

I. Самоорганизация в растворах хиральных молекул.

1. Пептидные лекты.
2. Фибриллы.
3. Кинетики.
4. Амилоидные фибриллы.
5. Закругленные агрегаты повсюду.

II. Структуры в нерегулярных нуклеиновых кислотах сополимерах.

Collaboration:

I. A. Nyrkova		Dept. of Applied Maths.
A. V. Subbotin		U. of Leeds
A. E. Likhtman		

A. Aggeli		SOMS Centre
N. Boden		School of Chemistry
		U. of Leeds

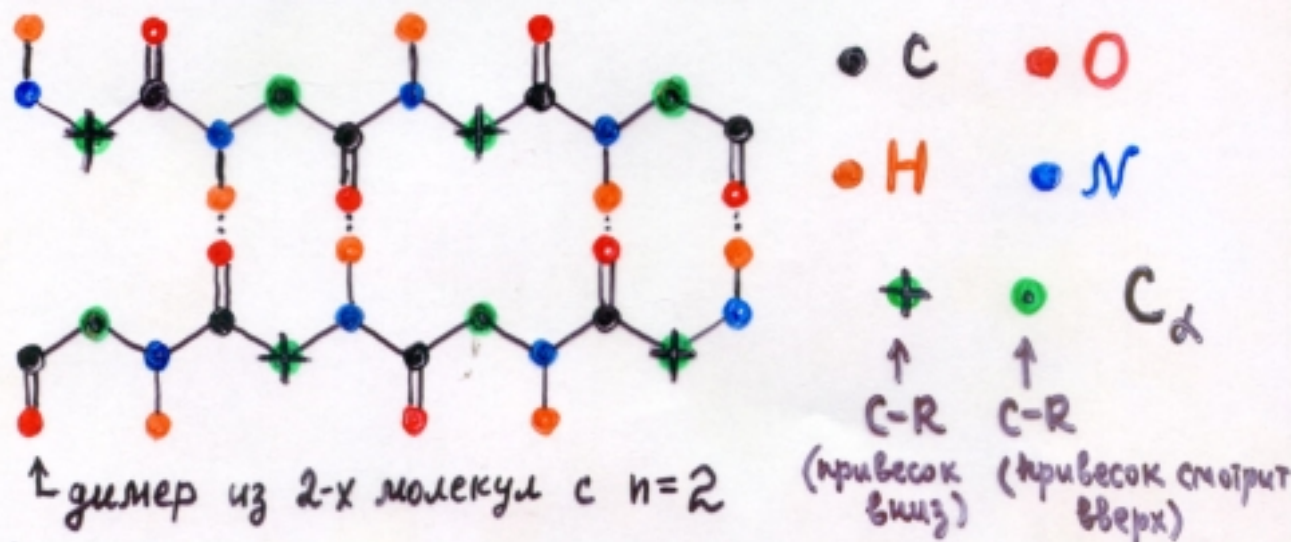
I. Самоорганизация в системах хиральных молекул.

1. Пептидные ленты

Семейство пептидных олигомеров ($n=9-27$), самособирающихся в очень длинные ($L \gg 1 \mu m$) "цепи", уже при концентрациях $< 100 \mu M$ ($\Phi < 10^{-6}$)

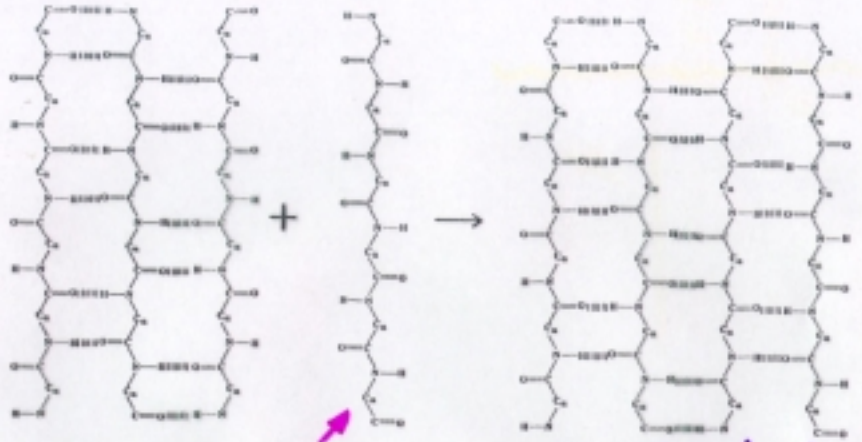
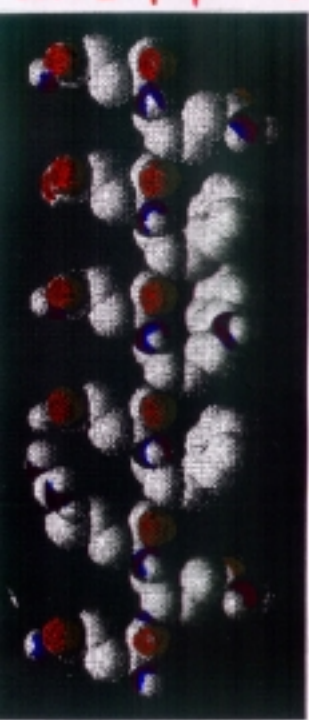
[SOMS centre, Univ. of Leeds, UK,
A. Aggeli, N. Boden et al: эксперименты 1994 ÷ ... годов]
[Nature, 1997, v. 386, p. 259]

Эти цепи имеют структуру классич. β -плоскости т.е. стабилизированы множественными водородными связями и притяжением между боковыми группами:



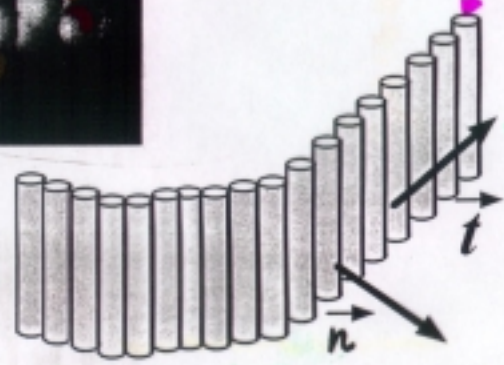
Первичная структура олигопептидов выбирается с учётом растворителя в котором они должны образовывать цепи (вода, метанол, хлор-этанол, ...)
Кроме простых цепей наблюдаются более толстые цепи, гели и др.

DN1 peptide (n=11)

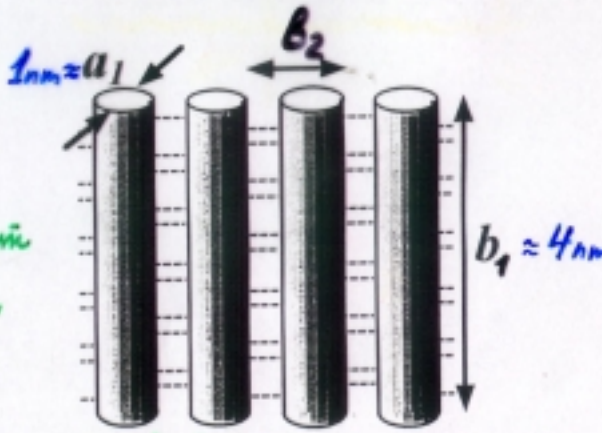


1 peptide molecule

β -sheet tape

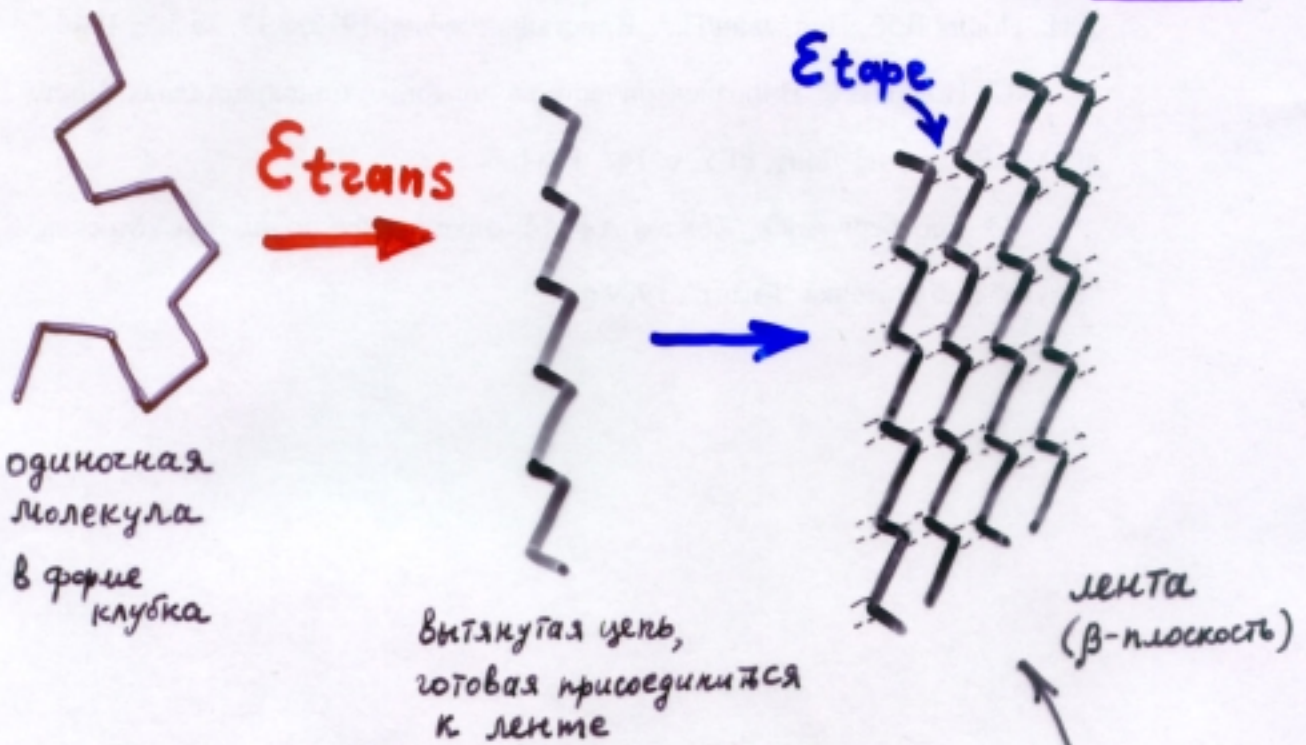


Цепь выглядит как "лента"



Лептис DN1 (n=11) образует длинную цепь-ленту в воде

Образование одичарной β -плоскостной ленты



$\epsilon_{trans} > 0 \Rightarrow$ одиночная цепь в вытянутом состоянии — не стабильна

Цепи, объединённые в ленту, — стабильны

$$\epsilon_{tape} > \epsilon_{trans}$$

Образование одиночной ленты контролируется 2-мя энергетическими параметрами

Данные из экспериментов:

\neq "far UV-CD spectroscopy" — даёт $f_{\beta}(c)$, концентрационную зависимость доли молекул в лентах

\neq микрофотографии (TEM, AFM) — дают оценки для длины лент и их геометрических параметров

Подгонка модели односторонней ленты к данным CD спектроскопии приводит к значению параметра $E_{trans} \approx 4.6$. Это соответствует длине ленты $\langle m \rangle \approx 20$. Однако наблюдаемая длина $\langle m \rangle > 2000$ молекул в ленте:

