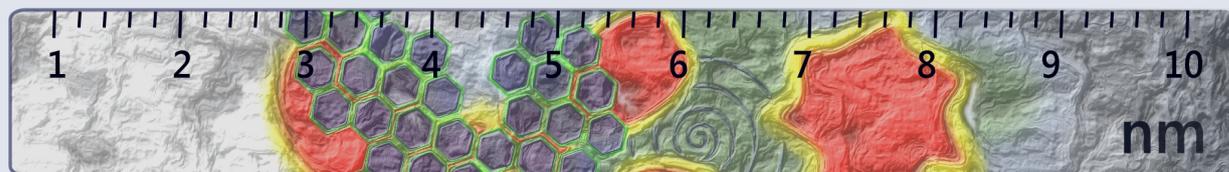


Современные достижения бионаноскопии

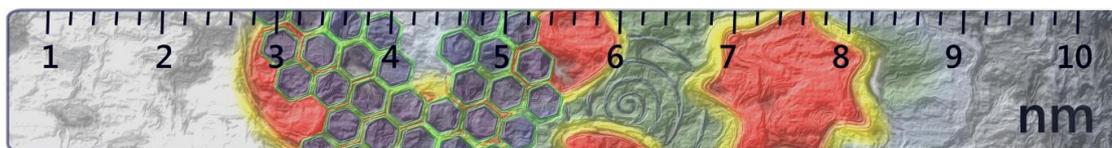


Сборник тезисов

Седьмой международной конференции
17-19 июня 2014 г., Москва
МГУ имени М.В. Ломоносова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Москва-2014

Современные достижения бионаноскопии



Седьмая международная конференция

17 – 19 июня 2014 года

МГУ имени М.В. Ломоносова
Центр перспективных технологий

Программный комитет:

Атабеков И.Г. – академик РАН
Кирпичников М.П. – академик РАН
Лунин В.В. – академик РАН
Скулачев В.П. – академик РАН
Хохлов А.Р. – академик РАН
Гудилин Е.А. – член-корр. РАН
Ахаев Д.Н. – доцент биологического факультета МГУ
Бонарцев А.П. – научный сотрудник биологического факультета МГУ
Игельник М.С. – управляющий компании Zeiss в России и СНГ, ООО «ОПТЭК»
Клячко Н.Л. – профессор химического факультета МГУ, Россия
Курочкин И.Н. – профессор физического факультета МГУ
Панов В.И. – профессор физического факультета МГУ
Тимошенко В.Ю. – профессор физического факультета МГУ
Ульянчиков А.Г. – Zeiss, ООО «ОПТЭК», Россия
Федянин А.А. – профессор физического факультета МГУ
Шайтан К.В. – профессор биологического факультета МГУ
Яминский И.В. – профессор физического факультета МГУ
Lyubchenko Y.L. – Professor, Nebraska Medical Center, USA
Zinoviev K.E. – Research Scientist, Spain

Организационный комитет:

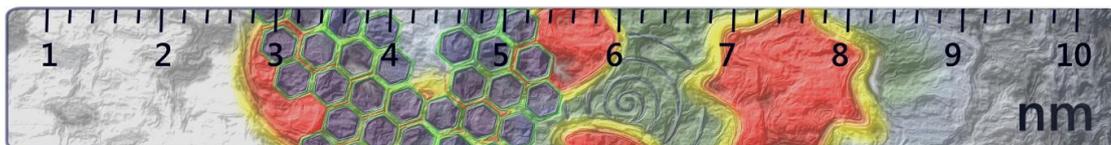
Яминский И.В. – профессор МГУ (председатель)
Дубровин Е.В. – старший научный сотрудник физического факультета МГУ (ответственный секретарь)
Мешков Г.Б. – научный сотрудник физического факультета МГУ
Синицына О.В. – научный сотрудник химического факультета МГУ

При поддержке



INTERTECH Corporation

Современные достижения бионаноскопии



Программа седьмой международной конференции «Современные достижения бионаноскопии»

Вторник, 17 июня 2014 года

- | | |
|-------------------|--|
| 9:30 – 10:00 | Регистрация участников. |
| 10:00 – 10:05 | Яминский И.В., профессор, МГУ имени М.В. Ломоносова. Вступительное слово. |
| 10:05 – 10:45 | Юрий Корчев, профессор, Королевский Колледж Лондона, Великобритания: "Scanning ion conductance microscopy of soft and biological matter". |
| 10:45 – 11:25 | Александр Сигалов, PhD, Президент SignaBlok, Inc., США: "Синтетические аналоги природных наночастиц в целевой терапии и томографии: достижения и будущие направления". |
| 11:25 – 11:45 | Vavra Jan (JPK Instruments AG, Германия) «Quantitative characterization of adhesion and mechanics of single cells and their interactions with biomaterials by AFM». |
| <i>Кофе-брейк</i> | |
| 12:00 – 12:20 | Зыков П.А. (руководитель отдела микроскопии, ООО «БиоВитрум») "Оптические системы сверхвысокого разрешения: визуализация за пределами дифракционного предела". |
| 12:20 – 12:40 | Rosen K. (Dalhousie University, Atlantic Research Centre, США) «Autophagy as a suppressor of Ras-induced malignant transformation of intestinal epithelial cells». |
| 12:40 – 13:00 | Ермоленко Е.А. (ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный университет) «Сравнительная характеристика методов атомно-силовой и сканирующей электронной микроскопии при изучении морфологии протистов отряда <i>Centrohelida</i> ». |
| 13:00 – 13:20 | Неудачина В.С. (INTERTECH Corp.) «Комбинирование методов оптической и атомно-силовой микроскопии для исследования биологических объектов: новейшие решения Asylum Research». |

Перерыв

- 15:00 – 15:20 Макаров В.В. (МГУ имени М.В.Ломоносова) «Синтез и характеристика стабильных железосодержащих наночастиц из различных растительных экстрактов».
- 15:20 – 15:40 Кузьмина Н.В. (МГУ имени М.В.Ломоносова) «Применение атомно-силовой микроскопии в исследовании агрегации σ^{70} -субъединицы РНК-полимеразы *E.coli*».
- 15:40 – 16:00 Мантуров А.О. (ФГБОУ ВПО Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.) «Феноменологическая модель рассеяния излучения в тонких прозрачных срезах».
- 16:00 – 16:20 Сеницына О.В. (МГУ имени М.В.Ломоносова) «Особенности формирования рельефа поверхности фотохромных плёнок на основе холестерических олигомеров».
- 16:20 – 18:20 Стендовая сессия и демонстрация оборудования сканирующей зондовой микроскопии.

Среда, 18 июня 2014 года

- 11.00 – 13.00 Круглый стол и демонстрация оборудования сканирующей зондовой микроскопии.

Кофе-брейк

- 13:15 – 13:30 Подведение итогов конкурса изображений.

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|----|
| Scanning ion conductance microscopy of soft and biological matter | 6 |
| Yuri Korchev | |
| Nature-inspired nanoformulations for targeted therapy and imaging: recent advances and future directions..... | 7 |
| A.B. Sigalov | |
| Использование метода атомно-силовой микроскопии при изучении агрегации внеклеточных белков дрожжей <i>Saccaromyces cerevisiae</i> | 8 |
| И.С. Арзуманян, И.В. Яминский, С.А. Кузнецов, С.Н. Егоров | |
| Сравнительная характеристика методов атомно-силовой и сканирующей электронной микроскопии при изучении морфологии протистов отряда <i>Centrohelida</i> 9 | |
| Е.А. Ермоленко, А.С. Васильченко, А.О. Плотников | |
| Изучение влияния 2,4,6–тринитротолуола на <i>Bacillus subtilis</i> sk1 методами атомно-силовой микроскопии | 10 |
| О.А. Коновалова, Р.М. Зарипова, Д.К. Усманов, Г.Ю. Яковлева | |
| Применение атомно-силовой микроскопии в исследовании агрегации σ^{70} -субъединицы РНК-полимеразы <i>E.coli</i> | 12 |
| Н.В. Кузьмина, Е.В. Дубровин, О.Н. Королёва, Ю.А. Ходак, В.Л. Друца, И.В. Яминский | |
| Изучение влияния излучения He-Ne лазера на эритроциты человека методом атомно-силовой микроскопии..... | 13 |
| И.А. Лобов, Н.А. Давлеткильдеев | |
| Изменение морфологии плёнок полианилина и композита полианилина с многостенными углеродными нанотрубками при допировании их додецилсульфокислотой..... | 15 |
| И.А. Лобов, Н.А. Давлеткильдеев, А.С. Фисюк, Д.В. Стецько, Е.А. Козлова | |
| Синтез и характеристика стабильных железосодержащих наночастиц из различных растительных экстрактов | 17 |
| В.В. Макаров, А.О. Дудник, О.В. Синицина, И.В. Яминский, Н.О. Калинина | |
| Феноменологическая модель рассеяния излучения в тонких прозрачных срезах..... | 18 |
| Т.В. Данилова, А.О. Мантуров | |
| Исследование структуры мембран митохондрий методом сканирующей резистивной микроскопии..... | 20 |
| В.Р. Шапошников, Г.Б. Мешков, Л.С. Ягужинский, И.В. Яминский | |

