \varepsilon_R = (N_A/2303)(\langle \sigma_L \rangle - \langle \sigma_R \rangle). \quad (21)$$

Коэффициенты экстинции $\varepsilon_L, \varepsilon_R$ имеют размерность $[(\text{моль/л})\text{см}]^{-1}$, $\langle \sigma_L \rangle, \langle \sigma_R \rangle$ – усредненные по всем направлениям вращения частицы, полные сечения поглощения для лево- и правополяризованного света в единицах $\text{см}^2/\text{хромофор}$.

Для численного расчета кругового дихроизма ХЖКД ДНК необходимо определить величину поляризуемости α . В качестве простой модели, используемой для количественных оценок, можно считать [15], что хромофор обладает одним резонансным поглощающим переходом в ультрафиолетовой области при $\lambda_0 = 262$ нм, что соответствует экспериментально наблюдаемому спектру поглощения азотистых оснований ДНК. Максимальное значение коэффициента экстинции $\varepsilon_{\text{max}} = (N_A/1000 \ln 10) \sigma_{\text{max}}$, где σ_{max} – максимальное сечение на одном хромофоре. Для оснований ДНК $\varepsilon_{\text{max}} = 6600 [(\text{моль/л})\text{см}]^{-1}$. Поскольку круговой дихроизм определяется в основном дифференциальным поглощением, то будем считать поляризуемость α чисто мнимой величиной, имеющей лорентцевскую форму:

$$\alpha = \alpha_0 \frac{ik\Gamma}{(k_0^2 - k^2)^2 + k^2\Gamma^2}, \quad k = \frac{2\pi}{\lambda}, \quad k_0 = \frac{2\pi}{\lambda_0}, \quad (22)$$

здесь Γ определяется шириной полосы поглощения. С хорошей точностью можно принять, что $\Gamma \approx \frac{2\pi(\Delta\lambda)}{\lambda_0^2}$, где $\Delta\lambda$ – полная ширина полосы поглощения на полувысоте.

Сечение экстинции на единичном одноосном усредненном по всем направлениям в пространстве осцилляторе имеет вид [18]:

$$\sigma = \frac{4\pi}{3} k \text{Im}\alpha.$$

Таким образом, в максимуме поглощения справедливы соотношения:

$$\epsilon_{\max} = (6,023/\ln 10) \cdot 10^6 \sigma_{\max}, \quad (23)$$

$$\epsilon_{\max} = (6,023/\ln 10) \cdot 10^6 \frac{4\pi}{3} \frac{\alpha_0}{\Gamma},$$

здесь ϵ_{\max} измеряется в $[(\text{моль/л}) \cdot \text{см}]^{-1}$, σ – в нм^2 , Γ – в $1/\text{нм}$, α_0 имеет размерность нм .

Из уравнения (23) следует, что

$$\alpha_0 = (\ln 10/6,023) \cdot 10^{-6} \frac{\Gamma}{4\pi/3} \epsilon_{\max}.$$

Частицы дисперсии содержат очень большое число молекул ДНК и, следовательно, поглощающих электромагнитное излучение хромофоров. Для того, чтобы сделать возможными численные расчеты оптических свойств молекулярных агрегатов, в данной модели частица ХЖКД ДНК рассматривается как совокупность ячеек, содержащих большое количество хромофоров; при этом каждая ячейка рассматривается как единый эффективный поляризуемый комплекс, поглощающий электромагнитное излучение. Такой комплекс имеет определенное направление поляризуемости в пространстве, соответствующее холестерической упорядоченности.

Для того, чтобы найти поляризуемость этих эффективных поляризуемых комплексов, целесообразно умножить поляризуемость отдельного хромофора α (22) на число хромофоров в ячейке [15]. В дальнейших вычислениях предполагается, что плотность хромофоров в частице дисперсии составляет 1 хромофор/ нм^3 . Для теоретического расчета величины кругового дихроизма молекулярный агрегат, обладающий холестерической упорядоченностью, моделируется в виде кубической решетки, в каждом узле которой находится одноосный эффективный хромофор. Тензор поляризуемости этих хромофоров имеет вид (20). Единичный вектор \hat{t}_i определяет направление поляризуемости i -го эффективного хромофора. Здесь $i = 1, \dots, N$, где N – число эффективных хромофоров, равное числу ячеек, на которые при моделировании разбивается молекулярный агрегат. Все вектора \hat{t}_i лежат в $(x - y)$ -плоскости системы координат, жестко связанной с частицей дисперсии, и их z -компонента равна нулю (см. рис. 1). Таким образом, агрегат является совокупностью холестерических слоев. В каждом слое вектора

