

VISCOSITÉ SUPERFICIELLE ET STRUCTURE MOLÉCULAIRE DES COUCHES DE PROTÉINES

par

MAURICE JOLY

Service de Chimie-Physique, Institut Pasteur, Paris (France)

Les mesures de viscosité des couches de protéines donnent des indications sur la structure de ces couches qui semblent à première vue peu conciliables avec les renseignements fournis par l'étude des isothermes aux très faibles pressions.

En effet, l'interprétation des courbes pression-concentration pour des couches de protéines extrêmement diluées conduit à envisager des poids moléculaires en couche du même ordre de grandeur qu'à l'état volumique. Par contre, pour rendre compte des valeurs expérimentales du coefficient de viscosité superficielle, on est amené à considérer que les unités élémentaires de mouvement dans la couche sont beaucoup plus petites qu'une molécule et que leur aire (90 \AA^2 , ce qui correspond à un poids particulaire moyen de l'ordre de 1000) est pratiquement indépendante de la nature des protéines.

Nous nous proposons dans le présent travail de préciser les propriétés mécaniques des couches de protéines et de leur appliquer la théorie générale de la viscosité superficielle. Nous montrerons que le comportement rhéologique de ces couches varie suivant le domaine de pression considéré et nous en suggérerons une explication. Nous calculerons ensuite les dimensions de la sous-unité protéique élémentaire mise en évidence par la viscosité et nous chercherons à interpréter les résultats obtenus. Nous montrerons en particulier que l'existence d'une sous-unité mobile de très petite taille n'est pas nécessairement incompatible avec l'existence de la molécule protéique en couche superficielle et qu'il suffit pour rendre compte des faits d'envisager un système d'interactions suffisamment fortes entre les particules élémentaires ou peut-être même simplement certaines possibilités d'articulation ou de flexibilité des chaînes polypeptidiques.

J'ai pu développer récemment une théorie générale de la viscosité des couches monomoléculaires^{1, 2} à partir des conceptions de EYRING ET MOORE^{3, 4}. Cette théorie rend compte avec une très bonne précision des valeurs expérimentales de la viscosité superficielle dans le cas des couches monomoléculaires de corps gras et permet en outre d'avoir des renseignements sur la forme des molécules dans les phases superficielles. Il est intéressant de voir quelles informations sont données par l'extension de cette méthode d'étude aux couches de protéines¹⁵.

La technique expérimentale utilisée (adaptation de la méthode de COULOMB aux couches monomoléculaires) a été décrite antérieurement⁵. Les mesures rapportées dans le présent travail ont été effectuées avec un viscosimètre superficiel à anneau oscillant dont les caractéristiques sont les suivantes: moment d'inertie de l'équipage $I = 25.3$; constante du fil de torsion $\Gamma = 11.9$; rayon de l'anneau oscillant $R_1 = 3.05$ cm; rayon de l'anneau de garde $R_2 = 3.87$ cm. La théorie du pendule de torsion en

milieu visqueux est bien connue; rappelons simplement que dans le cas qui nous intéresse le coefficient de viscosité est donné par

$$\mu = \frac{\sqrt{\Gamma I}}{2\pi} \frac{R_2^2 - R_1^2}{R_1^2 R_2^2} \left[\frac{\Delta}{\sqrt{7.4 + \Delta^2}} - \frac{\Delta_0}{\sqrt{7.4 + \Delta^2}} \right]$$

Δ_0 étant le décrément logarithmique en absence de couche et Δ le décrément lorsqu'une couche est étalée à la surface de l'eau.

Dans tout ce qui suit il sera uniquement question de couches de protéine de type A, c'est-à-dire étalées sous très faible pression de façon qu'elles soient rigoureusement monomoléculaires, réversibles et ne présentant pas d'évolution au cours du temps^{6, 7}. La plupart des auteurs qui ont étudié la viscosité des couches de protéines^{8, 9} ont eu affaire à des couches B dont la nature monomoléculaire n'est pas certaine² et dont les propriétés varient au cours du temps et avec les conditions d'étalement⁵.