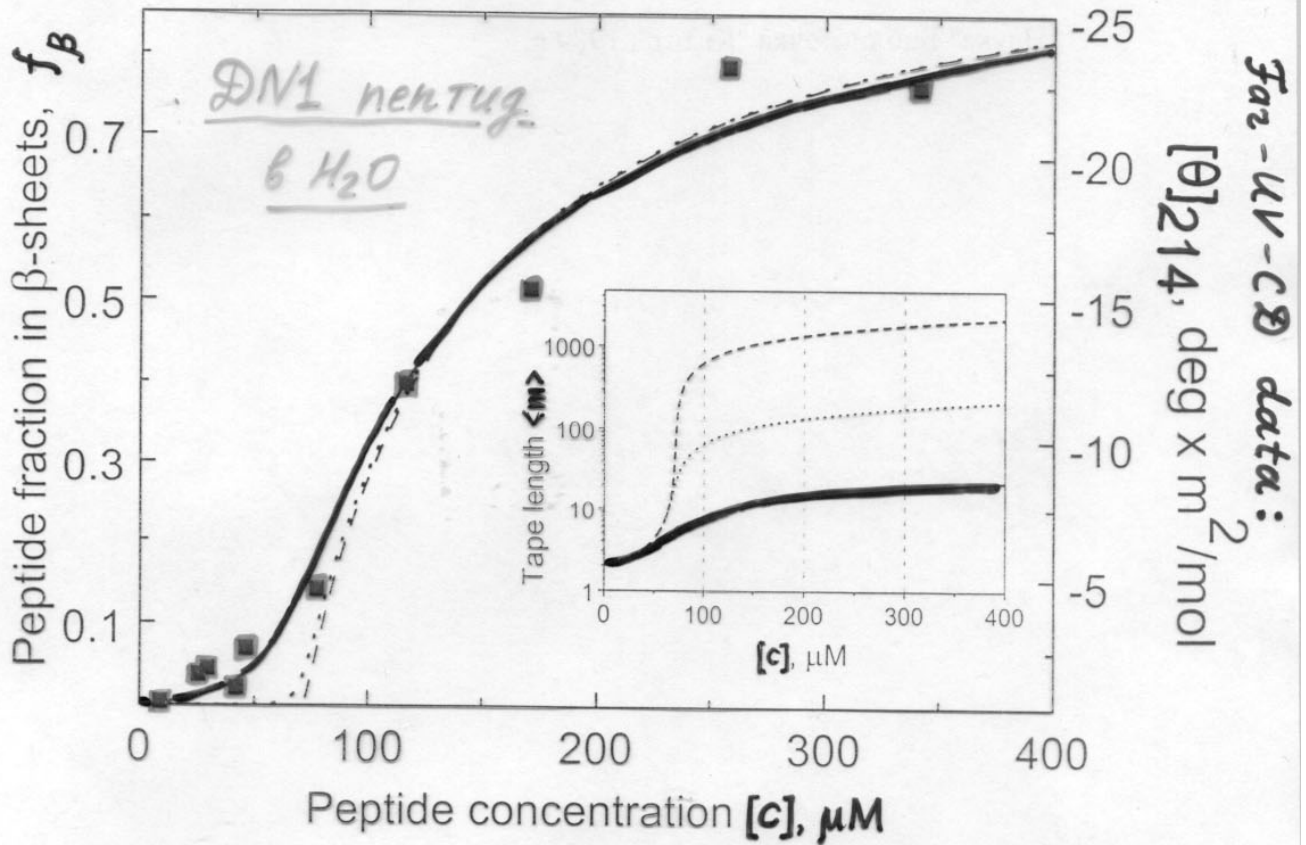


Fig.6

— $E_{trans} = 4.6$ (в кВТ)

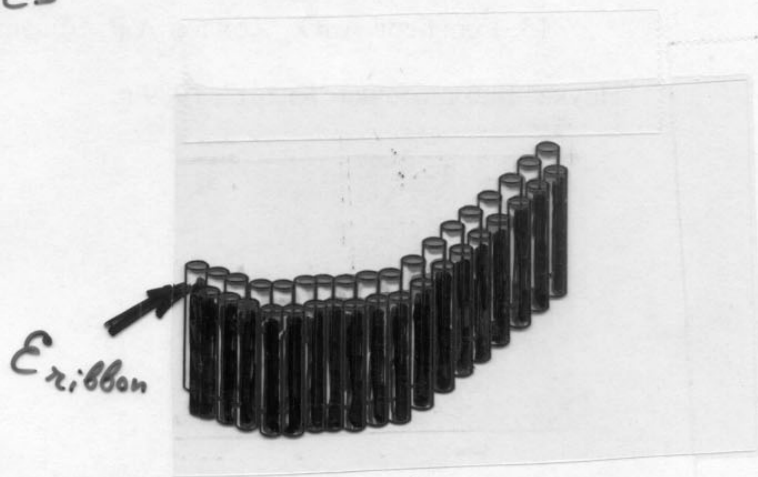
..... $E_{trans} = 9.2$

----- $E_{trans} = 13.8$

Для получения в модели цепей с $\langle m \rangle > 10^3$ необходимо положить: $E_{trans} > 13$ кВТ, а это противоречит CD данным!

Вывод: наблюдаемые цепи имеют структуру более сложную, чем классич. β -плоскость.

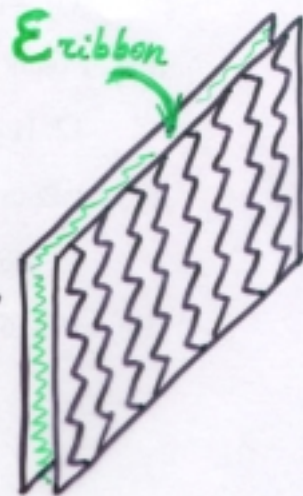
Way out :
double tapes
(ribbons)



face-to-face attraction between
two tapes ;
one face of the tape is less
soluble than the other

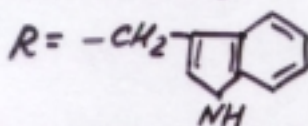
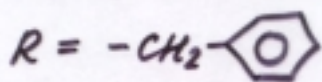
Выход из противоречия:

образование **двойных лент**



В антипараллельной β -плоскости (одиночной ленте) стороны неэквивалентны: одна более гидрофобная, чем другая.

Напр., в пептиде $\beta N1$ одна из сторон ленты выстлана боковыми цепочками, содержащими сильно гидрофобные группы (2 фенилаланина и 1 триптофан)



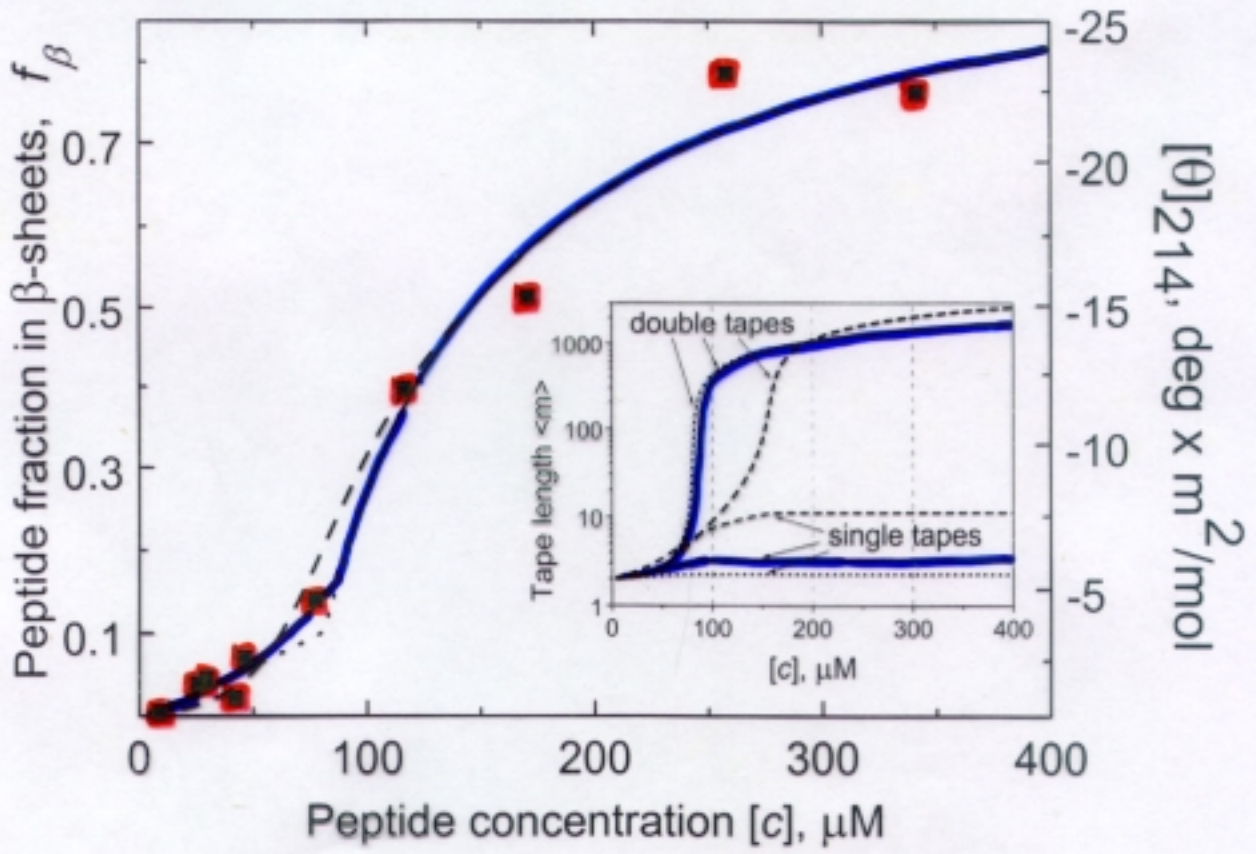
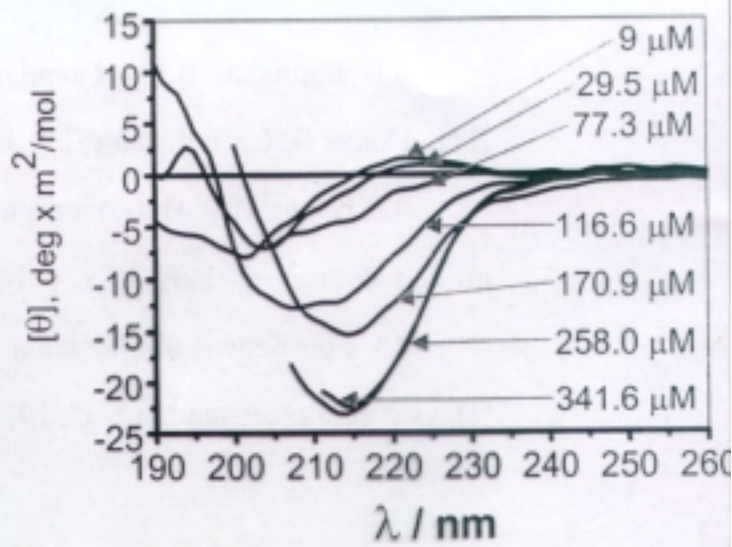
Очевидна тенденция к сдвиганию в двойные ленты, через гидрофобные стороны.

Двойная лента имеет удвоенную энергию разрыва \Rightarrow гораздо более длинные цепи.

Однако начальной участок $f_{\beta}(c)$ контролируется короткими одиночными лентами.

т.о. удаётся воспроизвести одновременно:
и СД зависимость уже $f_{\beta}(c)$,
и длину наблюдаемых лент в области $c > c_*$

Предположение о двойном характере лент, наблюдаемых в рнах $\beta N1$ при $c = 100 - 500 \mu\text{M}$ подтверждаются значениями наблюдаемой толщины (AFM) и отношения масса/длина (нейтральное расщепление)

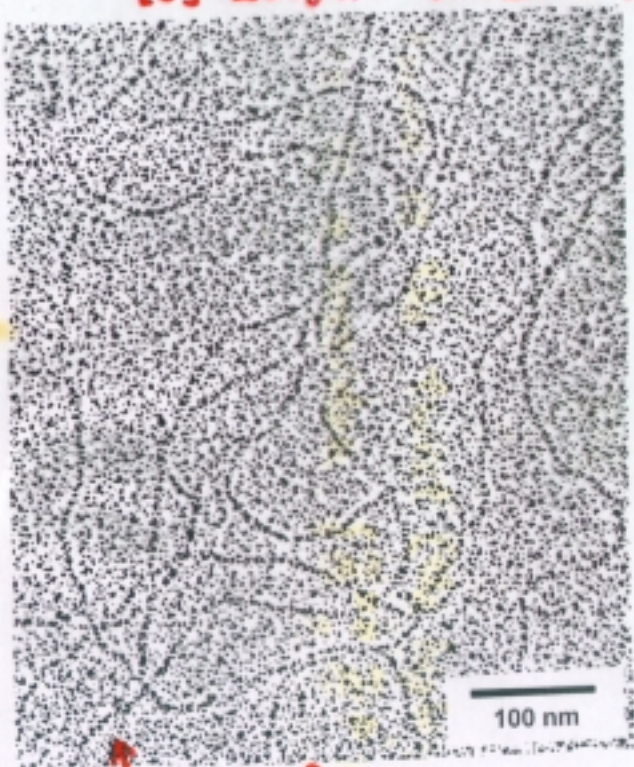


$\epsilon_{tz} = 3$, $\epsilon_{\beta} + \ln(\nu_{\beta}/\text{\AA}^3) = 19.3$, $\epsilon_{dble} = 1.2$
 \uparrow ϵ_{tzans} \uparrow ϵ_{tape} \uparrow ϵ_{ribbon}

Water solutions of DN1 peptide

ribbons (double tapes)