поляризуемости эффективных хромофоров совпадают, т.е. все вектора \hat{t}_i параллельны, а при переходе от слоя к слою вектора \hat{t}_i поворачиваются на угол θ . Угол определяется следующим выражением:

$$\theta = (360^\circ/P) d_{\text{eff}},$$

где P – шаг холестерической спирали молекулярного агрегата, d_{eff} – расстояние между слоями, равное расстоянию между соседними узлами решетки вдоль любой оси координат. Объем поляризуемых комплексов, из которых составляется частица дисперсии и которым ставится в соответствии вектор поляризуемости \hat{t}_i , равен d_{eff}^3 , а число хромофоров, принадлежащих этому комплексу, равно $\rho_{\text{chr}} d_{\text{eff}}^3$. Соответственно тензор поляризуемости эффективного хромофора определяется следующими соотношениями:

$$\alpha_{\text{eff},i} = \alpha_{\text{eff}} \hat{t}_i \hat{t}_i,$$

$$\alpha_{\text{eff}} = \rho_{\text{chr}} d_{\text{eff}}^3 \alpha_0 \frac{ik\Gamma}{(k_0^2 - k^2)^2 + k^2 \Gamma^2}.$$

Очевидно, что чем меньше размер субъединиц d_{eff} , на которые разбивается молекулярный агрегат, тем точнее передаются его оптические свойства и тем меньше проявляется эффект «зернистости». Современные вычислительные мощности позволяют за достаточно разумное время выполнять расчеты с числом эффективных хромофоров $N \sim 15000$. При проведении вычислений оптической активности жидкокристаллических дисперсий ДНК, частицы которых имеют размеры 300–500 нм, полагалось, что $d_{\text{eff}} = 20$ нм, что значительно меньше максимально допустимого значения 45 нм, определенного исходя из критерия $(2\pi/\lambda_0) d_{\text{eff}} \leq 1$ [17]. Дальнейшее уменьшение d_{eff} не приводит к существенному изменению результатов. При увеличении размера частицы от 300 нм до 500 нм число эффективных хромофоров при расчетах увеличивалось согласно кубической геометрии от $15 \times 15 \times 15$ до $25 \times 25 \times 25$. Следует отметить, что в работах [15–17] максимальное число эффективных хромофоров равно $5 \times 5 \times 5$, что давало возможность теоретически исследовать оптические свойства дисперсий, размер частиц которых не превосходит 225 нм.

Теперь необходимо провести усреднение полного сечения σ . Наиболее простой способ состоит в том, чтобы рассматривать молекулярный агрегат, фиксированный в определенной системе координат, и проводить усреднение по отношению к различным направлениям волнового вектора падающей электромагнитной волны \mathbf{k}_0 . Тогда, как это следует из уравнения

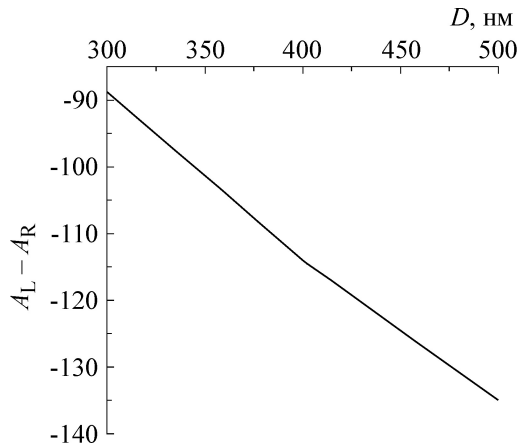


Рис. 2. Зависимость величины кругового дихроизма от размеров частицы дисперсии. $P = -2500$ нм; $\Delta A = A_L - A_R$, мм; $1 \text{ мм} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ опт. ед; $c_{\text{ДНК}} = 10$ мкг/мл; $L = 1$ см.