| | |
|---|-----------|
| Quantitative characterization of adhesion and mechanics of single cells and their interactions with biomaterials by AFM..... | 21 |
| M. Minin, T. Müller, M. Richter, J. Barner, A. Hermsdörfer, C. Pettersson, T. Jähnke | |
| Autophagy as a suppressor of Ras-induced malignant transformation of intestinal epithelial cells | 22 |
| B.H. Yoo, X. Wu, Y. Li, A. Zagryazhskaya, A. Koomson, Y. Li, M. Haniff, S. Sasazuki, S. Shirasawa, E.-L. Eskelinen, K.V. Rosen | |
| Особенности формирования рельефа поверхности фотохромных плёнок на основе холестерических олигомеров | 23 |
| О.В. Симицына, А.Ю. Бобровский, С.С. Абрамчук, И.В. Яминский, В.П. Шibaев | |
| Прямая нековалентная иммобилизация молекул гемоглобина на углеродные нанотрубки, легированные азотом | 24 |
| В.В. Болотов, Н.А. Давлеткильдеев, Е.Ю. Мосур, И.А. Лобов, Д.В. Стецько | |
| Математическая обработка АСМ-изображений клеток микроорганизмов | 26 |
| Д.В. Уткин, П.С. Ерохин, О.С. Кузнецов, В.Е. Куклев | |
| Атомно-силовая микроскопия пленок люминесцирующих комплексов европия с органическими лигандами | 28 |
| А.В.Харчева, Н.Е.Борисова, А.В.Иванов, Т.П.Каминская, С.В.Пацаева, В.В.Попов | |
| Оптические системы сверхвысокого разрешения: визуализация за пределами дифракционного предела | 30 |
| П.А. Зыков | |
| Новые возможности современной атомно-силовой микроскопии биологических объектов: от тканей и клеток до отдельных биомолекул..... | 31 |
| В.С. Неудачина, И.Л. Волков | |
| Конкурс изображений BioImage | 32 |
| Список участников конференции | 39 |

SCANNING ION CONDUCTANCE MICROSCOPY OF SOFT AND BIOLOGICAL MATTER

Yuri Korchev

Imperial College London

y.korchev@imperial.ac.uk

Molecular Biology has advanced we know much about the individual molecular components that make up living cells down to the level of the individual atoms. The challenge, however, is to fully understand the functional integration of these components. This requires determining how the molecular machines that make up a living cell are organized and interact together not at the atomic length scale but on a nm scale. To do this we need to develop and applying nanoscale techniques for the visualization and quantification of cell machinery in real-time and on living cells. This will lead to detailed, quantitative models of sub-cellular structures and molecular complexes under different conditions for both normal and diseased cells.

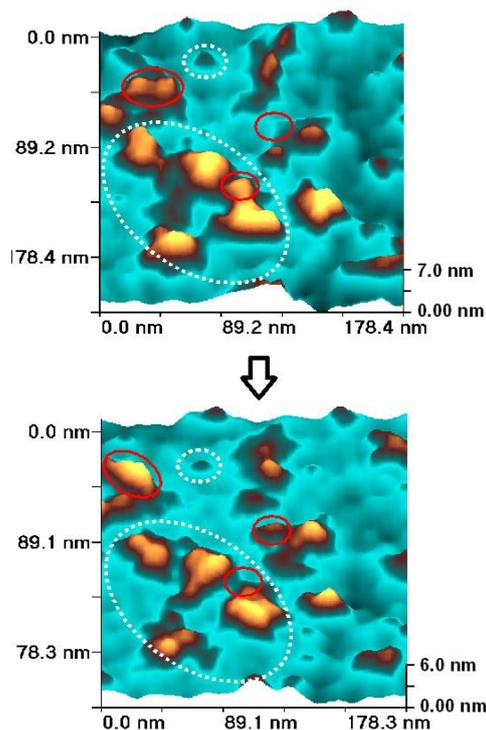


Figure 1. SICM imaging of protein complexes in live sperm.

This approach ultimately requires the development of novel biophysical methods. We have recently pioneered the development of an array of new and powerful biophysical tools based on Scanning Ion Conductance Microscopy [1, 2] that allow quantitative measurements and non-invasive functional imaging of single protein molecules in living cells fig. 1 [3]. Scanning ion

conductance microscopy and a battery of associated innovative methods are unique among current imaging techniques, not only in spatial resolution of living and functioning cells fig. 2 [4], but also in the rich combination of imaging with other functional and dynamical interrogation methods (e.g electrophysiological recording from presynaptic boutons fig. 2 [5]). These methods, crucially, will facilitate the study of integrated nano-behaviour in living cells in health and disease.

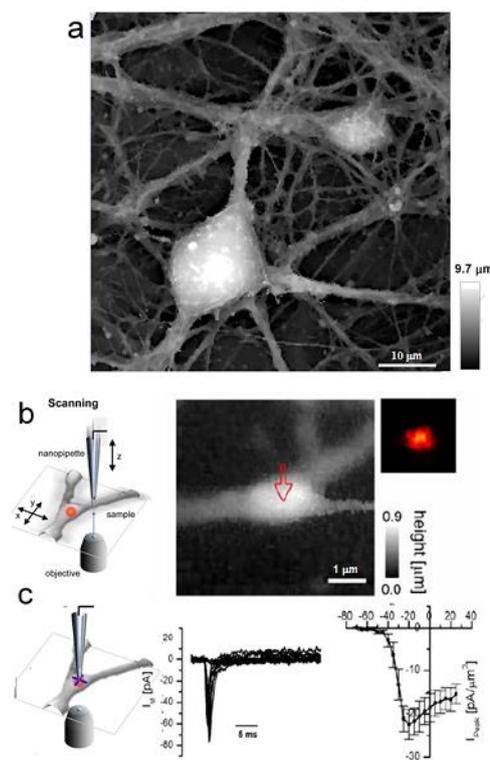


Figure 2. SICM image of live Hippocampal Neurons (a-b) and Nanoscale-targeted patch-clamp recordings of functional presynaptic ion channels (c).

1. P. K. Hansma, B. Drake, O. Marti, S. A. Gould, C. B. Prater, *Science* **243**, 641 (1989).
2. Y. E. Korchev, C. L. Bashford, M. Milovanovic, I. Vodyanoy, M. J. Lab, *Biophys. J.* **73**, 653 (1997).
3. A. I. Shevchuk et al., *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **45**, 2212 (2006).
4. P. Novak et al., *Nat. Methods* **6**, 279 (2009).
5. P. Novak, et al., *Neuron*, **79**, 1067 (2013).

NATURE-INSPIRED NANOFORMULATIONS FOR TARGETED THERAPY AND IMAGING: RECENT ADVANCES AND FUTURE DIRECTIONS

A.B. Sigalov
 SignaBlok, Inc., USA
 sigalov@signablok.com

High density lipoproteins (HDL) is a group of native lipoproteins that transport cholesterol from the peripheral tissues to the liver. HDL can be readily reconstituted *in vitro* from lipids and apolipoproteins. Due to the half-life of native discoidal and spherical HDL in normal subjects being 12-20 hrs and 3-5 days, respectively, these nanoparticles represent a versatile delivery platform for imaging and therapeutic agents [1-2].

In this study, we report the applications of HDL in diagnostic imaging of atherosclerosis (Fig. 1) [3] and targeted therapy of sepsis and cancer (Fig. 2) [4]. We showed that Gd-based contrast agents (GBCA) for magnetic resonance imaging (MRI) as well as a new therapeutic peptide inhibitor (GF9) of Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) can be incorporated into HDL nanoparticles and delivered to the cells of interest, macrophages. To redirect HDL from the liver to macrophages, we used a naturally occurring modification in the major HDL protein, apolipoprotein A-I [3-4].

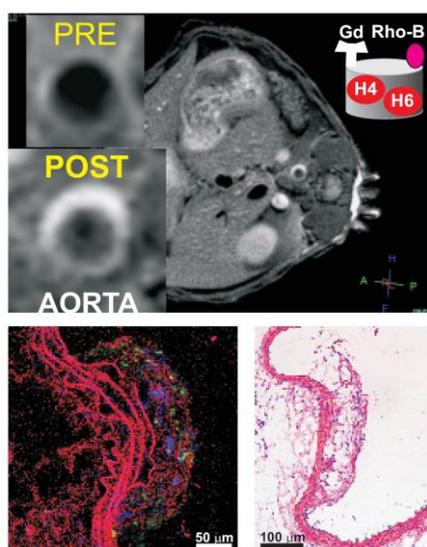


Fig. 1. Pre- and 24 h post-contrast *in vivo* MRI images and confocal microscopy of aorta sections demonstrate targeting of GBCA-HDL to intraplaque macrophages in an apo E knock-out mouse model of atherosclerosis [3]. Macrophage-targeted imaging helps to discriminate between stable and macrophage-rich vulnerable plaques and is of particular clinical importance in diagnostic imaging of atherosclerosis.

TREM-1 plays a role in cancer and sepsis. High levels of TREM-1 expression on tumor-associated macrophages are associated with cancer recurrence and poor survival of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). TREM-1 upregulation on peritoneal neutrophils was found in septic mice and sepsis patients.