Les principaux résultats relatifs aux propriétés mécaniques des couches A ont été publiés précédemment^{2, 10}. Il est important toutefois d'insister à nouveau sur les points suivants:

Dans tous les cas étudiés, si l'on considère les variations de la viscosité superficielle le long d'une isotherme, on est conduit à distinguer différents domaines à l'intérieur desquels les propriétés mécaniques des couches de protéines sont différentes.

Au-dessous d'une certaine pression p_n la viscosité est newtonienne c'est-à-dire que le coefficient de viscosité est indépendant du gradient de vitesse. La valeur de la pression p_n varie dans de larges proportions avec la nature de la protéine ainsi qu'on le voit sur les exemples suivants:

Protéine sur HCl N/100 à 17°:	P_n :
Pseudoglobuline de cheval	2 d/cm
Hémoglobine de bœuf	3 "
Ovalbumine	4 "
Serumalbumine de bœuf	4 "
Serumalbumine de cheval	10 "
Gliadine	16 "

Dans ce domaine des faibles pressions les couches de protéines se comportent au point de vue de la viscosité comme les couches monomoléculaires de corps gras avec toutefois des valeurs souvent plus élevées du coefficient de viscosité. Pour les grandes dilutions la viscosité est une fonction croissante de l'aire moléculaire, tandis que pour les dilutions moyennes elle en est une fonction décroissante, c'est-à-dire que dans ce cas la viscosité croît avec la pression superficielle. La théorie générale de la viscosité superficielle nous a montré (1, 2) que ce fait était dû aux molécules d'eau immédiatement adjacentes aux groupements polaires de la couche.

Le tableau suivant donne quelques valeurs de la viscosité newtonienne pour des protéines étalées sur HCl N/100 à 17°:

Serumalbumine de bœuf	$p = 1$ dyne	2	3		
	$\mu \cdot 10^3 = 1.2$	3.1	10		
Serumalbumine de cheval	$p = 1$	2	4	6	8
	$\mu \cdot 10^3 = 1.3$	1.4	2.5	9.7	33
Hémoglobine de bœuf	$p = 1$	2			
	$\mu \cdot 10^3 = 1.9$	1.7			

Ovalbumine	$p = 1$	2	3				
	$\mu \cdot 10^3 = 2.3$	15	23				
Pseudoglobuline de cheval	$p = 1$						
	$\mu \cdot 10^3 = 17$						
Gliadine	$p = 1$	2	4	6	8	10	12
	$\mu \cdot 10^3 = 1.5$	1.4	1.9	3.3	5.3	9.6	16

On sait que les couches de protéines se gélifient par compression; ce changement d'état a lieu dans une très étroite zone de transition autour d'une pression p_g assez bien définie pour chaque protéine. Ce processus est réversible si on a soin de ne pas comprimer trop au-delà de p_g . Il semble certain que dans le domaine du gel la couche ait une structure fibreuse du type kératine. Quoiqu'il en soit, au delà de p_g , on ne peut plus assimiler la couche à un fluide à deux dimensions; elle est désormais à la fois rigide et plastique, et surtout, elle présente une très grande pseudo-élasticité du même type que celle du caoutchouc.

Signalons en outre que pour la plupart des protéines étudiées un changement d'allure dans les propriétés mécaniques de la couche se produit un peu avant le point de gélification: il apparaît pour une pression p_r assez bien définie une sorte de plasticité qui se superpose à la viscosité et se manifeste par un déplacement de la position moyenne de l'équipage oscillant dans le sens de la première élongation; il y correspond sans doute un début de changement de structure, un commencement de passage de la forme discoïde à la forme fibreuse.

Entre les pressions p_n et p_r la viscosité des couches de protéines est non-newtonienne, c'est-à-dire que le coefficient de viscosité superficielle varie avec le gradient de vitesse. Il en résulte que ce que l'on mesure avec le viscosimètre superficiel à oscillations est une viscosité moyenne dans un certain domaine de gradient de vitesse. D'une manière plus précise, les valeurs données pour le coefficient de viscosité expriment une "viscosité équivalente", c'est-à-dire la valeur d'un coefficient de viscosité newtonienne correspondant au même décrément que celui que l'on observe.