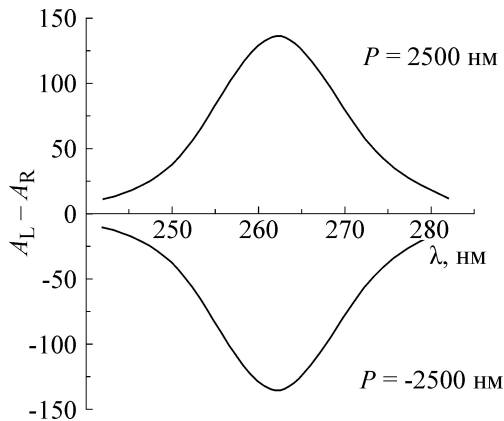


Рис. 3. Спектр кругового дихроизма для двух направлений закрутки холестерической спирали. $D = 350$ нм. $\Delta A = A_L - A_R$, мм; $1 \text{ мм} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ опт. ед; $c_{\text{ДНК}} = 10$ мкг/мл; $L = 1$ см.

(17), усредненные сечения для левой и правой поляризации $\langle \sigma_L \rangle$ и $\langle \sigma_R \rangle$ определяются формулой:

$$\langle \sigma_{L,R} \rangle = 4\pi \text{Im} \sum_i \sum_j \text{Tr} \langle \hat{\mathbf{e}}_{0L,R} \hat{\mathbf{e}}_{0L,R}^* e^{ik_0(x_j - x_i)} \rangle A^{(ij)}, \quad (24)$$

где $\hat{\mathbf{e}}_R = (1/\sqrt{2})(\hat{\mathbf{x}} + i\hat{\mathbf{y}})$, $\hat{\mathbf{e}}_L = (1/\sqrt{2})(\hat{\mathbf{x}} - i\hat{\mathbf{y}})$ и единичные векторы $\hat{\mathbf{x}}$ и $\hat{\mathbf{y}}$ перпендикулярны к волновому вектору \mathbf{k}_0 и друг к другу.

Справедливо следующее соотношение $\hat{\mathbf{e}}_{0L,R} \hat{\mathbf{e}}_{0L,R}^* = \frac{1}{2}[(1 - \hat{\mathbf{k}}_0 \hat{\mathbf{k}}_0) \pm i(\mathbf{1} \cdot \mathbf{1}) \hat{\mathbf{k}}_0]$, где знак плюс относится к $\hat{\mathbf{e}}_{0R} \hat{\mathbf{e}}_{0R}^*$, а минус к $\hat{\mathbf{e}}_{0L} \hat{\mathbf{e}}_{0L}^*$, причем $(\mathbf{1} \cdot \mathbf{1})$ – полностью антисимметричный тензор третьего ранга.

В результате получается следующее выражения для разности усредненных по вращениям сечений, отвечающих лево- и правополяризованному свету:

$$\langle \sigma_L \rangle - \langle \sigma_R \rangle = 4\pi k \sum_i \sum_j j_1(kr_{ij}) \mathbf{a}_{ij} \mathbf{r}_{ij}, \quad (25)$$

где $j_1(kr_{ij})$ – сферическая функция Бесселя первого рода порядка 1, $j_1(kr_{ij}) = \frac{\sin kr_{ij}}{kr_{ij}} - \frac{\cos kr_{ij}}{k^2 r_{ij}^2}$, $\mathbf{r}_{ij} = \mathbf{x}_j - \mathbf{x}_i$, $r_{ij} = |\mathbf{r}_{ij}|$, $\hat{\mathbf{r}}_{ij} = \mathbf{r}_{ij}/r_{ij}$.

Вектора \mathbf{a}_{ij} записываются в виде:

$$\mathbf{a}_{ij} = [(\text{Im} \mathbf{A}_{ij})_{32} - (\text{Im} \mathbf{A}_{ij})_{23}, (\text{Im} \mathbf{A}_{ij})_{13} - (\text{Im} \mathbf{A}_{ij})_{31}, (\text{Im} \mathbf{A}_{ij})_{21} - (\text{Im} \mathbf{A}_{ij})_{12}].$$

РЕЗУЛЬТАТЫ ЧИСЛЕННЫХ РАСЧЕТОВ

Выражения (21), (25) позволяют определять круговой дихроизм молекулярного агрегата (в данном случае – частицы ХЖКД ДНК) и проводить теоретическое исследование влияния на величину кругового дихроизма различных параметров частиц дисперсии. В настоящей работе эти частицы моделируются в виде куба со стороной D , состоящего из холестерических слоев, показанных на рис. 1. Число этих слоев равно D/d_{eff} .