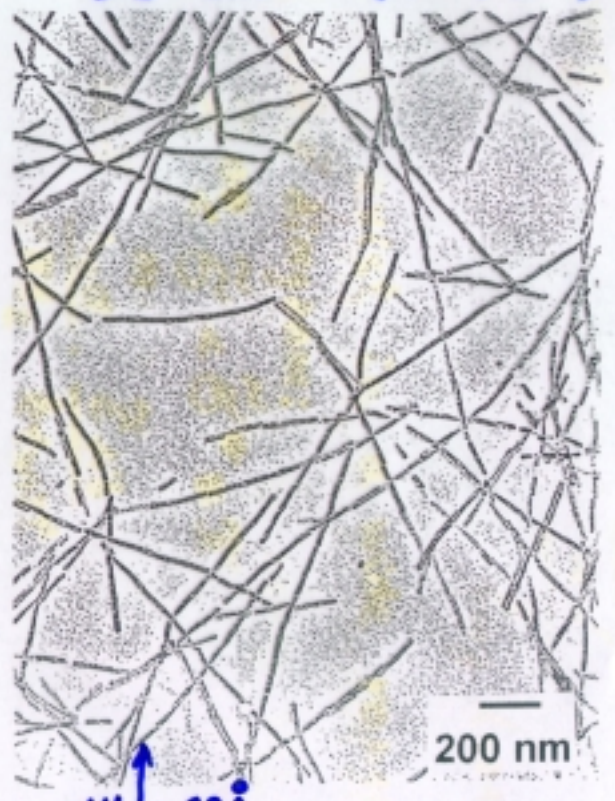
$[C] = 200 \mu\text{M}$ ($\Phi \approx 2.5 \cdot 10^{-4}$)



width = 20-40 Å
pers. length $\approx 1 \mu\text{m}$

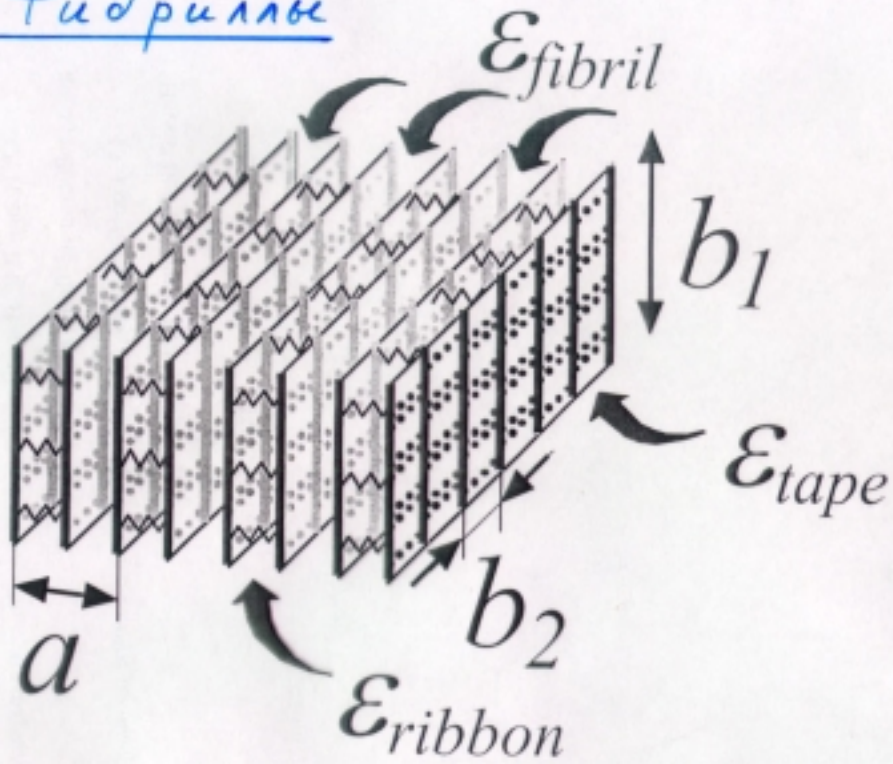
fibrils (4 ribbons)

$[C] = 6 \text{mM}$ ($\Phi \approx 7 \cdot 10^{-3}$)

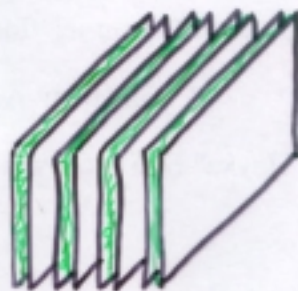


width = 80 Å
pers. length $\sim 20-70 \mu\text{m}$

2. Фибриллы



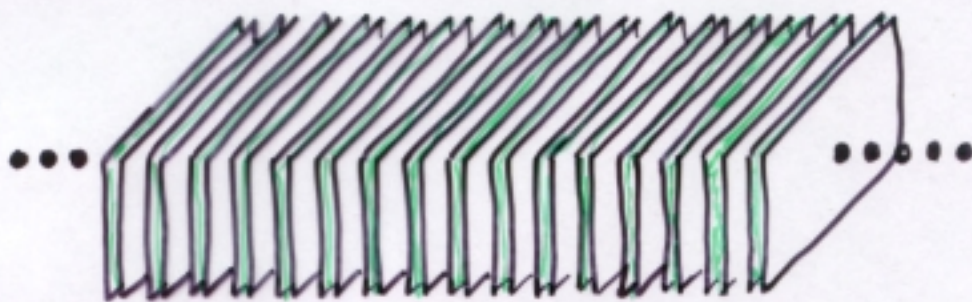
Внешние стороны двойных лент тоже могут
взаимно притягиваться, тем самым формируется
стопка лент - "слоёный пирог":



Почему толщина стопок мала?

Энтропийные потери меньше, когда лента присоединяется
к стопке, чем когда объединяются 2 ленты.

⇒ Если началось сшивание двойных лент, они должны
образовывать ∞ агрегаты и вытасать в осадок!



А на TEM и AFM фотографиях при $c > 600 \text{ мМ}$
пептид DNI в воде образует толстые, но компактные стопки
(толщина - ок. 8 одинарных лент).

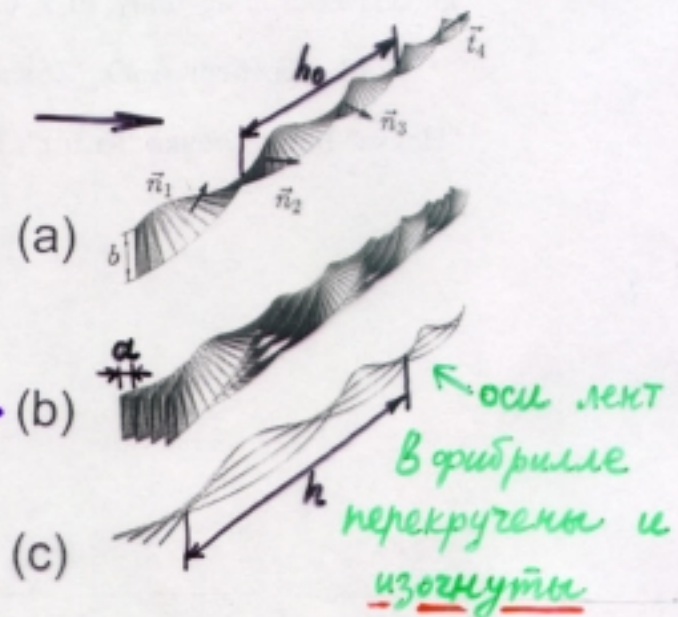
Более того, толщина стопок ("фибрилл")
практически монодисперсна.

Почему?

Объяснение парадокса толщины фибрилл в хиральности исходного пептида

⇒ Ленты получаются закругленными

⇒ При образовании фибрилл ленты вынуждены обкручиваться друг вокруг друга



Чем толще фибрилла, тем сильнее изогнуты ленты ⇒ больше стоимость упругой энергии

Это и стабилизирует толщину фибрилл!

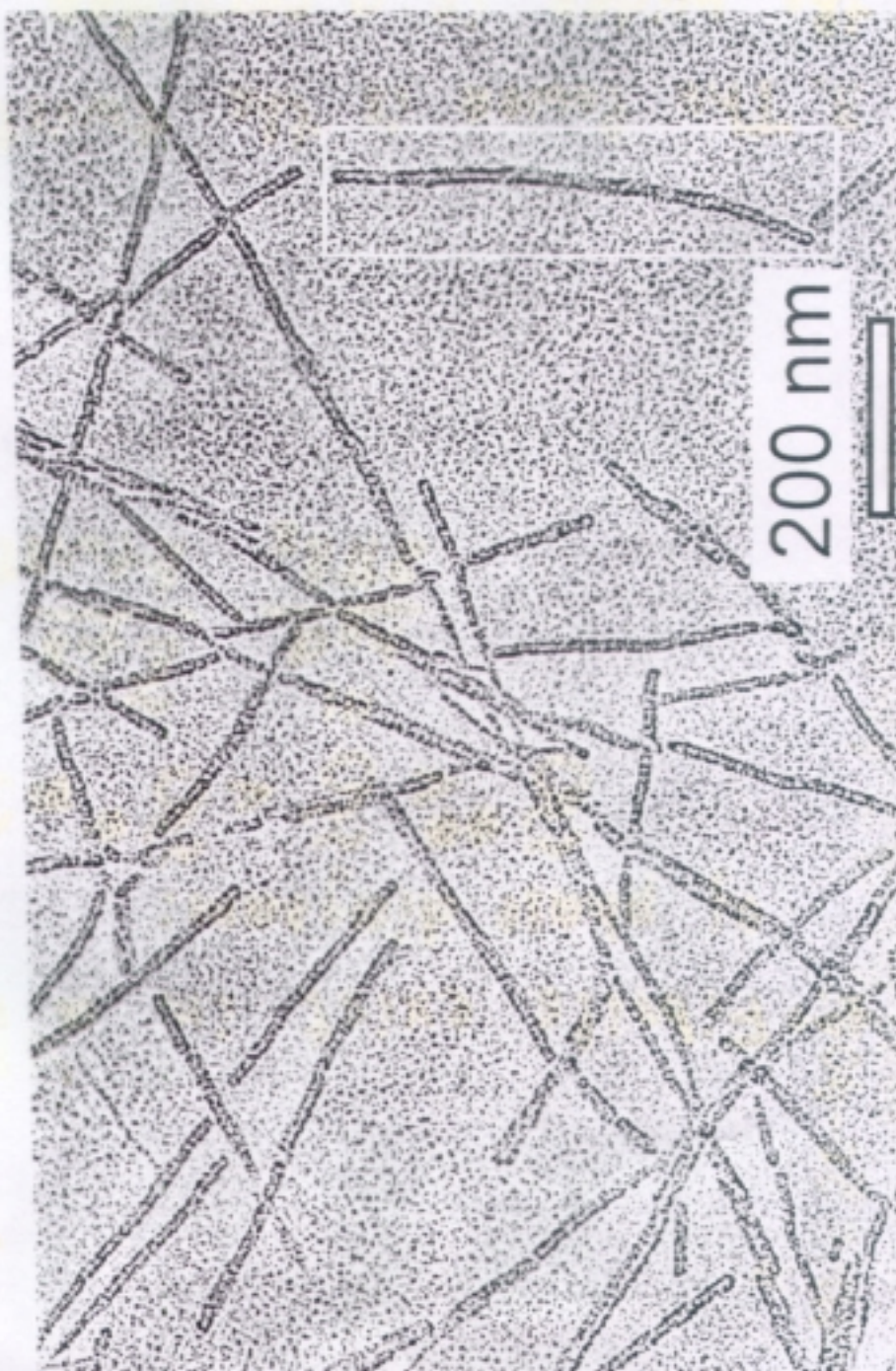
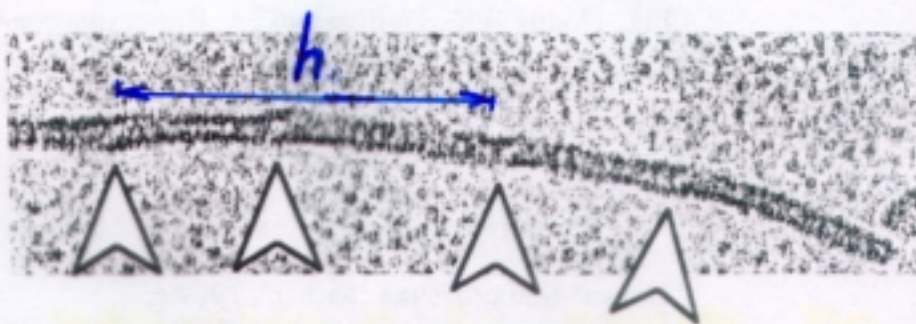
Толщина равновесных фибрилл определяется периодом исходных лент и силой их притяжения

Теория: ленты - упругие объекты (кванд«k twist»),
закругленные с периодом h_0 и
взаимо-притягивающиеся (энергия E_{fib}
на ед. площади)