We showed for the first time that GF9 in free form and bound to HDL nanoparticles specifically silences TREM-1 signaling *in vitro* and *in vivo*, delays tumor growth in xenograft models of human NSCLC, and prolongs survival of septic mice (Fig. 2) [4]. Targeted delivery of GF9 to macrophages using HDL significantly increased peptide half-life and dosage efficacy [4].

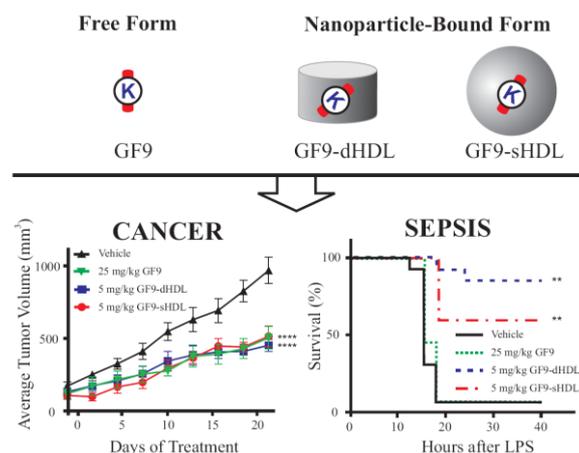


Fig. 2. GF9 in free and nanoparticle form suppresses tumor growth and protects mice from septic shock, suggesting its potential use as a suitable treatment for cancer and sepsis.

Future applications of HDL include their use for making MRI-visible and/or drug-loaded surface coatings of medical implants such as cardiovascular stents. In this area, bionanoscopy and, in particular, atomic force microscopy may provide information of both fundamental and clinical importance.

References:

1. Oda M.N. et al. J Lipid Res. 47, 260 (2006).
2. Lacko A.G. et al. Expert Opin. Drug. Deliv. 4, 665 (2007).
3. Sigalov A.B. Contrast Media Mol. Imaging, *in press* (2014).
4. Sigalov A.B. Mol. Pharm., *in press* (2014).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ АГРЕГАЦИИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ БЕЛКОВ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

И.С. Арзуманян, И.В. Яминский, С.А. Кузнецов, С.Н. Егоров

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова
Институт элементоорганических соединений имени А.Н.Несмеянова РАН, Москва.
Университет города Росток (Германия)
irina.arzumanyan@intel.com

Конститутивная кислая фосфатаза – гликопротеид, кодируется геном РНОЗ, расположенным на второй хромосоме генома дрожжей. Молекулярная масса гликозилированного белка составляет 140 кДа. Около половины ее представлено 12 полиманнозными цепочками, присоединенными к полипептидной цепи по N-глизидному типу.

Ранее нами показано, что в результате транспорта фермента к поверхности клетки лёгкой фракцией транспортных везикул до 20% суммарной активности фермента накапливается в стенках дрожжей. (Блинникова и др. 2002). Более того была определена высокая степень корреляции активности фермента, локализованного на поверхности клеток с процессом почкования (Егоров и др., 2000). В настоящее время накапливается все больше информации о роли белков в структуре клеточной оболочки дрожжей (обзор Мрза 2013).

Для подтверждения структурной роли кислой фосфатазы мы исследовали способность очищенного белка к самосборке *in vitro* с помощью метода сканирующей зондовой микроскопии. Оказалось, что при концентрации белка более 15×10^{-3} мг/мл фермент образует округлые агрегаты диаметром 100-200 нм, которые затем формируют вытянутые структуры, чем-то напоминающие амилоидные, размером 800 ± 40 нм.

Далее с помощью дифференциальной интерференционно-контрастной микроскопии мы показали, что диаметр клеток дрожжей с дилетированным геном конститутивной кислой фосфатазы (РНОЗ), в среднем в 1,5-2 раза превышает размер нормальных клеток. Клетки характеризуются увеличенным размером вакуоли и округлой формой, что указывает

на снижение прочности клеточной оболочки. Трансформация клеток плазмидой, содержащей ген РНОЗ, возвращает их к нормальному размеру.

Таким образом, полученные нами *in vitro* и *in vivo* данные, указывают на то, что конститутивная кислая фосфатаза действительно играет важную структурную роль в формировании клеточной поверхности дрожжей рода *Saccharomyces*.

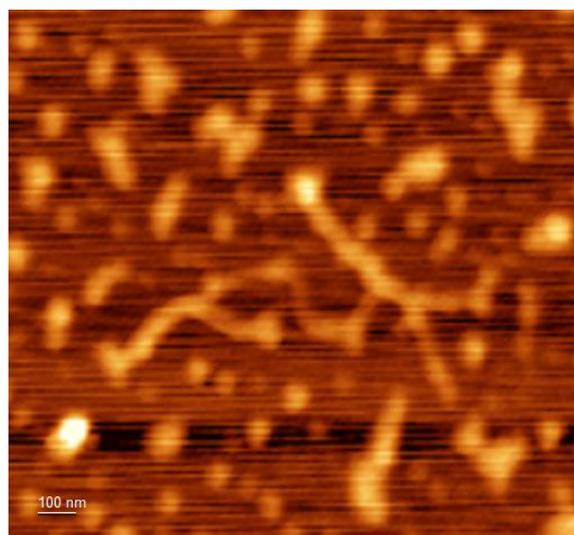


Рисунок 1– АСМ изображение конститутивной кислой фосфатазы, осажденной из дистиллированной воды на поверхность свежесколотой слюды. Размер кадра 1,5 мкм.

Цитируемая литература.

- [1] R. Teragic, Vladimir Mrsa. *Curr Genet* (2013) 59:171-185.
- [2] Е.И. Блинникова, Ф.Л. Мирющенко, Ю.А. Шаболин и С.Н. Егоров, *Биохимия* (2002), 67, выпуск 4, 580-586.
- [3] С.Н. Егоров, Е.В. Петрова, А.В. Левашов, *Вестн. Моск. Ун-та. Сер.2.Т.41. №6.* 355-357.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ АТОМНО-СИЛОВОЙ И СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ МОРФОЛОГИИ ПРОТИСТОВ ОТРЯДА CENTROHELIDA

Е.А. Ермоленко¹, А.С. Васильченко^{1,2}, А.О. Плотников^{1,2}

¹ФГБОУ ВПО Оренбургский государственный университет

²Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН

ea-ermolenko@yandex.ru

На сегодняшний день сканирующая зондовая и электронная микроскопия являются инновационным прорывом в развитии микроскопической техники. Важнейшие преимущества данных микроскопических методов заключаются в получении изображений с нанометровым пространственным разрешением.

В 1954 году были опубликованы первые электронограммы солнечников, с тех пор сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) является традиционным микроскопическим методом, применяемым для изучения морфологии и определения систематического статуса протистов отряда Centrohelida. Строение чешуек и спикул характеризуется выраженным многообразием и является ключевым таксономическим признаком при идентификации протистов данной группы.

Широко распространенный метод СЭМ позволил описать более 100 видов центрохелид и сформировать систему, состоящую из 15 родов внутри трех семейств. В современных работах, касающихся изучения морфологии солнечников, была показана возможность использования атомно-силовой микроскопии (АСМ) как нового метода исследования морфологии центрохелид. АСМ позволила описать морфологию и идентифицировать три вида центрохелидных солнечников: *Heterophrys marina*, *Polyplacocystis amigua* и *Raineriophrys erinaceoides*.

Методом АСМ описаны ультраструктурные компоненты клеток центрохелид - аксоподии и ямки от стрекательных органелл - экструсом (рис.1). АСМ характеризуется простотой подготовки препаратов, позволяет сохранять нативные свойства, оценивать истинную трехмерную геометрию объектов. В то же время, используемый сканер (СММ-2000) имеет ограничения масштаба сканируемого поля 50×50×2 мкм, тогда как средний размер клетки солнечника выходит за указанные

пределы. Данный факт не позволяет исследовать морфологию перипласта в полном объеме.

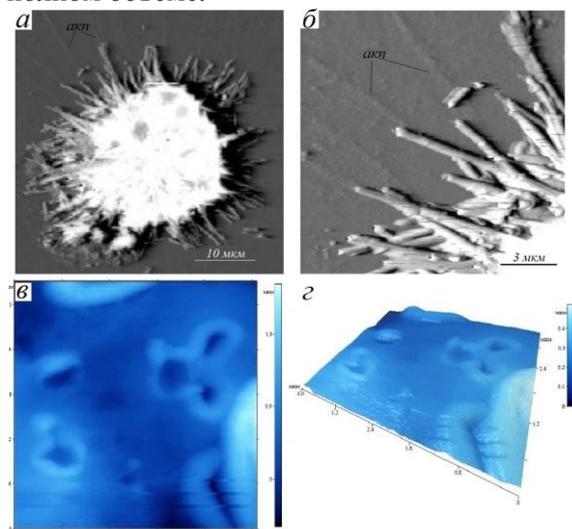


Рис. 1. Сканограммы (АСМ): а, б – аксоподии (акп); в, з – ямки от экструсом.