Расчитанная зависимость кругового дихроизма от размера частиц ХЖКД с левой пространственной закруткой ($P < 0$) построена на рис. 2. Длина волны поглощения хромофора (азотистого основания ДНК) соответствует $\lambda = 262$ нм.

Отрицательный знак кругового дихроизма, полученный при теоретическом расчете, соответствует знаку, наблюдаемому экспериментально.

Физическая причина отрицательного знака кругового дихроизма для левозакрученной спирали состоит в следующем. Когда вдоль спиральной оси холестерика распространяется электромагнитная волна с правой круговой поляризацией, то мгновенное распределение направлений вектора напряженности электрического поля в ней образует левую спираль, в большей степени соответствующую направлениям векторов поляризуемости поглощающих диполей в молекуле, чем для левой круговой поляризации излучения. Поэтому в этом случае выполняется соотношение $\epsilon_R > \epsilon_L$ и круговой дихроизм становится отрицательным. Для пра-

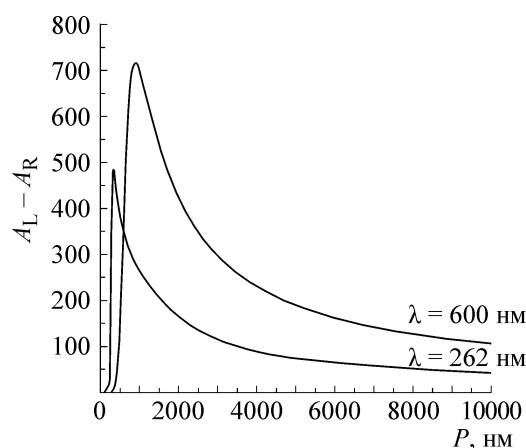


Рис. 4. Зависимости кругового дихроизма ХЖКД от шага холестерической спирали с правой закруткой для двух структур, различающихся положением полос поглощения ($\lambda = 262$ нм и $\lambda = 600$ нм). $D = 500$ нм. $\Delta A = A_L - A_R$, мм; $1 \text{ мм} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ опт. ед; $c_{\text{ДНК}} = 10$ мкг/мл; $L = 1$ см.

вой холестерической структуры имеет место обратная ситуация, как это показано на рис. 3.

На рис. 4 изображена зависимость кругового дихроизма от шага холестерической спирали с правой закруткой для двух холестерических структур, условно различающихся положением полос поглощения ($\lambda = 262$ нм и $\lambda = 600$ нм).

Из графика видно, что с ростом шага спирали P до некоторого значения, сравнимого с длиной волны падающего излучения, когда мгновенное распределение вектора напряженности электрического поля примерно совпадает с направлениями поглощающих диполей, величина кругового дихроизма возрастает. Затем с ростом P величина КД уменьшается, что соответствует переходу от холестерической упорядоченности к нематической, не обладающей оптической активностью.

Следует отметить, что развитый в настоящей работе подход можно применить для исследования оптической активности ХЖКД ДНК, обработанных некоторыми окрашенными соединениями, такими как антибиотики или биологически активные соединения. Эти соединения интеркалируют в ДНК (встраиваются между парами азотистых оснований), так что молекулы биологически активных соединений также образуют структуру, обладающую холестерической упорядоченностью, с шагом, равным шагу ХЖКД ДНК [1].