Donnons à titre d'exemple, toujours sur HCl N/100 à 17°, quelques valeurs de la viscosité équivalente:

Serumalbumine de bœuf	$p = 5$	dynes	6	7	10
	$\mu \cdot 10^2 = 3$		3.4	3.9	20
Hémoglobine de bœuf	$p = 3$		4	5	
	$\mu \cdot 10^2 = 1.1$		2.2	3	
Ovalbumine	$p = 5$		7		
	$\mu \cdot 10^2 = 2.9$		3.8		
Pseudoglobuline de cheval	$p = 3$				
	$\mu \cdot 10^2 = 3.1$				

D'une manière générale, dans le domaine de viscosité non-newtonienne, la viscosité croît lorsque le gradient de vitesse croît. Ceci indique que le caractère non-newtonien de la viscosité n'est pas dû au fait que les particules mobiles sont anisodiamétriques et s'orientent partiellement sous l'action du gradient de vitesse. La croissance de la viscosité avec le degré de cisaillement de la couche fluide prouve que l'on a affaire à une déformation des particules au cours du mouvement. Signalons cependant qu'il y a parfois superposition d'un effet d'orientation et d'un effet de déformation. C'est ainsi, par exemple, que pour l'hémoglobine de bœuf, un peu avant p_n (entre 3 et 4 dynes sur

HCl N/100) apparaît un étroit domaine où la viscosité n'est déjà plus newtonienne et dans lequel le coefficient de viscosité décroît lorsque le gradient de vitesse croît, ce qui montre qu'on est en présence de particules non-isodiamétriques dont l'effet d'orientation par le mouvement est devenu sensible pour une concentration superficielle suffisamment élevée; mais ce phénomène est masqué par l'effet de déformation lorsqu'on comprime davantage la couche puisqu'au-delà de 4 dynes viscosité et gradient de vitesse varient dans le même sens. Indiquons également que pour certaines protéines le domaine de viscosité non-newtonienne est très réduit (c'est ainsi, par exemple, que pour la gliadine P_n et P_g sont pratiquement confondues); cela signifie que dès que les particules élémentaires sont suffisamment rapprochées les unes des autres pour que leur mouvement relatif ne soit plus possible sans déformation, leurs interactions sont suffisantes pour que la gélification se produise.

Dans la théorie générale de la viscosité des couches monomoléculaires¹ on admet que pour les couches fluides les particules mobiles sont réparties en un quasi-réseau hexagonal et que les molécules d'eau adjacentes aux groupements polaires de ces particules sont solidaires de celles-ci dans leurs déplacements. L'analyse du processus suivant lequel s'effectue le mouvement des particules¹ montre que si la distance au repos entre les centres de deux particules voisines est r , lors du mouvement, la distance minima à laquelle ces centres se rapprochent est $\frac{1}{2} r \sqrt{3}$. D'autre part, d'après l'interprétation que nous avons donnée plus haut du régime non-newtonien, il est clair que le début du régime non-newtonien correspond à la plus petite concentration superficielle pour laquelle le déplacement relatif des particules mobiles n'est plus possible sans déformation non seulement du quasi-réseau, mais des particules elles-mêmes. Le plus simple est d'admettre que cela se produit dès que les particules viennent en contact au cours du mouvement. Il en résulte que si r_β est le diamètre de ces particules élémentaires, le point d'apparition du régime non-newtonien correspond à une concentration superficielle pour laquelle la distance réticulaire moyenne r est telle que r_β soit précisément égal à l'apothème de l'hexagone de côté r ; on a donc la relation $r = 2 r_\beta / \sqrt{3}$.