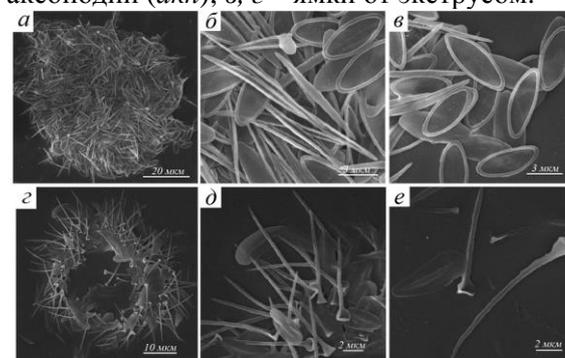


Рис. 2. Сканограммы (СЭМ): а-в – *Polyplacocystis amigua*; з-е – *Raineriophrys erinaceoides*.

Методом СЭМ (сканер LEO-1420) описана общая морфология центрохелид (рис. 2). СЭМ характеризуется быстрым получением высококонтрастных изображений, без ограничения масштаба сканируемого поля.

Таким образом, АСМ позволяет определять центрохелидных солнечников до вида, но с учетом отмеченных ограничений, её следует применять в качестве метода, альтернативного сканирующей электронной микроскопии.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ 2,4,6 – ТРИНИТРОТОЛУОЛА НА *BACILLUS SUBTILIS* SK1 МЕТОДАМИ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

О.А. Коновалова, Р.М. Зарипова, Д.К. Усманов, Г.Ю. Яковлева

Казанский (Приволжский) Федеральный университет

E-mail: olga.konovalova@bk.ru

Токсическое действие 2,4,6 – тринитротолуола (ТНТ) на микроорганизмы как с грамположительным, так и для грамотрицательным морфотипом строения клеточной стенки проявляется в замедлении или подавлении роста культуры, изменении морфологии и физических свойств клеток (уменьшение размеров и увеличении коэффициента преломления), снижении скорости утилизации глюкозы, подавлении дыхания и снижении трансмембранного потенциала [1-4]. Использование возможности сканирующей зондовой микроскопии позволили проанализировать изменения на поверхности клеток *Escherichia coli* K12 (бактерии с грамотрицательным морфотипом строения клеточной стенки) под действием ТНТ не только качественно, но и количественно. Было показано, что под действием высоких концентраций ксенобиотика (200 мг/л) изменяются не только морфология клеток (появляются округлые формы), но и структура клеточной стенки, отмечалась тенденция к уменьшению сил адгезии между зондом и поверхностью клеточной стенки бактерий [5].

Целью данной работы является использование возможностей атомно-силовой микроскопии (АСМ) для анализа токсического действия 2,4,6-тринитротолуола на *Bacillus subtilis* SK1.

Объектом исследования служил штамм *Bacillus subtilis* SK1 (грамположительный морфотип строения клеточной стенки) из музея кафедры микробиологии КФУ, выделенный из почв, загрязненных ТНТ. Инокулят выращивали в колбах на 100 мл на мясопептонном бульоне (МПБ) 16-18 ч при 30⁰С в условиях принудительной аэрации и вносили в среду до конечной концентрации $3,4 \cdot 10^7$ клеток/мл. Культивирование вели на синтетической среде следующего состава (г/л): (NH₄)₂SO₄ – 0.5; MgSO₄·7H₂O – 0.25; NaCl – 0.5; глюкоза – 3.0; ТНТ – 0.2; фосфатный буфер (0.2 М КН₂РО₄ / Na₂НРО₄, рН 7.0)- 4 % (об./об.). В контрольный вариант ТНТ не вносили.

Визуализацию на предметном стекле выполняли на атомно-силовом микроскопе Solver P47H, сканер 50×50 мкм (НТ-МДТ, Россия). Сканирование осуществляли на воз-

духе при комнатной температуре в полуконтактном режиме кремниевыми кантилеверами NSG11 (НТ-МДТ, Россия) и в контактном режиме кремниевыми кантилеверами CSG11 (НТ-МДТ, Россия) с радиусом закругления острия ~ 10 нм. Сканирование проводилось с разрешением 512×512 точек.

Методом АСМ были получены 2D-изображения клеток *B. subtilis* SK1, культивируемых 4 часа в присутствии ТНТ (опытный вариант) и без ксенобиотика (контроль). Как видно из рисунков 1 и 2 морфология клеток опытного образца отличается от контрольного. В контрольных образцах наблюдается преобладание палочковидных форм. Наряду с клетками обычного размера (1.8 мкм) отмечаются более мелкие (1.4 мкм) расположенные попарно клетки, что явно свидетельствует об активном росте (делении) культуры (рис. 3). Клетки опытных образцов в основном представлены мелкими как палочковидными (1.3 мкм), так и округлыми формами (0.8 мкм), причем количество последних преобладает (рис.4). Следует отметить, что в отличие от клеток контрольного варианта мелкие палочки редко располагаются попарно. Это свидетельствует о том, что клетки не интенсивно делятся, а уменьшаются в размере под действием ТНТ. Так же стоит отметить, что в опытном варианте наблюдаются шарообразные «гранулы», которые по размерам примерно в 2-3 раза уступают округлым клеткам.

С помощью полученных гистограмм распределения сил адгезии зонда к клеточной поверхности было показано, что под действием ТНТ происходит изменение поверхностных структур *B. subtilis* SK1 (рис. 5). Величина сил адгезии опытного варианта смещается в стороны меньших значений по сравнению с контролем. Аналогичные данные были получены нами ранее и для клеток *E. coli* K12 [5].

Следовательно, используя метод атомно-силовой микроскопии, было показано, что ТНТ оказывает одинаковое токсическое действие в отношении микроорганизмов вне зависимости от типа клеточной оболочки. Оно проявляется в уменьшении размеров клеток и смещении распределений сил адгезии между

зондом и клеточной поверхностью в зону меньших значений.

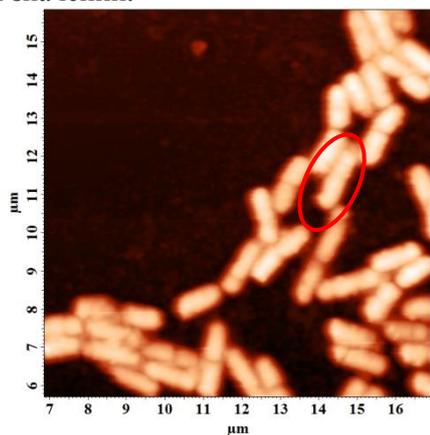


Рис. 1. АСМ-изображение *B. subtilis* SK1, культивируемых 4 часа без ТНТ.

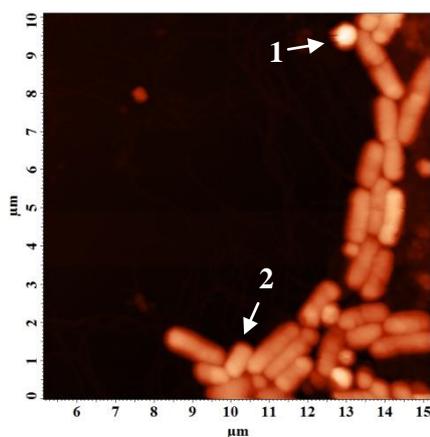


Рис. 2. АСМ-изображение *B. subtilis* SK1, культивируемых 4 часа в присутствии ТНТ: 1– округлые клетки; 2– мелкие палочковидные формы.

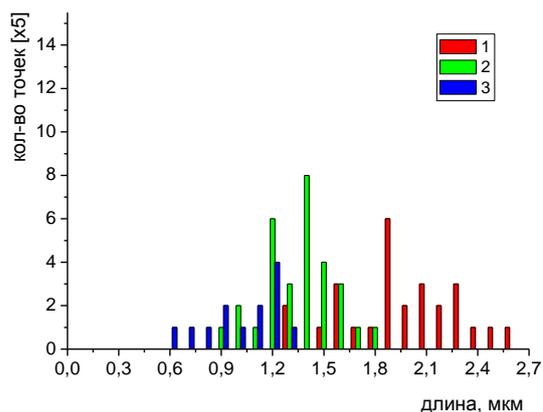


Рис. 3. Гистограммы распределения морфологических параметров *B. subtilis* SK1, культивируемых 4 часа без ТНТ: 1, 2 – палочковидные формы; 3 – округлые клетки.

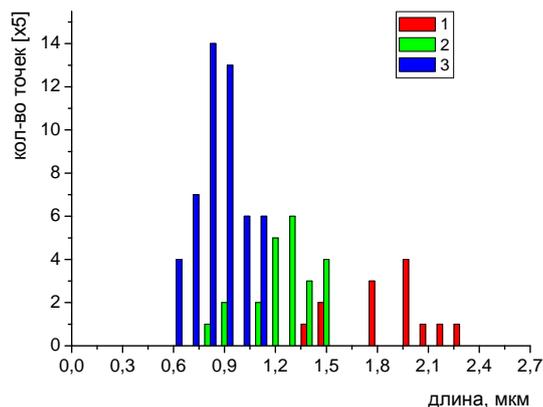


Рис. 4. Гистограммы распределения морфологических параметров *B. subtilis* SK1, культивируемых 4 часа в присутствии ТНТ: 1, 2 – палочковидные формы; 3 – округлые клетки.