Для численного расчета кругового дихроизма таких ХЖКД следует в выражении для поляризуемости α предусмотреть наличие мак-

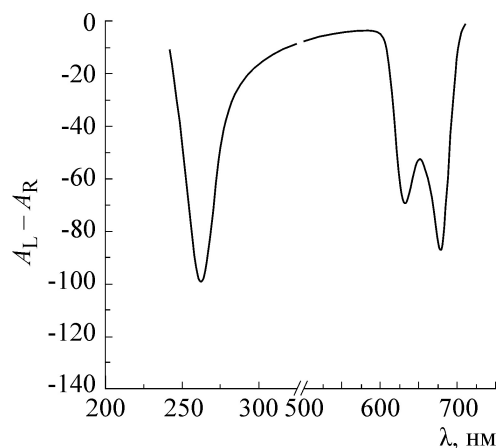


Рис. 5. Спектр кругового дихроизма ЖКД ДНК, сформированных из комплексов [ДНК–митоксантрон]. $D = 350$ нм. $\Delta A = A_L - A_R$, мм; $1 \text{ мм} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ опт. ед; $c_{\text{ДНК}} = 10$ мкг/мл; $L = 1$ см.

симула на частоте поглощения хромофора окрашенных биологически активных соединений, как правило, находящейся в видимой области спектра поглощения. При этом соответствующая величина кругового дихроизма сравнима с круговым дихроизмом на частоте поглощения азотистых оснований ДНК. Это связано с тем, что хотя плотность хромофоров красителя в несколько раз меньше 1 хромофор/нм² – плотности хромофоров (азотистых оснований) ДНК, максимальное значение коэффициента экстинкции для биологически активных соединений может быть во много раз выше, что приводит к достаточно большому значению поляризуемости. На рис. 5 показан теоретический спектр КД ЖКД, сформированных из комплексов ДНК с окрашенным противоопухолевым соединением митоксантроном. Как видно из рисунка, в спектрах КД таких ЖКД присутствуют две полосы. Одна из полос расположена в области поглощения азотистых оснований ($\lambda \sim 270$ нм), другая в области поглощения хромофоров митоксантрона ($\lambda \sim 680$ нм). При расчетах предполагалось, что ориентация молекул митоксантрона по отношению оси молекулы ДНК совпадает с ориентацией азотистых оснований, т.е. комплексу ДНК–митоксантрон можно сопоставить единый вектор \hat{t}_i , определяющий направление поляризуемости макромолекулы. В результате получается одинаковый знак полос в спектре КД, что согласуется с экспериментальными данными.

Предлагаемую модель можно также применить к изучению оптической активности, обусловленной поверхностными плазмонными резонансами, характерными для наноструктур, на-

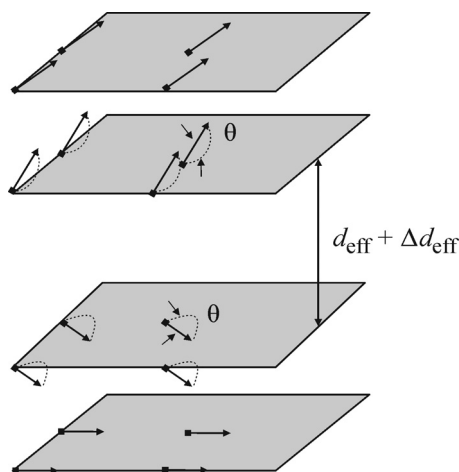


Рис. 6. Модель искажения холестерической упаковки, вызванного взаимодействием наночастиц с частицами ХЖКД.

пример для наночастиц золота, взаимодействующих с ХЖКД ДНК [19]. Оценка показывает, что амплитуда полосы кругового дихроизма будет зависеть от концентрации наночастиц, встроенных в структуру частиц ХЖКД ДНК.

Моделировать разнообразные типы упорядоченности эффективных хромофоров внутри частиц ХЖКД ДНК можно, задавая определенные направления векторов \mathbf{t}_i , входящих в формулу (20), а также меняя геометрию самой решетки, например, меняя расстояние между соседними квазинематическими слоями.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ НА ОПТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ДИСПЕРСИЙ ДНК

При взаимодействии наночастиц с частицами ХЖКД ДНК возможны различные изменения решетки, такие как сдвиг холестерических плоскостей, их поворот относительно друг друга, увеличение расстояния между слоями. Все это приводит к определенным изменениям кругового дихроизма частиц ХЖКД ДНК. Задавая в пространстве соответствующие направления векторов поляризуемости диполей \mathbf{t}_i , можно теоретически изучать эти эффекты.