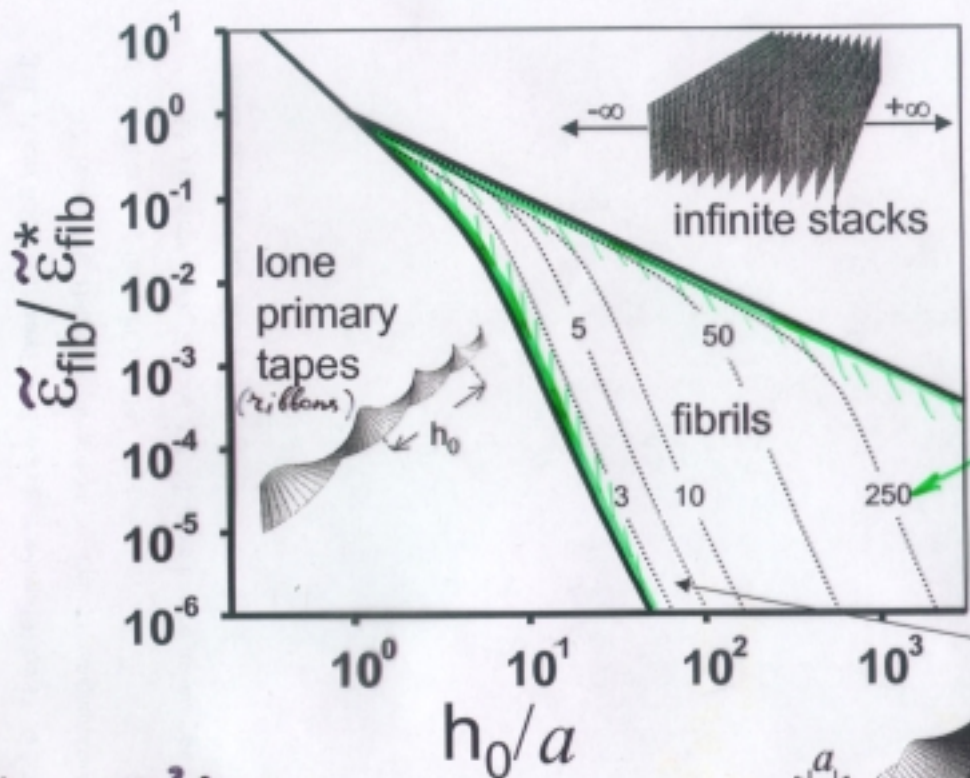
↓

Фазовая диаграмма

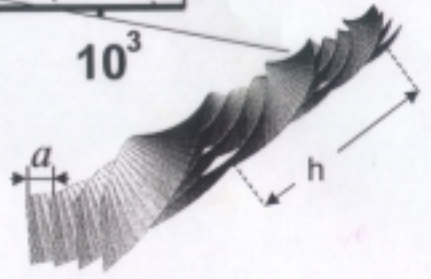
TEM image
of a fibril;
twist step h ;
 $p=4$ ribbons
per fibril



$$\frac{k_{\text{bend}}}{k_{\text{twist}}} = 0.1$$

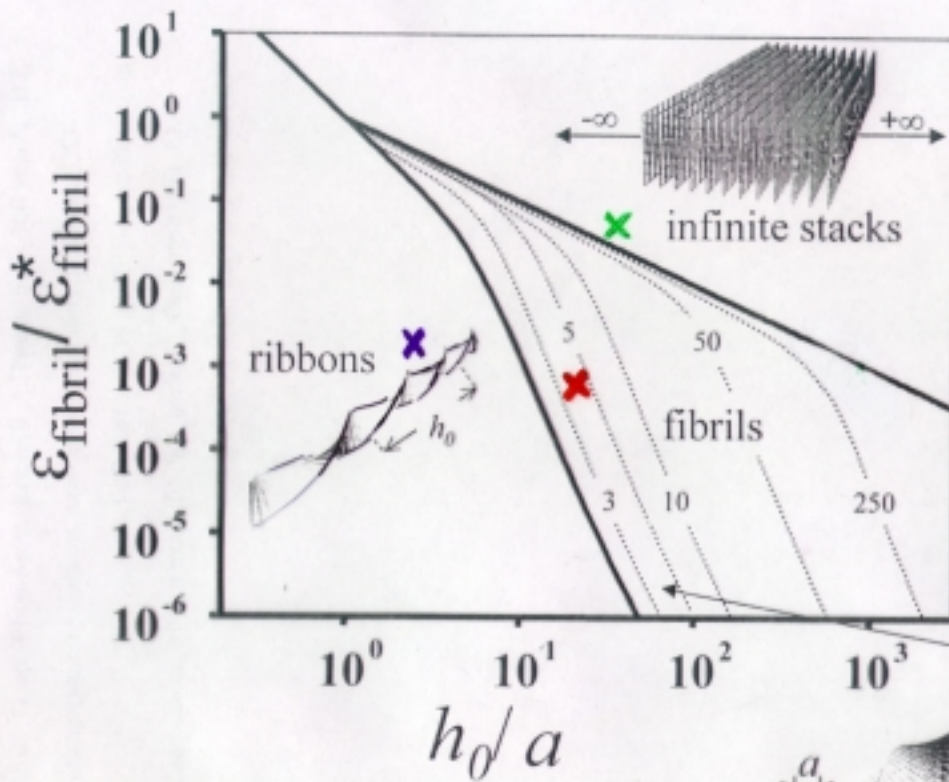


p , number of tapes per fibril



$$\tilde{\epsilon}_{\text{fib}}^* \equiv \frac{2\pi^2 b_2}{a^2} k_{\text{twist}}$$

Пептиды, синтезированные в Лидсе:
[SOMS, Univ. of Leeds]

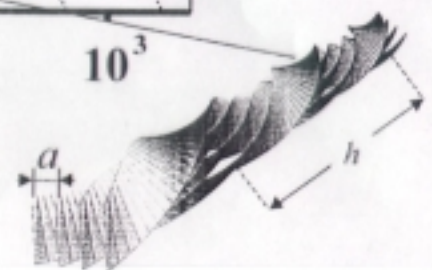


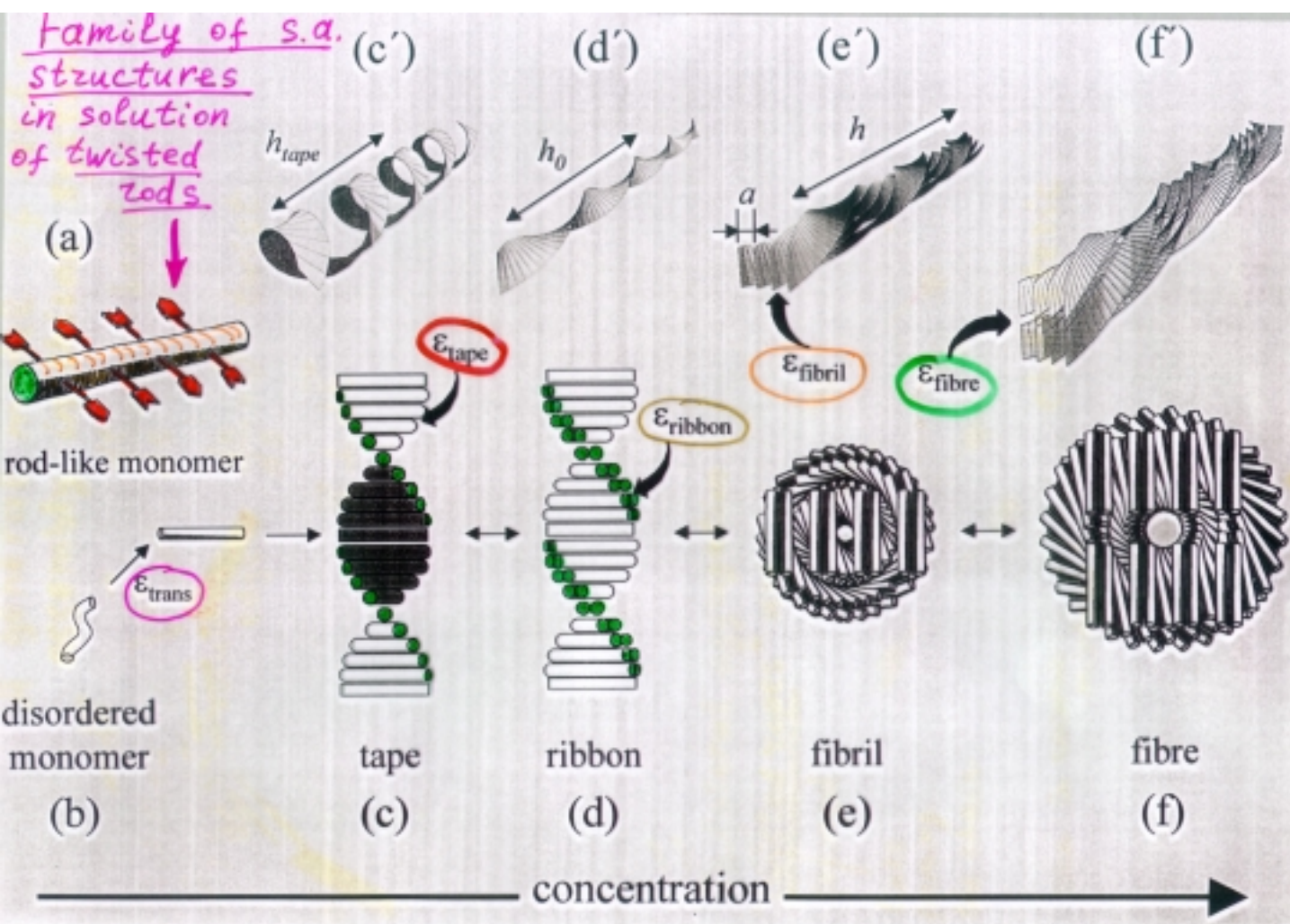
DN1 - обр. стабильное
фибрилла

DN1-3Q - есть
только двойные
фибриллы и
ленты

DN1-2E - образуется
очень широкие
крайние ленты - толстые
стенки (фибриллы)

Серия этих пептидов
различается только
природой бок. кристаллов





3. Kinetics

fibril formation is very slow

1) high energies involved ($E_{\text{tape}} \sim 25 k_B T$,
scission energy)

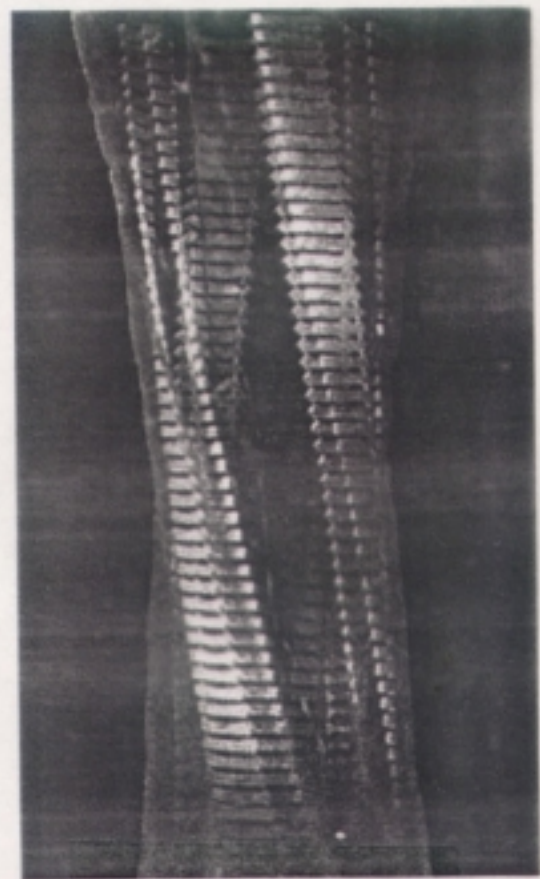
2) Inter-twisted tapes and ribbons

aged fibrils are extremely long
and extremely stable

4. Amyloid fibrils

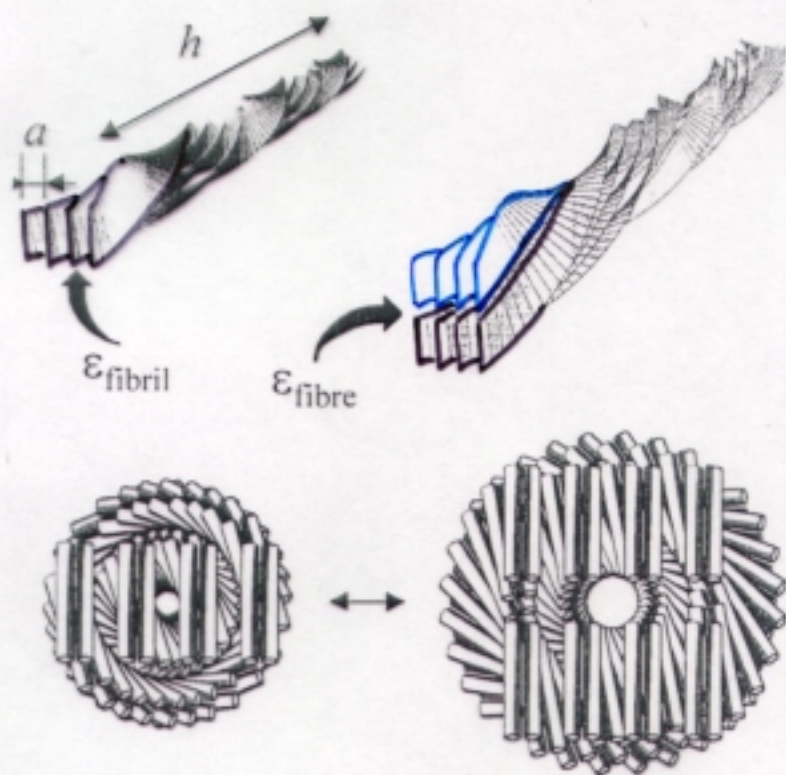
Are proteins capable of forming β -sheet tape structures?