J'ai montré que la connaissance de la "forme" des molécules dans les couches monomoléculaires permettait de calculer le coefficient de viscosité superficielle et qu'inversement les mesures de viscosité des couches monomoléculaires constituaient une méthode très sensible de détermination des structures^{1, 2, 11}. Il est donc indiqué d'appliquer cette méthode au cas des protéines. Le modèle de structure proposé par DERVICHIAN⁶ pour les couches de protéines rend possible l'estimation des dimensions moléculaires des protéines étalées à condition d'en connaître le poids moléculaire. Or, l'étude des isothermes pour les très faibles pressions a permis à GUASTALLA⁷ de déterminer les poids moléculaires des protéines étalées; les valeurs trouvées sont en général du même ordre de grandeur que pour les protéines non étalées. Remarquons que l'exception apparente de l'hémoglobine dont le poids moléculaire en couche est beaucoup plus petit qu'en solution est en accord avec la structure stratifiée mise en évidence par PERUTZ^{12, 13, 14, 21}, structure qui apporte également une confirmation à l'hypothèse de DERVICHIAN.

On peut donc connaître les dimensions moléculaires dans les couches de protéines. Or, si on effectue le calcul correspondant du coefficient de viscosité superficielle par application de la théorie générale de la viscosité des couches monomoléculaires, on trouve des valeurs extraordinairement élevées, sans comparaison possible avec les valeurs expérimentales.

On est donc conduit à admettre que lors du mouvement de la couche monomoléculaire, l'unité d'écoulement est beaucoup plus petite que la molécule. Avant de discuter la signification de ce fait, indiquons comment on peut calculer l'aire σ_β de ces particules élémentaires.

La relation de EYRING ET MOORE relative à la viscosité des couches monomoléculaires¹ est $\mu = \frac{h}{\sigma} e^{\frac{\Delta F}{kT}}$, h étant la constante de PLANCK, k la constante de BOLTZMANN, T la température absolue, σ l'aire moyenne disponible par particule, ΔF l'énergie libre d'activation d'écoulement visqueux et μ le coefficient de viscosité. Si on applique cette relation au point d'apparition de régime non-newtonien, il vient $\mu_n = \frac{C^{\text{te}}}{r_\beta^2} e^{\frac{\Delta F_n}{kT}}$.

Le calcul direct de l'énergie d'activation d'écoulement à partir de la structure montre, ainsi que nous le verrons, que ΔF_n est une fonction très rapidement croissante de r_β ; il en résulte qu'une variation même faible de r_β entraîne une variation considérable de μ_n . Or l'expérience montre que pour toutes les protéines étudiées la viscosité au point d'apparition de régime non-newtonien est du même ordre de grandeur ainsi qu'on le voit sur le tableau suivant:

Protéine sur HCl N/100 à 17°	$\mu_n \cdot 10^2$
Serumalbumine de bœuf	1.8
Serumalbumine de cheval	7.6
Pseudoglobuline de cheval	2.6
Ovalbumine	2.5
Hémoglobine de bœuf	2.2
Gliadine	4.3

ce qui correspond à une valeur moyenne de μ_n égale à $3.5 \cdot 10^{-2}$. On est donc conduit à admettre que les sous-unités protéiques qui se manifestent en tant qu'unités d'écoulement lors du cisaillement de la couche ont des dimensions pratiquement indépendantes de la nature des protéines étudiées.

Comme à la température ordinaire la formule de EYRING ET MOORE peut s'écrire pour le point d'apparition de régime non-newtonien $\log \mu_n = 11,69273 - \log \sigma_\beta + 1.075 \cdot 10^{-3} \Delta F_n$, on est conduit à la relation $\Delta F_n = 930 \log \sigma_\beta + 8230$ (I).

D'autre part, j'ai montré¹ que l'énergie libre d'activation d'écoulement visqueux pouvait être calculée directement à partir des énergies d'interaction entre les groupements fonctionnels élémentaires lorsqu'on connaît la structure des particules en présence, structure qui est donnée dans le cas présent par l'hypothèse de DERVICHIAN⁶. On peut donc écrire $\Delta F_n = f(\sigma_\beta)$ (II).

Les courbes (I) et (II) se coupent en un point dont les coordonnées sont précisément la valeur cherchée de l'aire σ_β des particules mobiles et la valeur moyenne correspondante de l'énergie libre d'activation.

Il reste donc à expliciter la fonction $f(\sigma_\beta)$. Le calcul complet est assez lourd; nous en indiquerons ici simplement les étapes successives et les résultats. Pour la justification des formules utilisées, on se reportera aux mémoires antérieurs relatifs à la théorie générale de la viscosité superficielle^{1, 11, 16}.