В частности, как показано на рис. 5, можно исследовать влияние искажения холестерической упаковки, вызванное взаимодействием наночастиц с частицами ХЖКД ДНК на оптическую активность молекулярных агрегатов. Можно предположить, что наночастица встраивается между квазинематическими слоями, уве-

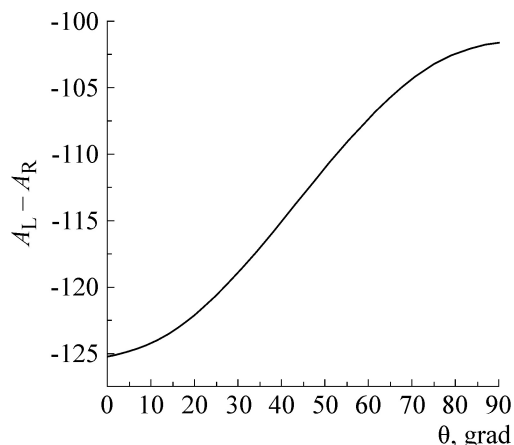


Рис. 7. Зависимость кругового дихроизма ХЖКД от угла поворота хромофоров в вертикальной плоскости. $D = 500$ нм, $P = -2500$ нм. $\Delta A = A_L - A_R$, мм; $1 \text{ мм} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ опт. ед; $c_{\text{ДНК}} = 10$ мкг/мл; $L = 1$ см.

личивая на Δd_{eff} расстояние между двумя соприкасающимися с ней слоями. (Примем при этом, что шаг холестерической структуры частицы холестерика ЖКД ДНК для ее нижней и верхней части не меняется.) При этом хромофоры в двух соприкасающихся с наночастицей слоях могут поворачиваться в вертикальной плоскости на угол θ , как это показано на рис. 6.

Рассчитанная для случая, показанного на рис. 6, зависимость величины кругового дихроизма от угла θ представлена на рис. 7. Здесь $\Delta d_{\text{eff}} = d_{\text{eff}}$, $D = 300$ нм.

Из рис. 7 видно, что изменение пространственной ориентации пар оснований ДНК в частицах ХЖКД, происходящее в результате встраивания наночастицы между квазинематическими слоями частицы ХЖКД, может приводить к уменьшению величины ее аномальной оптической активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальное исследование кругового дихроизма молекулярных агрегатов, образуемых двухцепочечными молекулами ДНК, сопоставление результатов измерений кругового дихроизма с теоретическими расчетами позволяет делать выводы о пространственной структуре частиц дисперсий, о характере упорядоченности молекул в них и о влиянии на упаковку, оказываемом наночастицами, что проявляется в изменении оптической активности рассматриваемых комплексов.

Следует отметить, что механизм влияния наночастиц на амплитуду кругового дихроизма в области поглощения азотистых оснований

может быть различным в зависимости от того, на какой стадии образования ЖКД осуществляется их воздействие. Как показывают опыты, если добавить наночастицы золота к уже образованному в результате фазового исключения из водно-солевого раствора ПЭГ частицам дисперсии, то амплитуда полосы КД уменьшается, что соответствует картине искажения холестерической упаковки, как это показано на рис. 6 и 7. Вместе с тем, если предварительно воздействовать наночастицами на ДНК и только затем провести фазовое исключение с помощью ПЭГ, интенсивная полоса КД вообще не возникает. Это можно интерпретировать как результат образования комплекса ДНК–наночастица, препятствующего упорядоченному расположению молекул в частице дисперсии и, как следствие, приводящему к исчезновению оптической активности молекулярных агрегатов

В работе [9] для расчета спектров кругового дихроизма дисперсий ДНК применялась феноменологическая модель, основанная на теории оптических свойств несовершенных поглощающих холестерических жидких кристаллов [20,21]. Дисперсии ДНК рассматривались как поликристаллические объекты с произвольной ориентацией в пространстве индивидуальных частиц. Предполагалось, что отдельные частицы дисперсии имеют достаточно малые размеры, позволяющие применить кинематическое приближение теории дифракции, а сами частицы обладают жидкокристаллической упорядоченностью, характеризуемой определенным шагом спиральной пространственной структуры. В подходе, развиваемом в настоящей работе, основанном на непосредственном решении уравнений Максвелла, отсутствует принципиальное ограничение на размеры частиц дисперсии и требование совершенства холестерической упаковки этих частиц, что дает возможность решать широкий круг задач в области изучения оптической активности молекулярных агрегатов и их комплексов с наночастицами.