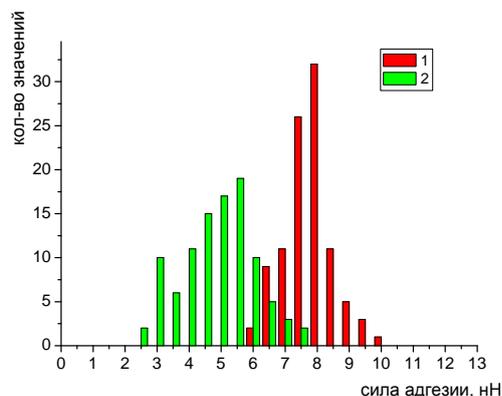


Рис. 5. Гистограмма распределения сил адгезии зонда к поверхности клеток *B. subtilis* SK1, культивируемых 4 часа на синтетической среде без (1) и в присутствии ТНТ (2).

Список литературы:

1. Куриненко Б. М., Яковлева Г. Ю., Дениварова Н. А., Абреимова Ю. В., Прикл. биохимия и микробиология, Т.39, 194-198 (2003).
2. Куриненко Б. М., Яковлева Г. Ю., Дениварова Н. А., Абреимова Ю. В., Прикл. биохимия и микробиология, Т.39, 313-317 (2003).
3. Куриненко Б.М., Дениварова Н.А., Яковлева Г.Ю., Прикл. биохимия и микробиология, Т.41, 53-57 (2005).
4. Черепнев Г. В., Велижинская Т. А., Яковлева Г. Ю., Дениварова Н. А., Куриненко Б. М., Микробиология, Т. 76, 377-382 (2007).
5. Konovalova O.A, Yakovleva G. Yu., Steryakov O. V., Trushin M.V., World Applied Sciences Journal, V.23, 507-509 (2013).

ПРИМЕНЕНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ В ИССЛЕДОВАНИИ АГРЕГАЦИИ σ^{70} -СУБЪЕДИНИЦЫ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ *E. COLI*

Кузьмина Н.В., Дубровин Е.В., Королёва О.Н., Ходак Ю.А., Друца В.Л., Яминский И.В.

Физический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова
nv.kuzmina@physics.msu.ru

σ -субъединица РНК-полимеразы инициирует процесс транскрипции в прокариотических клетках. Для *E. coli* такой молекулой является σ^{70} , которая на сегодняшний день не полностью закристаллизована, что осложняет изучение её структуры и функций [1]. Интересно, что до сих пор АСМ не применялась отдельно к изучению σ^{70} -субъединицы РНК-полимеразы, а между тем она имеет большой потенциал при изучении подобных биополимерных молекул. Ранее нами сообщалось, что данный белок способен к спонтанной агрегации. Это было показано методом прямого нанесения раствора белка из буфера 5 мМ MgSO₄, 20 мМ NaCl на слюду и сканированием полученных образцов с помощью атомно-силового микроскопа. На АСМ-изображениях были обнаружены палочкообразные агрегаты диаметром 5,4±0,2 нм. Важно отметить, что при замене материала подложки со слюды на высокоориентированный пиролитический графит, данный белок также показал способность к образованию палочкообразных агрегатов [2].

На основе анализа морфологии агрегатов σ^{70} -субъединицы мы предположили их амилоидную природу, которая была подтверждена в эксперименте по связыванию с Конго-красным красителем [2].

Фактическое формирование фибрилл контролируется сложным взаимодействием физических и химических факторов. Механизм агрегации и молекулярные основы образования амилоидных фибрилл все еще плохо изучены.

Нами была исследована роль N-концевого участка с использованием мутантных образцов белка с делециями $\Delta 1-73$ (D1), $\Delta 1-100$ (D2), и $\Delta 74-100$ (D4), у которых было удалено с 1 по 73, с 1 по 100 от N-конца и 26 внутренних аминокислотных остатка соответственно и изучена в сериях экспериментов *in vitro*. Для исследования способности мутантного белка к формированию амилоидоподобных структур использовался метод АСМ. Высокую способность к формированию палочкообразных структур мы наблюдали для мутанта D1: содержание агрегатов, адсорбированных на поверхность слюды из раствора

белка, содержащего 20мМ NaCl+5мМ MgSO₄, достигало 76%, что почти в 10 раз выше по сравнению с результатами для дикой σ^{70} -субъединицы (8%). Содержание палочкообразных агрегатов для мутанта D2 составило 7%, что схоже с результатами по дикой сигме. Для мутанта D4 способность к образованию агрегатов оказалась средней, содержание агрегатов составило 29%.

Биологические процессы в живых организмах происходят в водной фазе. Эксперименты по исследованию σ^{70} -субъединицы в буферном растворе подтвердили существование палочкообразных агрегатов в водной среде (рис.1).

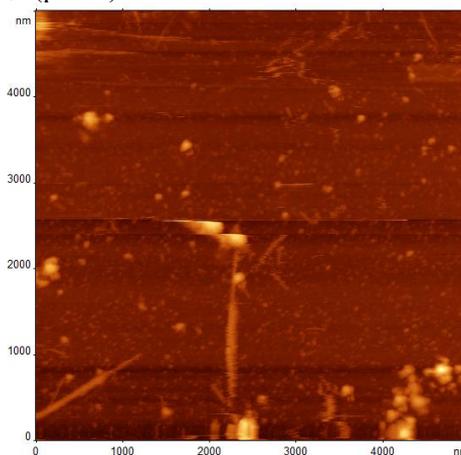


Рис.1. АСМ-изображение мутантного белка D2 в жидкости.

В литературе описывается промежуточная стадия образования амилоидных фибрилл - червеобразные структуры [3]. Нами были обнаружены подобные структуры для σ^{70} -субъединицы РНК-полимеразы.

Работа поддержана программой грантов Президента РФ для молодых учёных (МК-312.2013.2) и грантом РФФИ 13-04-01504.

Список литературы:

1. von Hippel PH, et. al. Ann Rev Biochem, 53:389-446 (1984).
2. E.V.Dubrovin et al., Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine, 8, 54-62 (2012).
- Annalisa Relini et. al., Biophysical Journal, 98, 1277-1284 (2010).

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗЛУЧЕНИЯ НЕ-НЕ ЛАЗЕРА НА ЭРИТРОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

И.А. Лобов, Н.А. Давлеткильдеев
ФГБОУ ВПО «ОмГУ им. Ф.М. Достоевского»
LI_87@mail.ru

Во всём мире широко используется лазерная терапия для профилактики многих заболеваний, но до сих пор нет общепринятой концепции взаимодействия лазерного излучения с клетками организма.

Целью данной работы является исследование влияния дозы излучения гелий-неонового лазера на шероховатость и модуль упругости мембраны эритроцитов человека с помощью методов атомно-силовой микроскопии.

Предполагается, что в роли первичных акцепторов энергии He-Ne лазерного излучения могут выступать ферменты антиоксидантной защиты – каталаза, осуществляющая расщепление перекиси водорода, пероксидаза, катализирующая окисление различных органических веществ перекисями, и супероксиддисмутаза (СОД), участвующая в инактивации супероксидного кислородного радикала. Эти ферменты поглощают свет вблизи 633 нм.

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) носит общебиологический характер и является необходимым метаболическим звеном. Оно протекает в здоровом организме и связано с процессом постоянного обновления липидного слоя клеточных мембран, с синтезом ряда гормонов, медиаторов, окислительным фосфорилированием, липолитической активностью и активностью ряда ферментов.

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) позволяет не только получать изображения клеток с высоким разрешением, но и исследовать их механические свойства на основе метода силовой спектроскопии. В основе этого метода лежит измерение степени деформации поверхности при её взаимодействии с вершиной зонда АСМ. Высокое пространственное разрешение в совокупности с возможностью работы в жидкой среде делает этот метод хорошим инструментом для исследований в области биологии, медицины и фармакологии.

Метод силовой спектроскопии позволяет рассчитать абсолютное значение модуля упругости (модуль Юнга) по силовым кривым с использованием решения задачи Герца

[1]. В случае зонда полусферической формы с радиусом r зависимость давящей силы (F) зонда на биологический образец от глубины продавливания (h) описывается формулой:

$$F = \frac{4\sqrt{r}}{3} E h^{\frac{3}{2}}, \quad (1)$$

в которой E является модулем упругости.

Эритроциты человека выделялись из свежей цельной крови, не содержащей антикоагулянты, методом центрифугирования. Сильно разведённая суспензия эритроцитов помещалась в кварцевую кювету с длиной оптического пути 5 мм. Для облучения использовался He-Ne лазер ЛГН-118А с мощностью излучения 20 мВт. Дозы выбирались таким образом, чтобы малые дозы соответствовали примерным дозам, получаемым эритроцитами при внутривенном облучении крови при кровотоке за сеанс терапевтического лазерного облучения. Непосредственно после облучения клетки наносились на стеклянную подложку, покрытую слоем поли-л-лизина для увеличения адгезии, и фиксировались 0,5% раствором глутарового альдегида. Фиксация позволила оставить неизменной форму мембраны эритроцитов, что дало возможность измерить значение шероховатости поверхности мембраны клеток непосредственно после воздействия лазерного излучения.