Yes, even " α -helical" proteins can aggregate and form amyloid fibrils



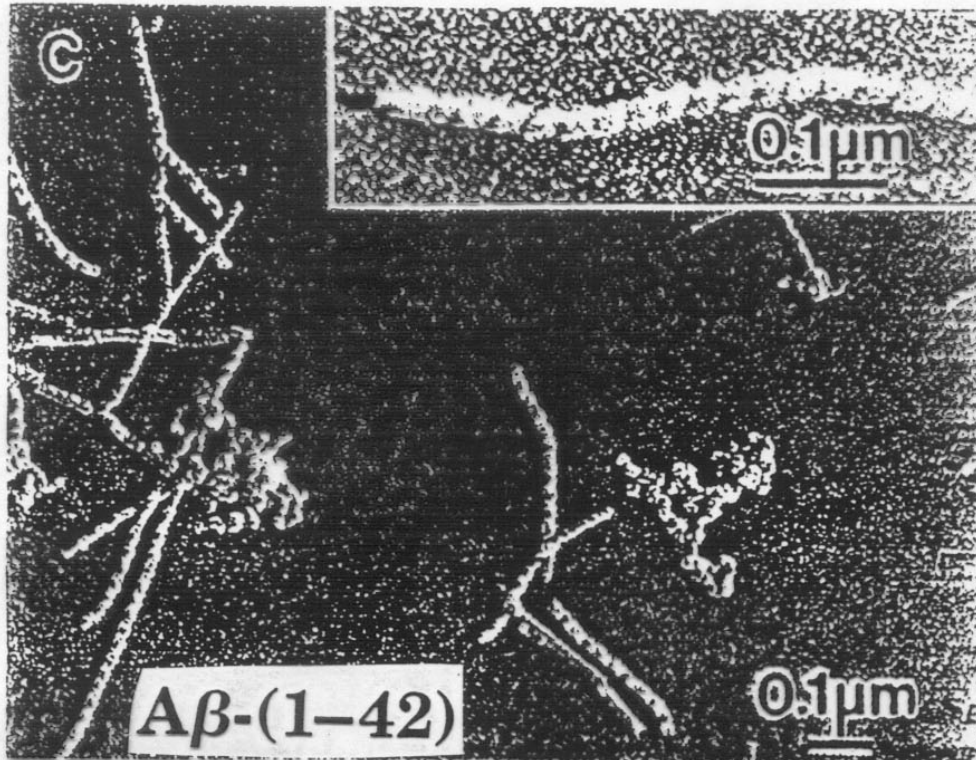
struct. model of
an amyloid fibril
formed by the
SH3 domain

- Amyloid fibrils are similar to model fibril/fibre structures



- protein misfolding
- neurodegenerative diseases
Alzheimer's, Parkinson's, prion ...
amyloidosis

Alzheimer's Disease

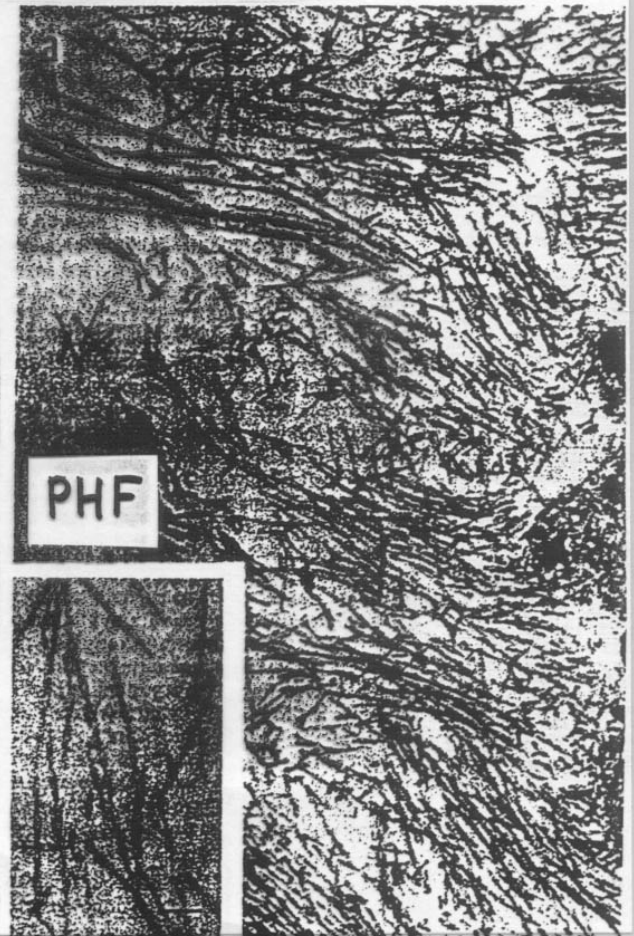
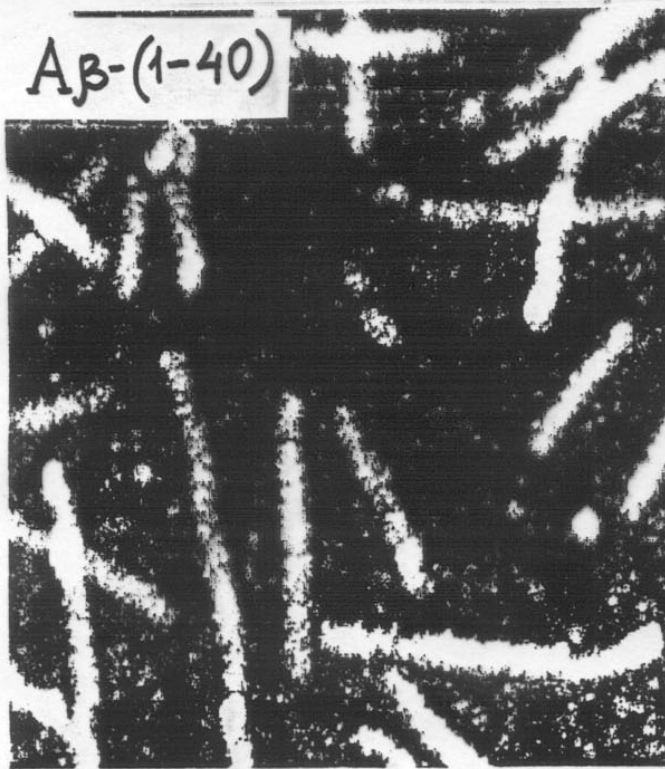


A.E. Roher et al
J. Biological Chemistry,
1996, v.271,
pp.20631-35.

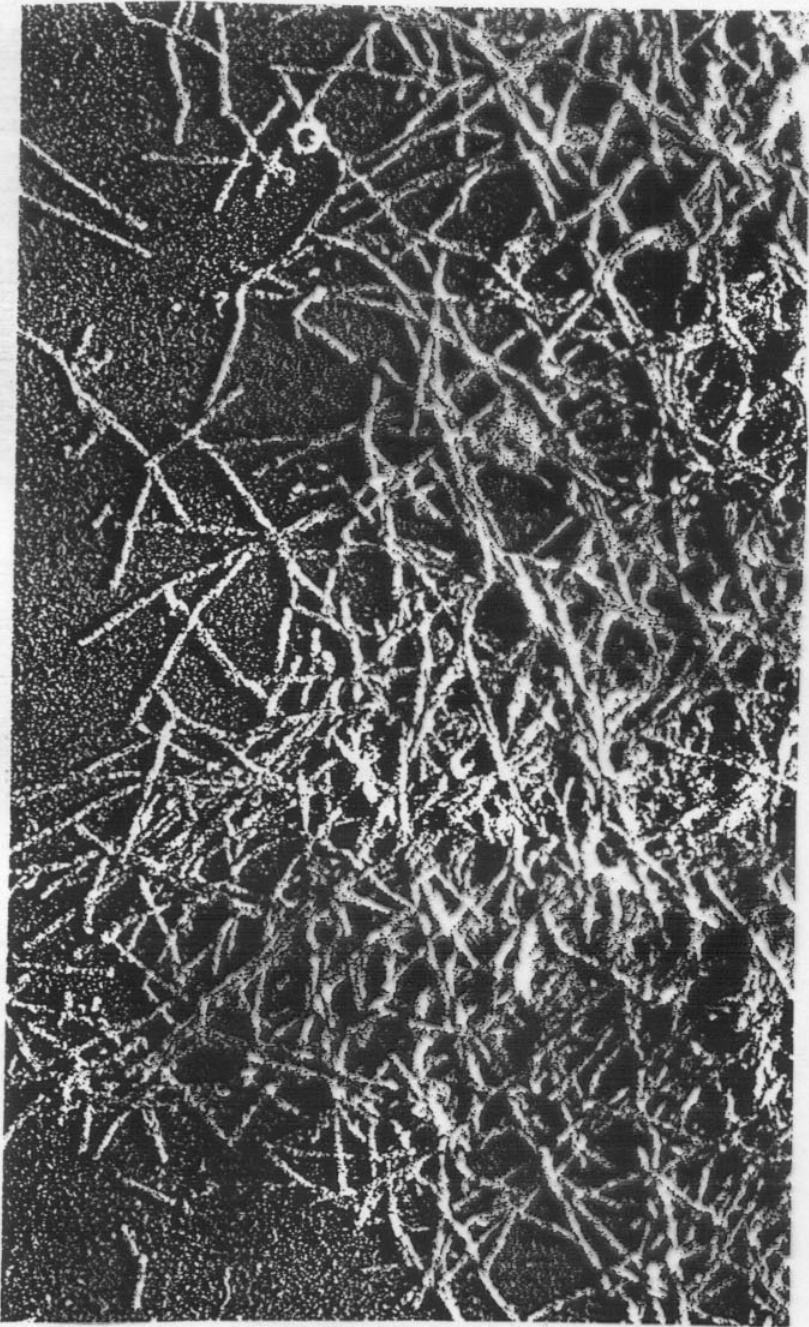
←

D.A. Kirschner
et al
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986,
v.83, pp. 503-507