Таким образом, рассматриваемая нами модель позволяет исследовать влияние различных факторов, в том числе взаимодействия с наночастицами, на пространственную упаковку молекул ДНК в ХЖКД и на оптические свойства жидкокристаллических дисперсий ДНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ю. М. Евдокимов, В. И. Салыанов, С. В. Семенов и С. Г. Скуридин, *Жидкокристаллические дисперсии и наноконструкции ДНК* (Радиотехника, М., 2008); Yu. M. Yevdokimov, V. I. Salyanov, S. V. Semenov, and S. G. Skuridin, *DNA Liquid-Crystalline Dispersions and Nanoconstructions* (CRC Press, Boca Raton, London, N.Y. 2011).
2. Z. Dogic, D. Frenkel, and S. Fraden, *Phys. Rev. E.* **62** (3), 3925 (2000).
3. F. D. Saeva, P. E. Sharpe, and G. R. Olin, *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 7656 (1973).
4. F. D. Saeva, *Liquid crystals and ordered fluids*, Ed. by J. J. Johnson and R. S. Porter (Plenum Press, N.Y., 1974), Vol. 2, pp. 581–592.
5. F. Sackmann and J. Voss, *Chem. Phys. Lett.* **14**, 528 (1972).
6. G. Holzwarth and N. A. W. Holzwarth, *J. Opt. Soc. Amer.* **63**, 324 (1973).
7. G. P. Spada, P. Brigidi, and G. J. Gottarelli, *Chem. Soc. Chem. Commun.* **14**, 953 (1988).
8. Yu. M. Yevdokimov, V. I. Salyanov, S. G. Skuridin, et al., *The CD Spectra of Double-Stranded DNA Liquid Crystalline Dispersions* (Nova Science Publishers, N.Y., 2011).
9. V. A. Belyakov, V. P. Orlov, S. V. Semenov, et al., *Liq. Cryst.* **20**, 777 (1996).
10. Ю. М. Евдокимов, В. И. Салыанов, Э. В. Штыкова и др., *Вестн. РАН* **84** (6), 694 (2014).
11. Ю. М. Евдокимов и О. Н. Компанец, *Успехи физ. наук* **184** (6), 665 (2014).
12. O. Stamatoiu, J. Mirzaei, X. Feng, and T. Hegmann, *Top. Curr. Chem.* **318**, 331 (2012).
13. Yu. M. Yevdokimov, S. G. Skuridin, and V. I. Salyanov, *Liq. Cryst.* **3**, 1443 (1988).
14. Ю. М. Евдокимов, *Вестн. РАН* **73**, 712 (2003).
15. D. Keller and C. Bustamante, *J. Chem. Phys.* **84**, 2961 (1986).
16. D. Keller and C. Bustamante, *J. Chem. Phys.* **84**, 2972 (1986).
17. M.-H. Kim, L. Ulibarri, D. Keller, and C. Bustamante, *J. Chem. Phys.* **84**, 2981 (1986).
18. J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics*, 3rd ed. (Wiley, N.Y., 1998).
19. A. Kuzyk, R. Schreiber, Z. Fan, et al., *Nature* **483**, 311 (2012).
20. В. А. Беляков и А. С. Сонин, *Оптика холестерических жидких кристаллов* (Наука, М., 1983).
21. В. А. Беляков, Е. И. Демихов, В. Е. Дмитриенко и В. К. Долганов, *Журн. эксперим. и теорет. физики* **83** (6), 2035 (1985).

Circular Dichroism of DNA Liquid-Crystalline Dispersion Particles

S.V. Semenov* and Yu.M. Yevdokimov**

**National Research Centre “Kurchatov Institute”, pl. Kurchatova 1, Moscow, 123182 Russia*

***Engelgardt Institute for Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia*

The optical activity of DNA liquid-crystalline dispersions is being investigated based on a theory for absorption of electromagnetic waves by large molecular aggregates. The impact on the dispersions-optical properties, exerted by the interaction between the complexes of nucleic acid molecules and nanoparticles, is being considered.

Key words: liquid-crystalline dispersions, cholesteric, circular dichroism, nanoparticles