L'additivité des énergies d'activation, qui est une conséquence du principe d'autonomie des groupements fonctionnels, permet d'écrire: $\Delta F_n = \Delta F_{H_2O}(\sigma_\beta) + \Delta F_{\text{pol}}(\sigma_\beta) +$

$\Delta F_{\text{apol}} (\sigma_\beta)$, somme de trois termes relatifs aux molécules d'eau solidaires de la couche, aux parties polaires des molécules de la couche fixées sur l'eau et aux parties apolaires de ces molécules.

En admettant la structure quasi-hexagonale de l'eau au contact immédiat de la couche et en admettant, comme pour les couches superficielles de corps gras, que toutes les molécules d'eau adjacentes à l'ensemble des groupements polaires de chaque particule mobile sont rigidement liées les unes aux autres et se déplacent en bloc avec la particule, l'application du calcul général de l'énergie d'activation donne pour le terme relatif à l'eau $\Delta F_{\text{H}_2\text{O}} = 990 \sqrt{p} + 110 pr/3.34 (m+1) + 10v''$, avec $r = 1.153r_\beta$, $m = (r-r_\beta)/2.88 = 0.053r_\beta$, $p = (\sigma-\sigma_\beta)/9.6 = 0.034 \sigma_\beta$, d'où $\sqrt{p} = 0.172r_\beta$ et par suite $\Delta F_{\text{H}_2\text{O}} = 170r_\beta + 1.292r_\beta\sigma_\beta/(1+0.053r_\beta) + 10v''$.

Le potentiel d'interaction entre deux molécules d'eau étant sensiblement égal à Z Z
 $4.12 \cdot 10^3 r^{-3}$, v'' est donné par $v'' = 1.03 \cdot 10^3 Q''$, avec $Q'' = \sum_z N_z$; Z est tel que $\sum a_z =$
 I I
 $\sigma_\beta/9.6$ avec $a_z = 0.94(r_\beta-2.88z-0.46)$. N_z peut s'écrire $N_z = a_z^2 A_z + 2a_z D_z$, avec $D_z =$
 Z
 $\sum C_{yz}$ et $C_{yz} = a_y B_{yz}$; on a en outre les relations
 $y = z + 1$

$$A_z = \frac{I}{r_\beta-2.88z-0.46} \left[\frac{I}{(0.153r_\beta+2.88z+0.46)^2} - \frac{I}{(2.153r_\beta-2.88z-0.46)^2} \right],$$

$$B_{yz} = \frac{I}{r_\beta-1.44(y+z)-0.46} \left[\frac{I}{[0.153r_\beta+1.44(y+z)+0.46]^2} - \frac{I}{[2.153r_\beta-1.44(y+z)-0.46]^2} \right].$$

Dans la théorie de structure des protéines due à DERVICHIAN^{6, 17} on admet que les restes amino-acides sont répartis en un assemblage hexagonal de part et d'autre du plan de la chaîne polypeptidique. Nous admettrons en outre que pour le point d'apparition de régime non-newtonien qui correspond à un état relativement condensé de la couche chaque chaîne latérale occupe une aire moyenne de 23.5 \AA^2 , c'est-à-dire, dans le cas des chaînes droites, par exemple, se trouve dans l'état C^{16, 18}. Dans ces conditions, la valeur moyenne du potentiel d'interaction entre deux groupements polaires étant de l'ordre de $2 \cdot 10^4 r^{-3}$, le terme relatif aux groupements polaires dans l'expression de l'énergie d'activation d'écoulement peut s'écrire $\Delta F_{\text{pol}} = 10v'$, avec $v' = 5 \cdot 10^3 Q' \cdot Q'$ se calcule comme Q'' en prenant $a_z = 0.6(r_\beta-4.54z-0.69)$,

$$A_z = \frac{I}{r_\beta-4.54z-0.69} \left[\frac{I}{(0.153r_\beta+4.54z+0.69)^2} - \frac{I}{(2.153r_\beta-4.54z-0.69)^2} \right],$$

$$B_{yz} = \frac{I}{r_\beta-2.27(y+z)-0.69} \left[\frac{I}{[0.153r_\beta+2.27(y+z)+0.69]^2} - \frac{I}{[2.153r_\beta-2.27(y+z)-0.69]^2} \right].$$