Динамика изменения модуля упругости и шероховатости мембраны эритроцитов при воздействии малых доз излучения (до 0,3 Дж/см²) He-Ne лазера приведено на рис. 1. Видно, что изменение модуля упругости имеет немонотонный характер. При дозе излучения 0,075 Дж/см² наблюдается уменьшение жёсткости мембраны, которое можно связать с изменением фосфолипидного состава мембран эритроцитов в результате активации процессов перекисного окисления липидов [2, 3]. Дальнейшее возрастание модуля упругости мембраны можно связать со стимуляцией выработки основных клеточных ферментов антиоксидантной защиты, компенсирующих процессы липидной перекисидации. При достижении определенного уровня липидной перекисидации в живых клетках

включаются адаптационные механизмы, направленные на стабилизацию липидного состава мембраны. В фосфолипидах мембраны значительно увеличивается содержание ненасыщенных жирных кислот и уменьшается содержание легко окисляемых насыщенных жирных кислот, при этом снижается микровязкость липидной фазы и повышаются жидкостные свойства мембраны.

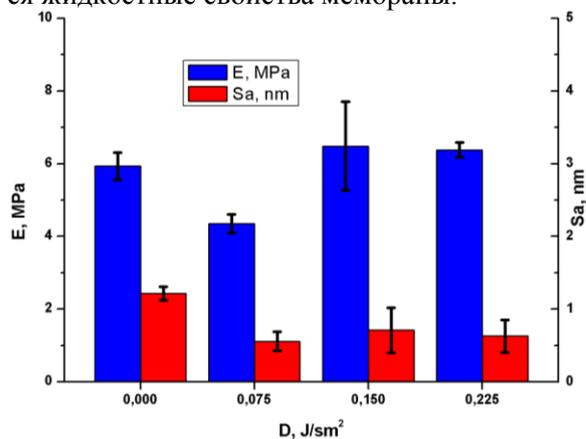


Рис. 1 Динамика изменения модуля упругости и средней шероховатости мембран эритроцитов при воздействии малых доз излучения He-Ne лазера

Значительное снижение величины модуля упругости при дозе 1,5 Дж/см² свидетельствует о существенном накоплении продуктов процесса перекисного окисления липидов. Дальнейший монотонный рост модуля упругости указывает не на преобладание механизма выработки ферментов антиоксидантной защиты, а на значительное изменение морфофункционального состояния мембраны эритроцитов вследствие накопления большого количества продуктов перекисного окисления липидов. При накоплении продуктов ПОЛ может происходить структурная реорганизация мембраны с образованием малоподвижных липидных кластеров, ограничивающих подвижность встроенных в мембрану белковых комплексов [4].

Следует отметить, что с увеличением дозы излучения возрастает разброс значений средней шероховатости мембраны, так же указывающий на неоднородное смещение белковых комплексов в липидных кластерах структурно реорганизованной мембраны эритроцита.

Таким образом, при воздействии большими дозами лазерного излучения происходит изменение морфофункционального состояния мембраны эритроцитов, обусловленное преимущественным влиянием процесса ПОЛ. Накопление продуктов перекис-

ного окисления липидов приводит к необратимой структурной реорганизации мембраны, снижению ее эластичности и функциональной активности.

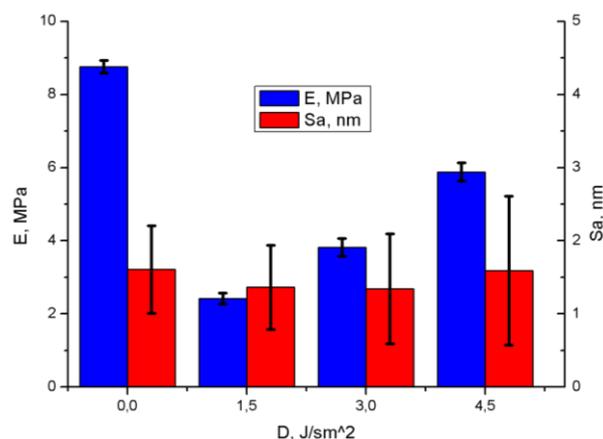


Рис. 2 Динамика изменения модуля упругости и средней шероховатости мембран эритроцитов при воздействии больших доз излучения He-Ne лазера

Таким образом, при воздействии малых доз лазерного излучения (до 0,3 Дж/см²) происходит немонотонное изменение среднеквадратичной шероховатости и модуля упругости мембраны эритроцитов, обусловленное влиянием двух конкурирующих процессов: перекисного окисления липидов и активации клеточных ферментов антиоксидантной защиты. Динамика изменения среднеквадратичной шероховатости и модуля упругости мембраны эритроцитов при воздействии большими дозами лазерного излучения (более 1,5 Дж/см²) свидетельствует о преобладании процессов перекисного окисления липидов. Накопление продуктов перекисного окисления липидов приводит к необратимой структурной реорганизации мембраны с образованием малоподвижных липидных кластеров, снижению эластичности и функциональной активности мембраны.

Список литературы:

1. Kurihara K., *Advances in Colloid and Interface Science*, V. 71-72. P. 243-258 (1997).
2. Богатырёва В.В., Москалёва А.Ю., Тарлыков В.А., *Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики*, № 3. - С. 262-272 (2007).
3. Захаров С.Д., Иванов А.В., *Светокислородный эффект – физический механизм активации биосистем квазимонохроматическим излучением*, Москва: ФИАН РАН, 2006.
4. Simons K., Ikonen E., *Nature* 387, P.569–572; (1997).

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ПЛЁНОК ПОЛИАНИЛИНА И КОМПОЗИТА ПОЛИАНИЛИНА С МНОГОСТЕННЫМИ УГЛЕРОДНЫМИ НАНОТРУБКАМИ ПРИ ДОПИРОВАНИИ ИХ ДОДЕЦИЛ СУЛЬФОКИСЛОТОЙ

И.А. Лобов¹, Н.А. Давлеткильдеев², А.С. Фисюк¹,
Д.В. Стецько², Е.А. Козлова¹

¹ ФГБОУ ВПО «ОмГУ им. Ф.М. Достоевского»

² Омский научный центр СО РАН

LI_87@mail.ru

Органические полимеры, способные проводить электричество за счет частичного окисления или восстановления, являются перспективными классами современных материалов. Они обладают расширенным π -сопряжением вдоль полимерной цепи и показывают полупроводниковое поведение [1].

Полианилин (ПАНИ) существует в различных формах, отличающихся по химическим и физическим свойствам. Наиболее распространенный зеленый протонированный эмералдин имеет проводимость на полупроводниковой уровне [2].

Несмотря на то, что многочисленные исследования позволили сформировать некое понимание природы связи углеродных нанотрубок с полимерами, на сегодняшний день ещё не существует физико-химического количественного и качественного описания этих взаимодействий.

ПАНИ получен методом окислительной полимеризации анилина [3]. Перегранный непосредственно перед использованием анилин добавлялся в раствор LiCl (для предотвращения замерзания при пониженных температурах) в этаноле и 3М HCl. Отдельно приготавливался раствор персульфата аммония в соляной кислоте с добавлением LiCl. Для обоих растворов pH=2 (при необходимости добавляли HCl). Растворы охлаждали до -200С и медленно добавляли раствор персульфата аммония к анилину при постоянном перемешивании. После некоторого индукционного периода наблюдается изменение цвета реакционной смеси (голубой, затем зеленый) и затем выпадает осадок. Реакцию останавливали через.

Для получения композита полианилина с многостенными углеродными нанотрубками (ПАНИ/МУНТ) при приготовлении раствора анилина вместе с изопропиловым спиртом добавлялись нелегированные МУНТ, предварительно обработанные ультразвуком в течение одного часа.

Такой электропроводящий полимер технологически не очень интересен, потому что он не может быть расплавлен и ни в чем не растворяется. Поэтому его переводят в основную форму, смешивая его с 0,1М раствором аммиака и оставляя перемешиваться в течение суток. После чего полимер отфильтровывается на воронке Бюхнера, промывается дистиллированной водой, спиртом и эфиром. Основная форма полианилина и композита растворима в N-метилпирролидоне

Плётки ПАНИ и ПАНИ/МУНТ получали методом spin-coating (толщиной до 200 нм) и dip-coating (толщиной более 1 мкм) на поверхности монокристаллического кремния.

После получения плёнок различной толщины, полимер переводился в электропроводящую форму посредством допирования его додецил сульфокислотой в течение 5 мин. После чего подложки отмывались в дистиллированной воде и сушились на воздухе при комнатной температуре.

На Рис. 1 приведено АСМ изображение поверхности плёнки толщиной 50 нм, характерное как для ПАНИ, так и для ПАНИ/МУНТ. Видно, что молекулы полимера образуют зернистую структуру плёнки. Шероховатость поверхности 20 нм.