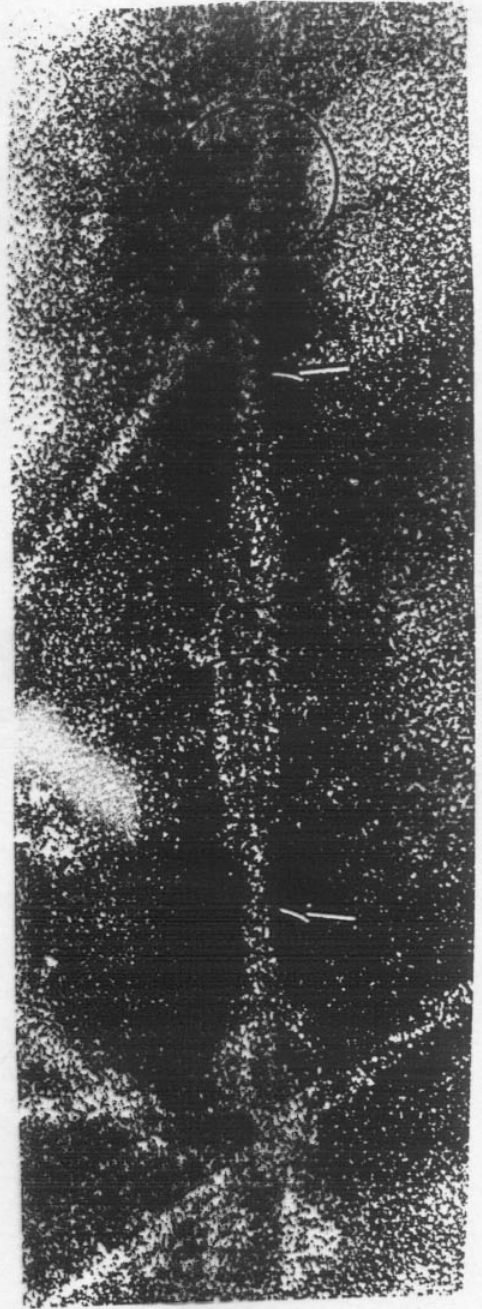
↓



A.P. Shivji et al,
Fed. of European Biochem. Soc. Letters,
1995, v.371, pp.25-28



200nm

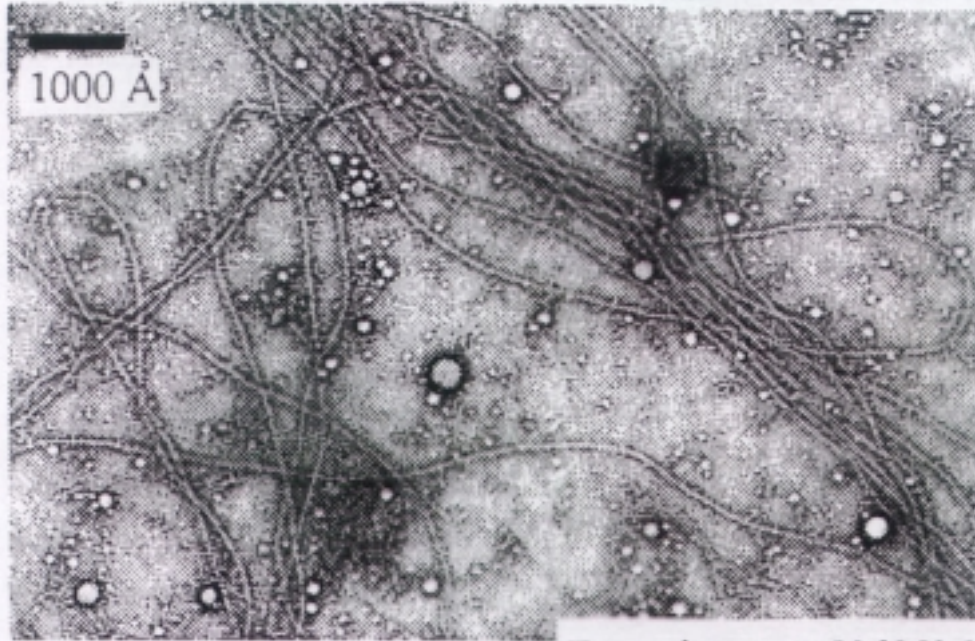


50nm

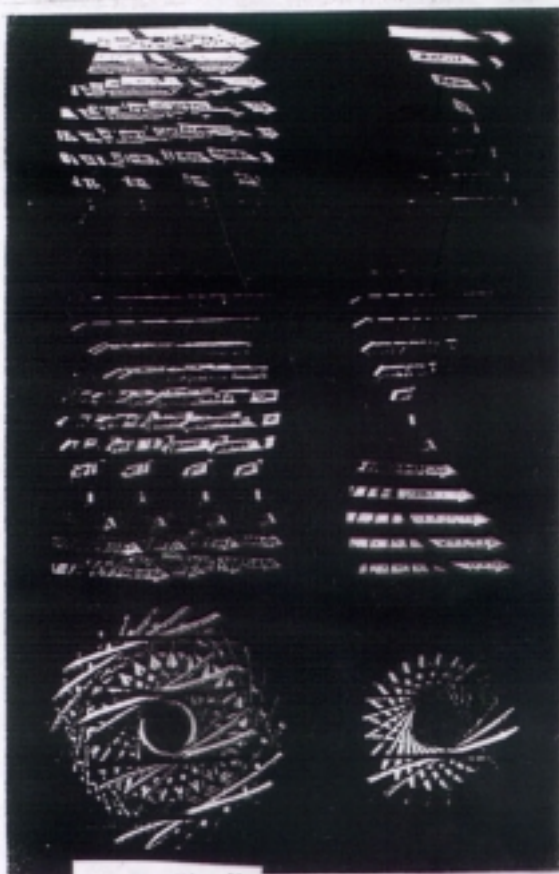
amyloid fibrils in thin tissue sections (spleens and livers)

[T. Shirahama & A. S. Cohen
J. of Cell Biology, 1967, v. 33, pp. 679-708]

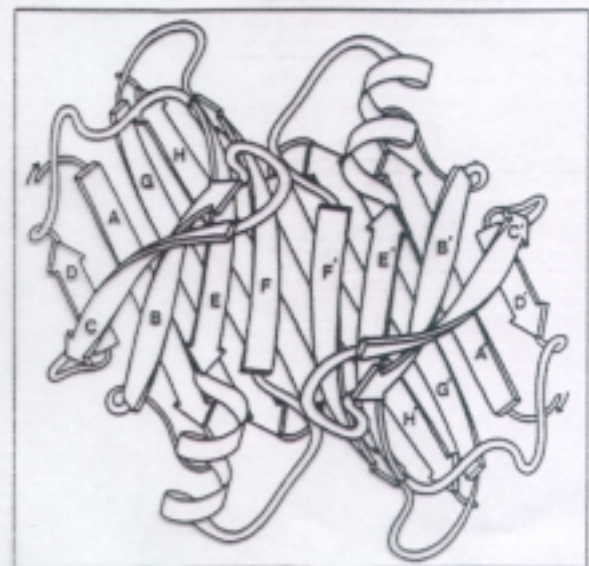
The structure of amyloid fibrils from patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP), which are derived from transthyretin (TTR) variants



Transthyretin Val30Met amyloid fibrils.



FAP fibril



native tetramer.

[L.C. Serpell et al, *J. Mol. Biol.* (1995), v. 254, pp. 113-118]
[C. Blake & L. Serpell, *Structure* (1996), v. 4, pp. 989-998]

5. Twisted aggregates everywhere

just a few examples

Sickle-Cell Anemia

mutation in hemoglobin protein
 ↓
 extra lateral attraction
 ↓
fibres destroying erythrocyte →



FIGURE 9-24. An electron micrograph of deoxyHbS fibers spilling out of a ruptured erythrocyte.

$h = 700 \text{ \AA}$, $D = 220 \text{ \AA}$

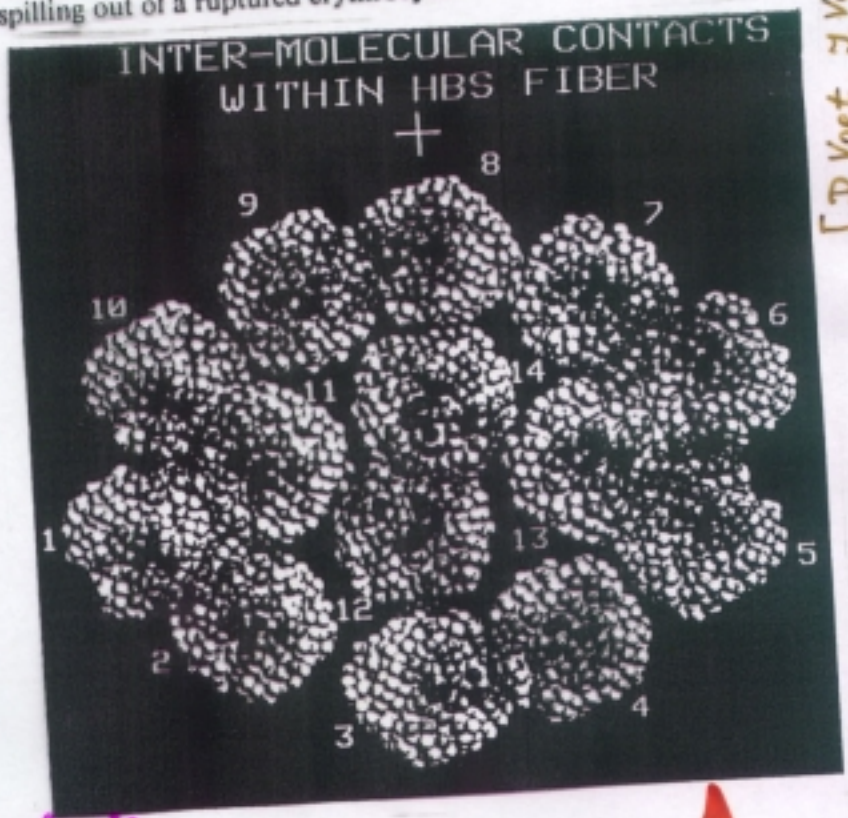


FIGURE 9-25. 220 Å in diameter fibers of deoxyHbS: (a) An electron micrograph of a negatively stained fiber.

(b) A model, viewed in cross-section, of the HbS fiber based on the crystal structure of HbS and three-dimensional reconstructions of electron micrographs of HbS fibers.

14 HbS chains intertwist to form the fibre

10% of American blacks }
 25% of African blacks } are heterozygotes for HbS

[D Voet, J Voet "Biochemistry" (1995), p. 237]

Cellulose:

forms **cystallites (microfibrils)** which are the basic structure for **native cellulose.**

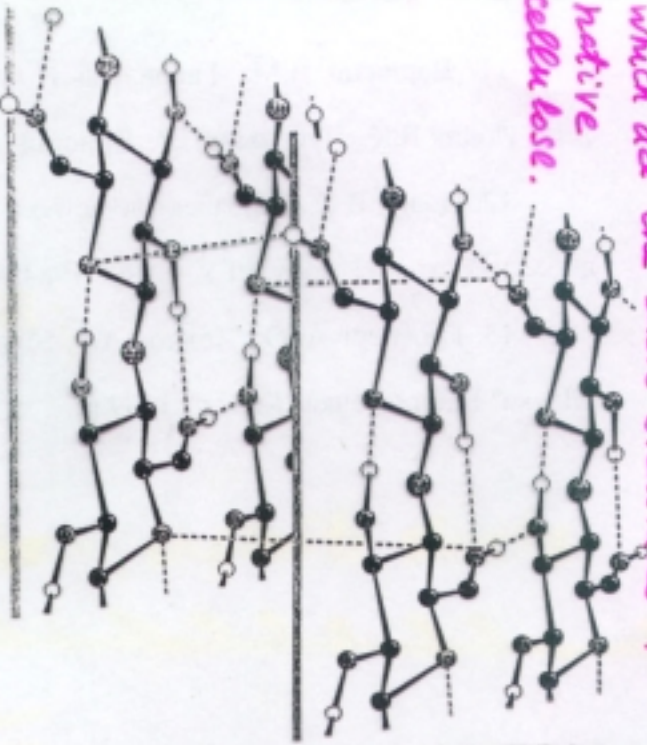


FIGURE 10-12. A proposed structural model of cellulose. Cellulose fibers consist of ~40 parallel glucose chains arranged in an extended fashion. Each of the β -D-glucopyranose units in a chain is turned over with respect to its preceding residue and is held in this position by intrachain hydrogen bonds (dashed lines). The glucose chains line up vertically to form

sheets and these sheets stack vertically such that they are staggered by one half the length of a glucose unit. The entire assembly is stabilized by intermolecular hydrogen bonds between glucose units of neighboring chains. Hydrogen atoms not participating in hydrogen bonds have been omitted for clarity.

Figure 3 Transmission electron micrograph of a dispersion of the colloidal cellulose crystallites

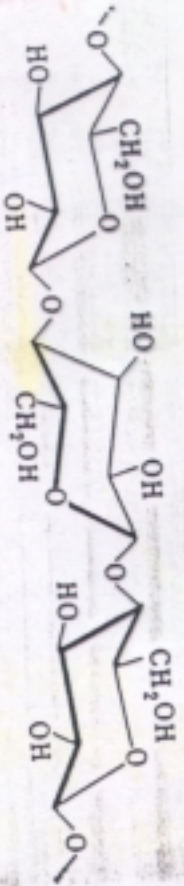
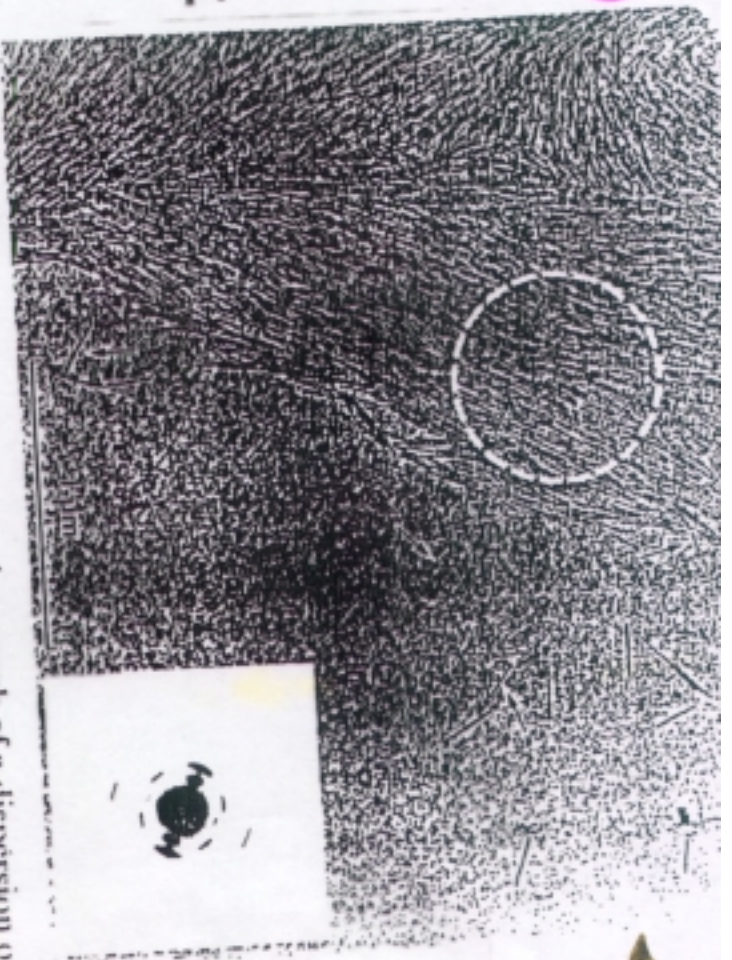
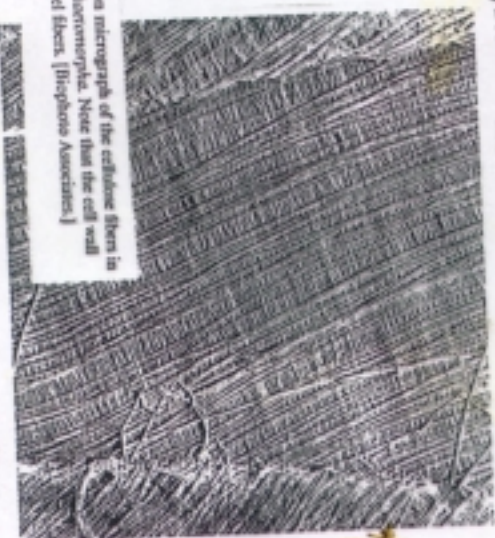


FIGURE 10-13. Electron micrograph of the cellulose fibers in the cell wall of the alga *Chara torquata*. Note that the cell wall consists of layers of parallel fibers. [Rhephos Associates.]