Pour évaluer la contribution des parties apolaires, nous pouvons admettre qu'au point d'apparition de régime non-newtonien l'épaisseur moyenne des couches de protéines est de l'ordre de 10 \AA (ce qui correspond à huit carbones). On peut prendre $5 \cdot 10^5 r^{-6}$ comme potentiel moyen d'interaction entre deux groupements apolaires. Les chaînes latérales étant supposées dans l'état C, on peut écrire $\Delta F_{\text{apol}} = 7.4 v'''$ avec $v''' = 4 \cdot 10^5 Q'''$. Q''' se calcule comme Q' à condition de prendre

$$A_z = \frac{1}{r_\beta - 4.54z - 0.69} \left[\frac{1}{(0.153r_\beta + 4.54z + 0.69)^5} - \frac{1}{(2.153r_\beta - 4.54z - 0.69)^5} \right],$$

$$B_{yz} = \frac{1}{r_\beta - 2.27(y+z) - 0.69} \left[\frac{1}{[0.153r_\beta + 2.27(y+z) + 0.69]^5} - \frac{1}{[2.153r_\beta - 2.27(y+z) - 0.69]^5} \right].$$

Lorsqu'on effectue le calcul numérique on trouve que l'intersection des deux courbes (I) et (II) se produit pour une valeur de l'aire des particules σ_β très voisine de 90 \AA^2 . Pour fixer le degré d'approximation de cette valeur, indiquons que pour $\sigma_\beta = 90 \text{ \AA}^2$ on a $\mu = 5.47 \cdot 10^{-2}$, très proche de la valeur moyenne observée; pour $\sigma_\beta = 96$, on aurait $\mu_n = 1.29 \cdot 10^{-1}$ et pour $\sigma_\beta = 85$, on aurait $\mu_n = 9.86 \cdot 10^{-3}$.

Quelle est la signification de cette valeur? Une sous-unité protéique de 90 \AA^2 environ apparaît comme particule mobile élémentaire commune à toutes les protéines. Notons que cet encombrement superficiel correspond à peu près exactement à l'aire qui est nécessaire pour qu'un groupe de trois chaînes latérales dans l'état C et en empaquettement compact puisse librement tourner dans son ensemble. On est donc conduit à rapprocher ce résultat de la notion de triades alternées (polaire et apolaire) introduite par ASTBURY^{19, 20}, notion parfaitement compatible avec la théorie de structure de DERVICHIAN^{6, 17}. L'unité de mouvement apparaîtrait ainsi comme constituée par un couple de deux triades alternées.

Comme toutes les mesures ont été effectuées à $p_H 2$, on pourrait penser que la molécule protéique est complètement dissociée en ces sous-unités à la surface de l'eau. Mais, comme d'autre part, les mesures de poids moléculaire de GUASTALLA ont été faites au même p_H , il faudrait admettre que les interactions entre ces sous-unités à l'intérieur de la molécule seraient suffisantes pour qu'aux très faibles pressions l'ensemble de la molécule subsiste comme unité cinétique, ce qui expliquerait que l'application de la loi des gaz dans ce domaine conduise à des valeurs du poids moléculaire comparables à celles trouvées dans la masse; par contre, les forces de cisaillement lors des mesures de viscosité seraient assez grandes pour provoquer le mouvement des sous-unités les unes par rapport aux autres ce qui justifierait les valeurs relativement faibles de la viscosité des couches de protéines. (Rappelons, par exemple, que sous une pression de 0.5 dyne, la gliadine ou l'hémoglobine n'est pas plus visqueuse que la tricapryline).