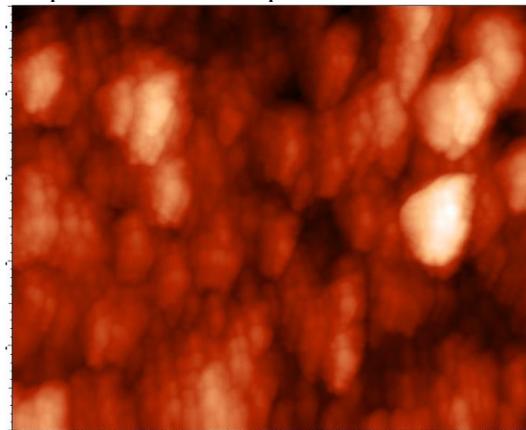


Рис. 1. Типичное АСМ-изображение поверхности плёнки ПАНИ и ПАНИ/МУНТ толщиной 50 нм. Размер скана 5x5 мкм.

В случае плёнки полианилина толщиной 150-200 нм после допирования образуется волокончатая структура. Диаметр волокон колеблется от 70 до 200 нм. При этом видно, что сами волокна состоят из молекул полимера, слегка вытянутые поперёк волокон. Размер молекул полианилина колеблется от 28 до 32 нм. Среднеквадратичная шероховатость поверхности равна 22 нм.

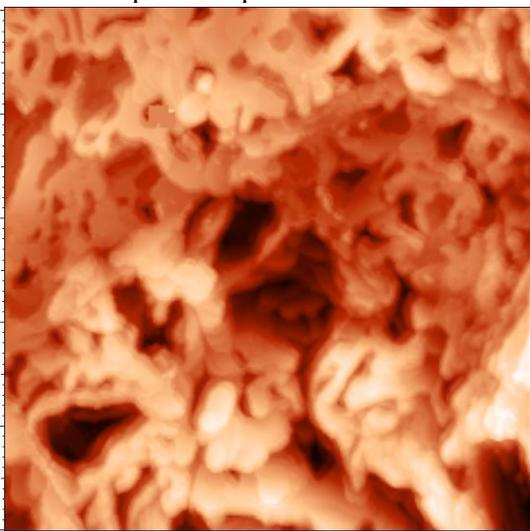


Рис. 2. АСМ-изображение плёнки ПАНИ толщиной 150-200 нм. Размер скана 5x5 мкм.

В случае плёнки ПАНИ/МУНТ толщиной 150-200 нм наблюдается плоская полислоенная структура (Рис. 3). Толщина одного слоя около 4 нм, что соответствует удвоенной длине додецил сульфокислоты с помещённым между ними фрагментом молекулы полианилина. При этом не видна ячеистая структура образований, как это было во всех плёнках полимера и композита различной толщины.

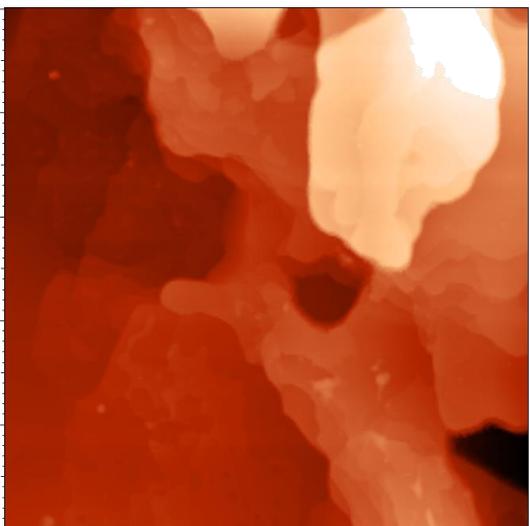


Рис. 3. АСМ-изображение плёнки ПАНИ/МУНТ толщиной 150-200 нм. Размер скана 5x5 мкм.

При увеличении толщины плёнки в десятки раз (больше 1 мкм) как для ПАНИ, так и для ПАНИ/МУНТ формируется сильно развитая пористая поверхность (Рис. 4). Размер пор для ПАНИ лежит в диапазоне от 350 до 1200 нм, а для ПАНИ/МУНТ от 550 до 750 нм. Перепад высот в плёнках достигает 550 и 600 нм, а среднеквадратичная шероховатость 75 и 70 нм для полимера и композита соответственно. При значительном увеличении видна зернистая структура поверхности с характерным размером около 30 нм.

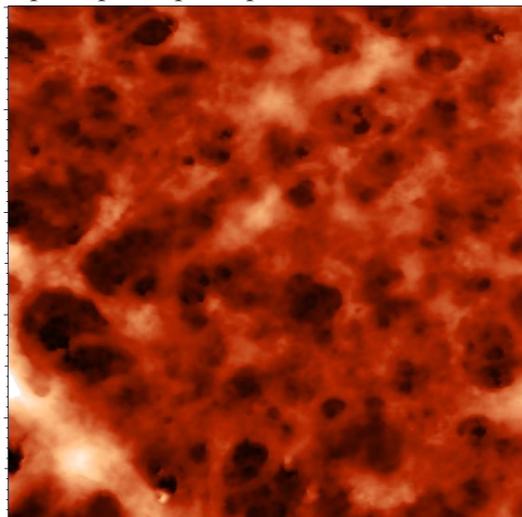


Рис. 4. Типичное АСМ-изображение поверхности плёнки ПАНИ и ПАНИ/МУНТ толщиной более 1000 нм. Размер скана 10x10 мкм.

Таким образом, в зависимости от толщины плёнки полианилина или композита на его основе в виде оснований после допирования образуются структуры с различными морфологиями поверхности. С увеличением толщины плёнки увеличивается неоднородность и возрастает шероховатость поверхности.

Список литературы:

1. Menon R., Cao Y., Moses D., Heeger A. J., American Physical Society, Physical Review B, vol.47, no.4, P.1758-1764 (1993).
2. Cui Z., Qi J., Xu X., Inorganic Chemistry Communications, 35, P. 260-264 (2013).
3. Bieñkowski K., A dissertation in chemistry, Warsaw University of Technology, P. 39 (2006).

СИНТЕЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА СТАБИЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

В.В. Макаров,¹ А.О. Дудник,² О.В. Сеницина,² И.В. Яминский,²

Н.О. Калинина¹

¹ НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ

² Физический факультет МГУ

makarovvalentine@gmail.com

Растительные экстракты содержат значительные количества различных метаболитов, в том числе терпеноидов, полифенолов, сахаров, алкалоидов, фенолов и белков, которые могут биовосстанавливать ионы металлов в наночастицы. Нам удалось синтезировать аморфные наночастицы железа из солей железа в водных экстрактах двудольных (*Nicotiana benthamiana*) и однодольных (*Hordeum vulgare*) растений и охарактеризовать эти наночастицы с помощью методов ТЭМ, ДЛС, РСА, РФЭС и СХПЭЭ. В экстрактах *H. vulgare* наблюдался синтез более мелких наночастиц (средний диаметр 10 нм), чем в экстрактах *N. benthamiana* (средний диаметр 20 нм). Анализ наночастиц методом РФЭС показал, что энергии связывания для 2р электронов железа были типичны для оксида железа Fe₃O₄, где атомы железа находятся в смешанной (II и III) степени окисления. Синтезированные железосодержащие наночастицы оказались нестабильны и склонны к агрегации: через час после синтеза гидродинамический диаметр наночастиц увеличивался более чем в 10 раз. Показано, что добавление 40 мМ цитратного буфера pH 3,0 к растительным экстрактам значительно

стабилизирует наночастицы, препятствуя их агрегации. Обнаруживаемая разница в размерах наночастиц, измеренных методами ТЭМ и ДЛС, вероятно, указывает на присутствие в их составе органических компонентов. Методом АСМ выявлены текстурные различия между растительными экстрактами: экстракт *H. vulgare* содержит наноразмерные органические агрегаты меньшего размера, чем экстракт *N. benthamiana*. Предполагается, что эти агрегаты могут выступать в качестве центров нуклеации, а различная морфология и размер агрегатов может определять структурную гетерогенность наночастиц, синтезируемых в экстрактах различных растений в солей металлов.

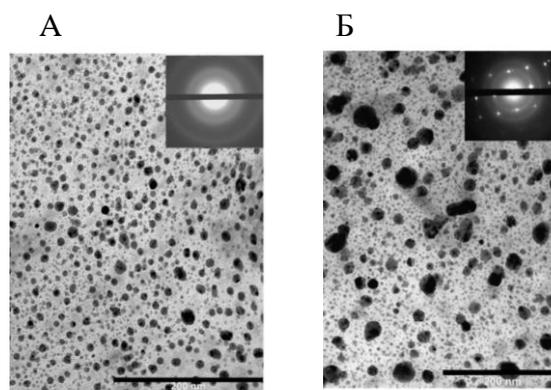


Рис.1 ЭМ-микрофотографии наночастиц из экстрактов *N.benthamiana* (А) и ячменя (Б)

ФЕНОМЕНОЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РАССЕЙЯНИЯ ИЗЛУЧЕНИЯ В ТОНКИХ ПРОЗРАЧНЫХ СРЕЗАХ

Т.В. Данилова, А.О. Мантуров

Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.
tvdan521@gmail.com, manturovao@gmail.com

Прогресс в развитии оптической микроскопии определяется достижимым разрешением в плоскости объекта (порядка 0.2-0.3 мкм) и диапазоном рабочих длин волн (от УФ до ИК-диапазона). Данные характеристики, с одной стороны, связаны между собой в смысле соотношения Релея для предела разрешения, ограниченного дифракцией на оптической системе микроскопа. С другой стороны, предельно достижимое разрешение и качество получаемого изображения определяется рассеиванием излучения в образце (тонком срезе). Предельные значения разрешения, ограниченного свойствами образца, с трудом поддаются точным аналитическим оценкам, поскольку, в конечном итоге, сопряжены с необходимостью решения уравнений Максвелла для сильно неоднородной среды.