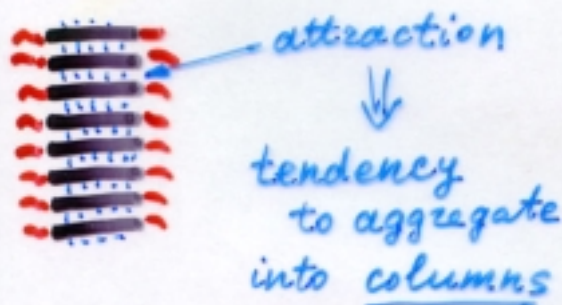
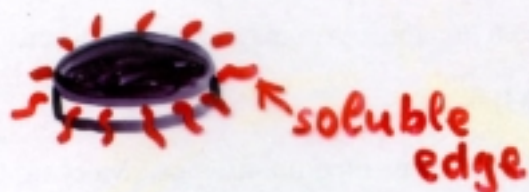
cystallites form cholesteric phases

D ~ 5nm
L ~ 100 - 200 nm



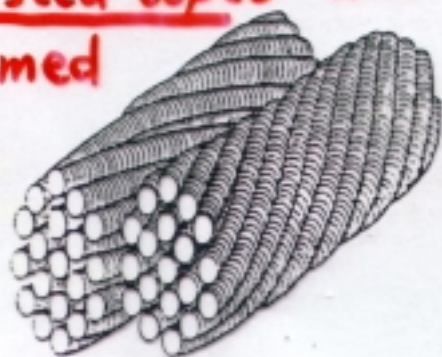
[J.F. Revol et al
Int. J. Biol. Macromol.
1992, v. 14, p. 170]

Chromonics



The columns are twisted if the molecules are chiral.

In lateral aggregation "twisted ropes" are formed



even in racemic mixtures!

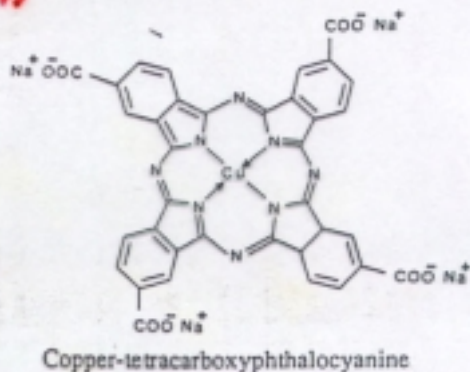
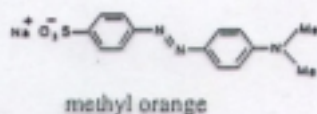
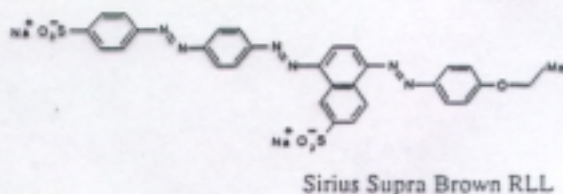
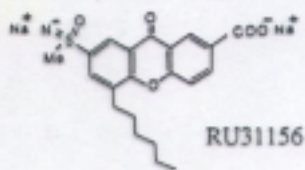
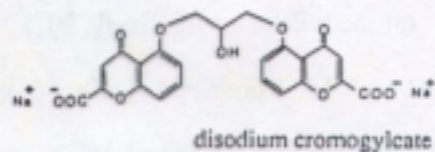


Figure 1. A selection of chromonic molecules: The antiasthmatic drug, disodium cromoglycate (DSCG), the antiallergic drug RU 31 156, the dye, Sirius Supra Brown RLL, the dye, methyl orange, and copper tetracarboxyphthalocyanine.

Among chromonics: drugs, dyes, nucleic acids, antibiotics, carcinogens, anti-cancer agents

Conclusions.

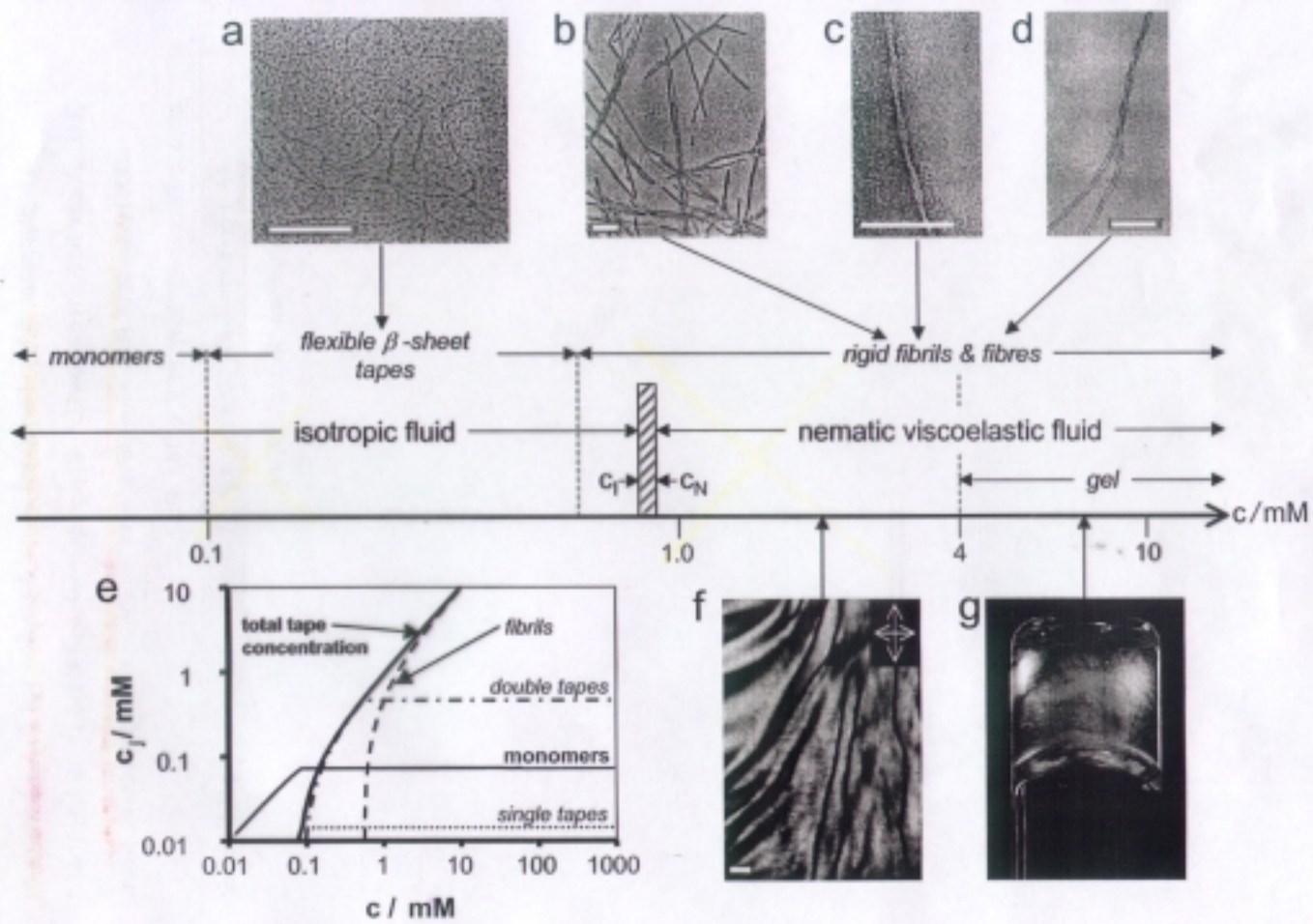
1. Rationally designed oligo-peptides:

- A lot of self-assembling filament structures (twisted fibrils) predicted / observed.

- Many tape / fibril parameters obtained

(tape scission energy, persistence length, intrinsic twist ...)

PNAS, 2001, v. 98, p. 11857



2. Some insight into the nature of amyloidosis (amyloid fibrils, protein misfolding)

3. Stabilization by twist:
a novel mechanism controlling aggregation of chiral molecules.

II. Структуры в нерегулярных мультимерных блоках сополимерах.

A B A B A B A B A

регулярный

—————

нерегулярный

Мотивация:

- (1) синтетические полимеры (поги) всегда нерегулярны (полидисперсность блоков)
- (2) Биополимеры (напр. белки) подобны нерегулярным сополимерам по химич. структуре (protein-like copolymers как моделю белков)

• Correlated random copolymers



Flory distribution of block length (n),

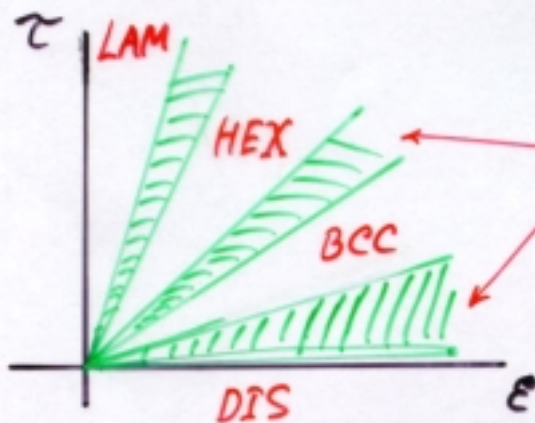
$$\delta = \frac{n_w}{n_n} - 1 = 1$$

phase diagram for no. of blocks $\rightarrow \infty$

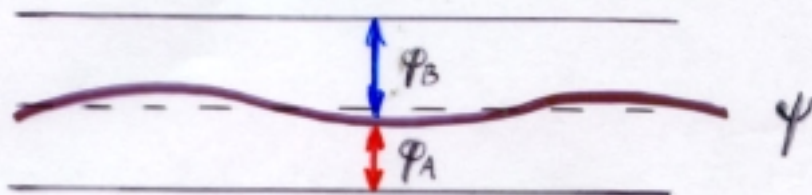
S.V. Panyukov, I.I. Potemkin, JETP, 1997, 85, 183

H. Angerman, PhD thesis, 1998

ψ^4 - model

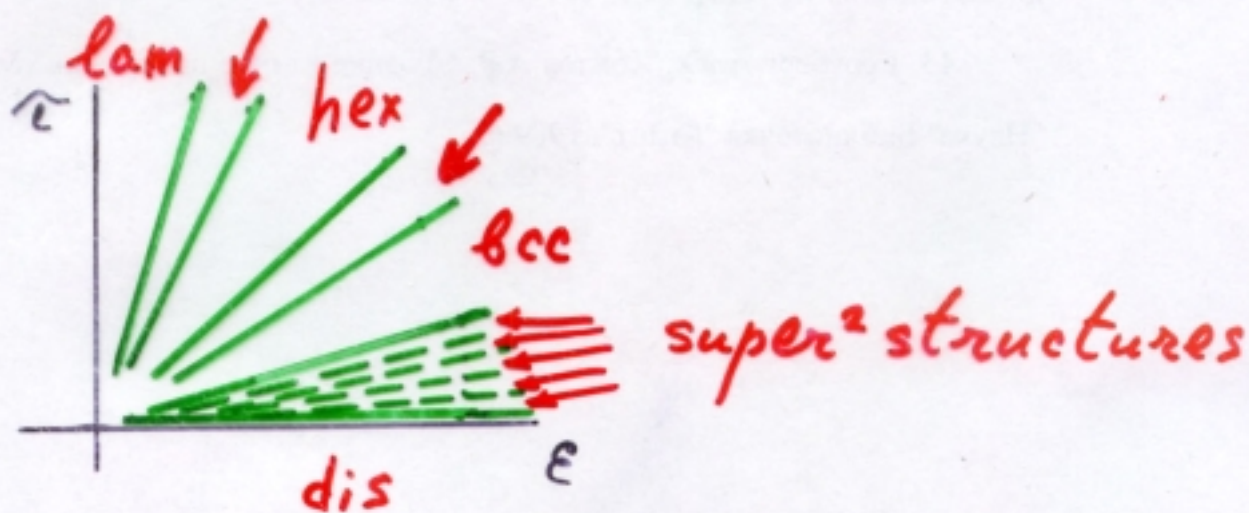


macroscopic phase separation



Primary / secondary structures:

ψ^4, φ^4 - model

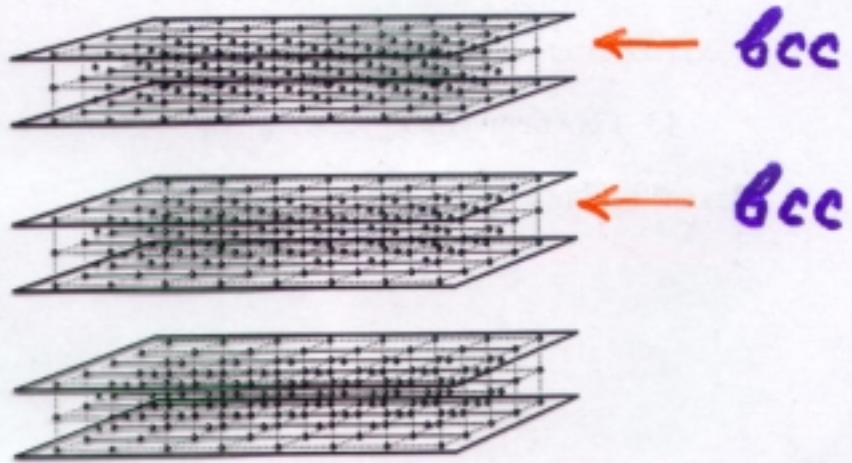


[Semenov, 1999]

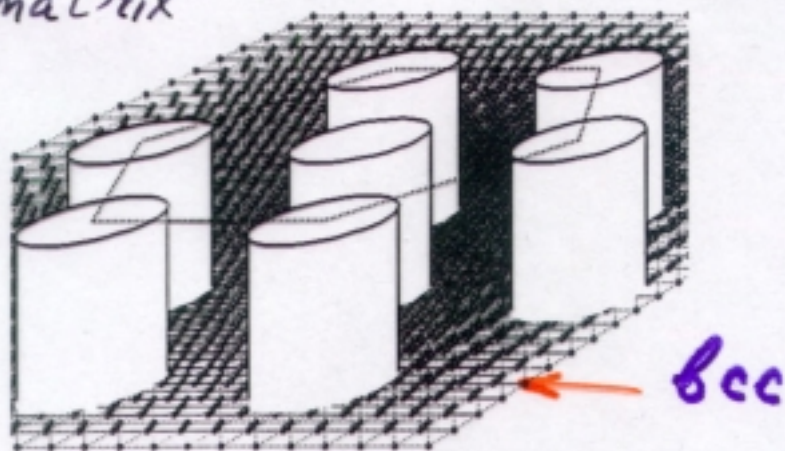
(1) wide regions of stability of super² structures;

(2) $\Lambda \propto \epsilon^{-1} \Rightarrow L \propto \epsilon^{-1/2} \Rightarrow R_n \sim n^{1/2} \alpha$

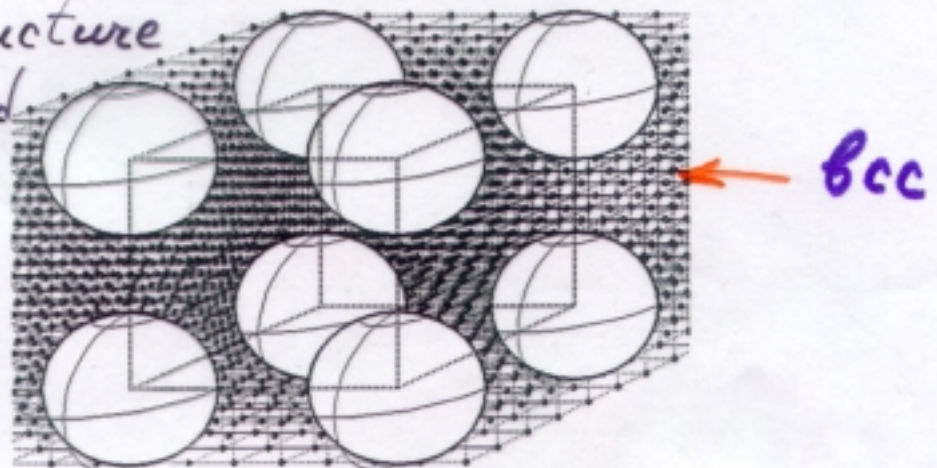
3: alternating ordered and disordered lamellar sheets



4: hex structure of disordered cylinders in bcc matrix



5: fcc structure of disordered spheres in bcc matrix



- What's wrong with ψ^4 -theory?

ψ^4 is not enough $\rightarrow \psi^4, \psi^4$
 $\rightarrow \psi^8$
 (equivalent)

- Recent non-linear generalization of ψ^4
 $(\tilde{F} = \frac{\text{const}}{V^2} \int d^3q_1 d^3q_2 \frac{|\psi_{q_1}|^2 |\psi_{q_2}|^2}{q_1^2 + q_2^2},$
 Shakhnovich, Gutin, 1989)

$$\tilde{F} = \frac{\text{const}}{V^2} \int u(\underline{r}, \underline{r}') [\Phi(\underline{r}, \underline{r}') - 1] d^3\underline{r} d^3\underline{r}',$$

$$u(\underline{r}, \underline{r}') = 4\psi(\underline{r})\psi(\underline{r}'),$$

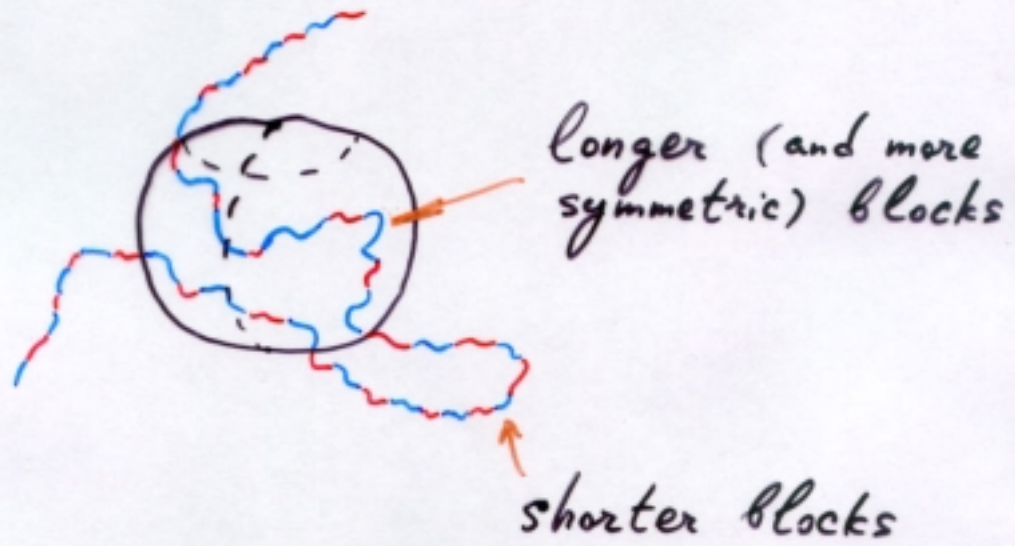
$$\nabla_{\underline{r}, \underline{r}'}^2 \Phi + u\Phi = 0, \quad \Phi \rightarrow 1 \text{ as } (\underline{r}, \underline{r}') \rightarrow \infty$$

A.M.S., 2001

↓ nature of disorder - order transition in random block-copolymers ...

- it's not just super-structure formation, soft, weak, long wave-length
 Shakhnovich, Gutin, 1989
 ...
 Angerman, Ten Brinke, Erukhimovich, 1996

PLAIN SPHERICAL MICELLE



- nor is it **MACROSCOPIC** phase separation:
dis / microdomain (bcc) str.

Panyukov, Potemkin, 1997; Angerman, 1998

- more complicated picture (A.N.S., 2001)

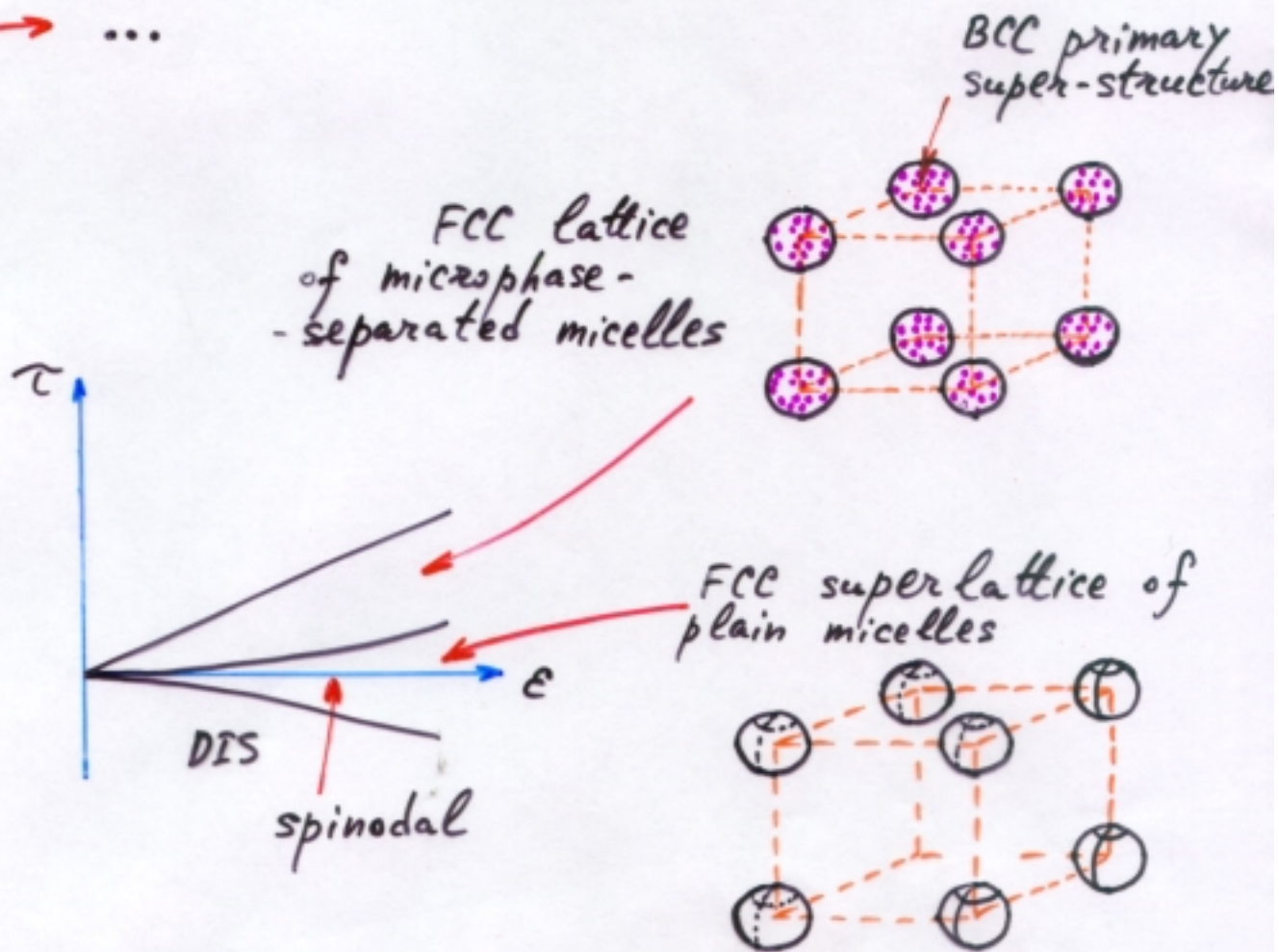
DIS \rightarrow gas of plain spherical MICELLES

\rightarrow FCC superlattice of plain micelles

\rightarrow — " — of spherical MICRODOMAIN micelles

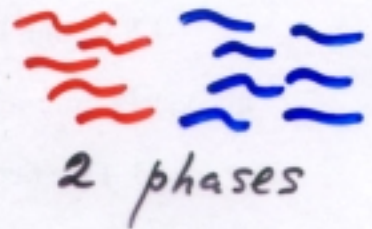
\rightarrow — " — cylindrical — " —

\rightarrow ...



5. Summary and discussion.

- A mixture of 2 polymers (A and B): possibly phase segregation



AB connected (block-copolymer):

microdomain structures

(a variety of morphologies: 5 classical + bicontinuous...)

- Polydisperse blocks → phase separation between different morphologies

or, - in the case of multi-block copolymers - further structure development, secondary superstructures with alternating primary morphologies

- Observed? No! but...

- Proceeding along the same line of thinking ...
→ Coexistence of different secondary structures?
→ Higher-order superstructures on the top of secondary structures?

Yes! Why not ...

→ Hierarchical micro-phase separation