Mais il est à noter que dans toutes les mesures effectuées, le gradient de vitesse fut toujours très petit (inférieur à 1 sec^{-1}). Il en fut de même des déplacements relatifs. Ceci expliquerait que le mouvement relatif des sous-unités les unes par rapport aux autres étant de très faible amplitude, il n'entraîne pas la dislocation complète des molécules et que, par suite, les caractères de la couche ne soient pas sensiblement modifiés au cours de la mesure de viscosité. On pourrait même admettre (ainsi que cela me fut suggéré par J. D. BERNAL) qu'il n'y ait pas rupture de la chaîne polypeptidique, mais simplement articulation et flexibilité de cette chaîne plus ou moins déroulée à la surface de l'eau, les couples de triades alternées se déplaçant d'un bloc, ce qui (ainsi que cela me fut signalé par G. GEE) rappelerait ce qui se passe dans certains hauts polymères et montrerait qu'il n'y a pas de contradiction entre les résultats des mesures de poids moléculaire superficiel et de viscosité superficielle.

Seules des mesures de viscosité superficielle des couches de protéines pour un large domaine des variations du gradient de vitesse et de l'amplitude des déplacements permettront de préciser ce que devient la chaîne polypeptidique lors de l'étalement

à la surface de l'eau. Il serait de même important d'examiner l'effet produit par un laminage superficiel prolongé sur les propriétés spécifiques des couches de protéines et en particulier sur leurs poids moléculaires.

RÉSUMÉ

Pour toutes les couches de protéines étudiées, nous avons été conduit à considérer différents domaines à l'intérieur desquels les propriétés mécaniques de la couche sont différentes.

Au-dessous d'une certaine pression p_n la viscosité est newtonienne et les films de protéine se comportent comme ceux des corps gras. D'autre part, les couches de protéine se gélifient par compression au voisinage d'une pression superficielle p_g bien définie pour chaque protéine. Entre les pressions superficielles p_n et p_g la viscosité des films de protéine n'est plus newtonienne.

La connaissance des dimensions et de la forme des molécules nous permet de calculer le coefficient de viscosité des couches monomoléculaires. Si on fait le calcul correspondant à une molécule, on trouve des valeurs extrêmement élevées, sans comparaison avec les valeurs expérimentales. On doit par suite supposer que l'unité d'écoulement est beaucoup plus petit qu'une molécule.

La théorie de EYRING ET MOORE relie la viscosité superficielle à l'énergie libre d'activation d'écoulement visqueux. Cette énergie d'activation est une fonction très rapidement croissante du diamètre des particules élémentaires. Pour toutes les protéines étudiées, le coefficient de viscosité au point d'apparition du régime non-newtonien est du même ordre de grandeur; par suite les sous-unités ont des dimensions pratiquement indépendantes de la nature de la protéine. Le calcul direct de l'énergie d'activation à partir des énergies d'interaction entre les groupements fonctionnels élémentaires nous permet de déterminer le diamètre des unités d'écoulement. On trouve comme aire moyenne de ces particules élémentaires environ 90 \AA^2 . La signification de ce résultat est discutée.

SUMMARY

For all the protein monolayers studied we are led to consider different domains inside which the mechanical properties of the film are different.

Below a certain surface pressure p_n the viscosity is newtonian and the films of protein behave like those of fatty substances. On the other hand, protein films form a gel by compression in the neighbourhood of a surface pressure p_g well defined for each protein. Between the surface pressures p_n and p_g the viscosity of protein films is no longer newtonian.

The knowledge of the dimensions and form of molecules allows us to calculate the viscosity coefficient of monolayers. If this calculation corresponding to one molecule is made, extremely high values are found, impossible to compare with the experimental values. We must therefore suppose that the unit of flow is much smaller than one molecule.

The theory of EYRING AND MOORE relates the surface viscosity to the free energy of activation of viscous flow. This energy of activation is a very rapidly increasing function of the diameter of the elementary particles. For all the proteins studied the viscosity coefficient at the point of appearance of the non-newtonian viscosity is of the same order of magnitude; hence the submolecular units have dimension practically independent from the nature of the protein. The direct calculation of the energy of activation arising from the energy of interaction between the elementary functional groups allows us to determine the diameter of the units of flow. We find for the area of these elementary particles about 90 \AA^2 . We discuss the meaning of this result.

ZUSAMMENFASSUNG

All unsere Untersuchungen von einzelligen Proteinschichten haben uns dazu geführt im Film Gebiete mit verschiedenen mechanischen Eigenschaften zu unterscheiden.

Unterhalb eines gewissen Oberflächendruckes p_n ist die innere Reibung Newtonisch und die Proteinfilme verhalten sich wie die der Fette. Anderseits bilden die Proteinfilme einen Gel unter Druck in der Nähe eines Oberflächendruckes p_g , der für jedes Protein gut definiert ist. Zwischen dem Oberflächendruck p_n und p_g ist die innere Reibung der Proteinfilme nicht mehr Newtonisch.

Bei Kenntnis der Grösse und der Form der Moleküle können wir die Zähigkeitskonstante von monomolekularen Schichten berechnen. Wenn diese Rechnung, entsprechend einem Molekül, ausgeführt wird, so ergeben sich äusserst hohe Werte, welche auf keine Weise mit den experimentellen Werten verglichen werden können. Wir müssen daher annehmen, dass die Einheit des Flusses viel kleiner ist als ein Molekül.

Die Theorie von EYRING UND MOORE bringt die Oberflächenzähigkeit mit der freien Aktivierungsenergie des zähen Flusses in Verbindung. Diese Aktivierungsenergie ist eine sehr schnell anwachsende Funktion des Durchmessers der Elementarteilchen. Für alle Proteine, die untersucht wurden, war der Zähigkeitskoeffizient an der Stelle, an der die nicht-Newtonische Viskosität in Erscheinung trat, größenmäßig der gleiche; deshalb haben die submolekularen Einheiten Dimensionen, die von der Art der Proteine praktisch unabhängig sind. Direkte Berechnung der Aktivierungsenergie, die durch die Wechselwirkung der elementaren funktionellen Gruppen entsteht, ermöglicht es uns den Durchmesser der Einheiten des Flusses zu bestimmen. Wir finden für die Fläche der Elementarteilchen ungefähr 90 \AA^2 . Wir erörtern die Bedeutung dieses Resultats.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 M. JOLY, *J. phys.*, 7 (1946) 83, 112.
- 2 M. JOLY, *J. chim. phys.*, 44 (1947) 213.
- 3 R. H. EWELL ET H. EYRING, *J. Chem. Phys.*, 5 (1937) 726.
- 4 W. J. MOORE ET H. EYRING, *J. Chem. Phys.*, 6 (1938) 391.
- 5 M. JOLY, *J. chim. phys.*, 36 (1939) 285.
- 6 D. G. DERVICHIAN, *J. chim. phys.*, 37 (1940) 110.
- 7 J. GUASTALLA, *Cahiers phys.*, 13 (1943) 5.
- 8 L. FOURT, *J. Phys. Chem.*, 43 (1939) 887.
- 9 I. LANGMUIR ET V. A. SCHEAFFER, *J. Am. Chem. Soc.*, 59 (1937) 2400.
- 10 M. JOLY, *Symp. sur les Protéines. VIIe Congrès de Chim. Biol. Liège* (1946) 111.
- 11 M. JOLY, *Congrès international de Rhéologie* (sous presse).
- 12 M. F. PERUTZ, *Nature* 149 (1942) 491.
- 13 BOYES-WATSON ET PERUTZ, *Nature*, 151 (1943) 714.
- 14 M. F. PERUTZ, *Trans. Faraday Soc.*, 42 B (1946) 187.
- 15 M. JOLY, *Réunion de Bordeaux sur la Physique des Surfaces* (sous presse).
- 16 M. JOLY, *J. Chem. Phys.* (sous presse).
- 17 D. DERVICHIAN, *J. Chem. Phys.*, 11 (1943) 236.
- 18 M. JOLY, *Réunion de Bordeaux sur la Physique des Surfaces* (sous presse).
- 19 W. T. ASTBURY, *Advances in Enzymol.*, 11 (1943) 63..
- 20 W. T. ASTBURY, *J. chim. phys.*, 44 (1947) 3.
- 21 BOYES-WATSON, DAVIDSON ET PERUTZ, *Proc. Roy. Soc.*, 191 A (1947) 83.

Reçu le 8 juillet 1948