Однако, возможно применение упрощенных подходов, позволяющих получать модель дифракционного рассеяния излучения на заданной внутренней структуре образца. Такие подходы, как правило, основаны на комбинировании численного моделирования распространения излучения (например, на основе волнового уравнения для плоской волны), и применении модели возбуждения (переизлучения) поля элементарными излучателями (например, аппроксимируемыми точками или сферами с заданными свойствами). Одна из разновидностей схем такого моделирования и представлена в настоящей работе.

Схема, описывающая моделирование процесса рассеяния излучения в тонком образце, показана на рис. 1. Предполагается, что размеры образца могут быть сопоставимы с длиной волны излучения, и для моделирования рассеивания может быть использована теория Ми, позволяющая аналитически описать параметры рассеивания плоской электромагнитной волны сферической частицей с произвольным соотношением характерного размера частицы d и длины волны поля λ [1].

Внутренняя структура образца в виде тонкого среза может быть представлена набором сфер, уложенных в несколько слоев по толщине образца. Каждая сфера характеризуется

координатами (x,y,z) , диаметром d , оптическими показателями преломления n и поглощения χ . На рис. 2 сферы в толще среза имеют различные диаметры и, возможно, различные оптические характеристики. Таким образом, возможно моделирование образцов с неоднородной структурой.

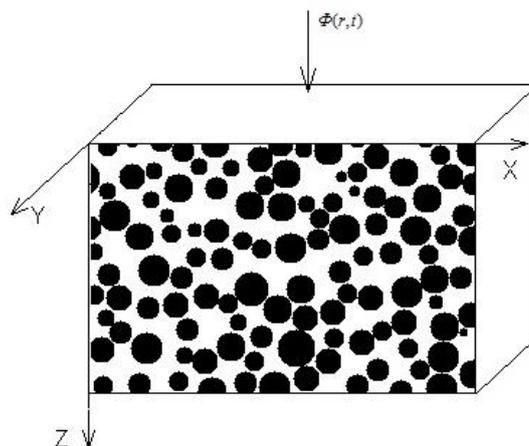


Рис. 1. Модель среды в виде тонкого среза

Допускаем, что падающее на срез сверху излучение коллимировано, представлено плоской волной вида $\Phi(r,t) = A \exp(-i(\omega t - kr))$ и плотность потока энергии распределяется по площади образца равномерно, дифракция на оптической системе не учитывается. Возбуждение поля на сферах учитывается в предположении, что каждая сфера получает энергию, равную произведению вектора Умова-Пойнтинга падающего излучения на площадь своего сечения.

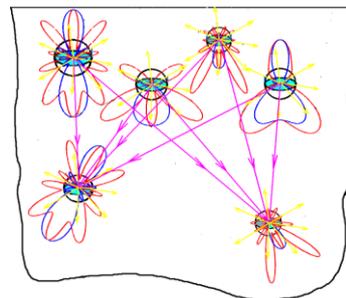


Рис. 2. Модель распространения энергии поля в тонком срезе. Для данного набора сфер условно показаны индикатрисы рассеяния, рассчитанные согласно теории Ми

Моделирование проводится итерационно. Считаем, что каждая сфера частично поглощает, и частично переизлучает полученную энергию на соседние сферы и далее, за пределы среза (рис. 2).

В сферической системе координат компоненты векторов электромагнитного поля, рассеянного частицей, могут быть записаны как:

$$E_r^{(s)} = \frac{1}{(k^{(1)})^2} \frac{\cos \varphi}{r^2} \sum_{l=1}^{\infty} l(l+1)^e B_l \xi_l^{(1)'}(k^{(1)}r) \pi_l \sin \theta$$

$$H_r^{(s)} = \frac{i}{k^{(1)}k_2^{(1)}} \frac{\sin \varphi}{r^2} \sum_{l=1}^{\infty} l(l+1)^m B_l \xi_l^{(1)}(k^{(1)}r) \pi_l \sin \theta$$

$$E_\theta^{(s)} = \frac{1}{k^{(1)}} \frac{\cos \varphi}{r} \sum_{l=1}^{\infty} \left\{ {}^e B_l \xi_l^{(1)'}(k^{(1)}r) \tau_l + i^m B_l \xi_l^{(1)}(k^{(1)}r) \pi_l \right\}$$

$$H_\theta^{(s)} = -\frac{1}{k^{(1)}} \frac{\sin \varphi}{r} \sum_{l=1}^{\infty} \left\{ {}^e B_l \xi_l^{(1)}(k^{(1)}r) \pi_l - i^m B_l \xi_l^{(1)'}(k^{(1)}r) \tau_l \right\}$$

$$E_\varphi^{(s)} = -\frac{1}{k^{(1)}} \frac{\sin \varphi}{r} \sum_{l=1}^{\infty} \left\{ {}^e B_l \xi_l^{(1)'}(k^{(1)}r) \pi_l + i^m B_l \xi_l^{(1)}(k^{(1)}r) \tau_l \right\}$$

$$H_\varphi^{(s)} = \frac{1}{k_2^{(1)}} \frac{\cos \varphi}{r} \sum_{l=1}^{\infty} \left\{ i^m B_l \xi_l^{(1)'}(k^{(1)}r) \pi_l - {}^e B_l \xi_l^{(1)}(k^{(1)}r) \tau_l \right\}$$

где коэффициенты ${}^e B_l$ и ${}^m B_l$ имеют вид

$${}^e B_l = i^{l+1} \frac{2l+1}{l(l+1)} \frac{n \psi_l'(q) \psi_l(nq) - \psi_l(q) \psi_l'(nq)}{\hat{n} \xi_l^{(1)'}(q) \psi_l(\hat{n}q) - \xi_l^{(1)'}(q) \psi_l(\hat{n}q)}$$

$${}^m B_l = i^{l+1} \frac{2l+1}{l(l+1)} \frac{\hat{n} \psi_l(q) \psi_l'(\hat{n}q) - \psi_l'(q) \psi_l(\hat{n}q)}{\hat{n} \xi_l^{(1)}(q) \psi_l'(\hat{n}q) - \xi_l^{(1)}(q) \psi_l'(\hat{n}q)}$$

$$\pi_l = \frac{P_l^1}{\sin \theta}, \quad \tau_l = \frac{dP_l^1}{d\theta}, \quad \xi_l(\rho) = \sqrt{\frac{\pi \rho}{2}} h_{l+\frac{1}{2}}^{(1)}(\rho) = \rho h_l^{(1)}(\rho)$$

$$\psi_l(\rho) = \sqrt{\frac{\pi \rho}{2}} J_{l+\frac{1}{2}}(\rho) = \rho j_l(\rho)$$

функции $h_l^{(1)}$ - функции Ганкеля первого рода; j_l - сферические функции Бесселя первого рода; P_l^1 - присоединенные полиномы Лежандра первого рода, штрих у функций означает дифференцирование по аргументу. Волновые числа, соответственно, равны

$$k_1^{(I)} = i \frac{2\pi}{\lambda_0} \varepsilon^{(I)}, \quad k_2^{(I)} = i \frac{2\pi}{\lambda_0}, \quad k^{(I)} = \frac{2\pi}{\lambda_0},$$

$$k_1^{(II)} = i \frac{2\pi}{\lambda_0} \left(\varepsilon^{(II)} + i \frac{4\pi\sigma}{\omega} \right), \quad k_2^{(II)} = i \frac{2\pi}{\lambda_0},$$

$$k^{(II)} = \frac{2\pi}{\lambda_0} \sqrt{\varepsilon^{(II)} + i \frac{4\pi\sigma}{\omega}}, \quad q = \frac{2\pi}{\lambda^{(I)}} a, \quad \hat{n} = \frac{k^{(II)} k_2^{(I)}}{k^{(I)} k_2^{(II)}}$$

Величины, относящиеся к среде среза, имеют индекс (I), относящиеся к рассеивающим сферам - (II). Верхний индекс (I) обозначает порядок функции.

Для повышения скорости и точности вычислений расчеты функций проводились по рекуррентной схеме. Полиномы Лежандра вычислялись методом прямой рекурсии, а

функции Ганкеля - методом обратной рекурсии, поскольку вычисление их прямой рекурсией неустойчиво и приводит к неприемлемым ошибкам округления. Для окончания расчета был использован не критерий малости очередного члена в ряде Ми, а критерий, по которому число членов ряда Ми не должно превышать ближайшее целое $kq + 4q^{1/3} + 2$.

Энергия, получаемая i -й сферой, определялась как произведение площади его сечения на сумму векторов Умова-Пойнтинга потоков энергии от всех остальных источников излучения в данной точке:

$$W_i = S_i \cdot \sum_{j=0}^{N-1} [E_j \times H_j], \quad (i \neq j), \quad \text{где } S_i - \text{площадь}$$

сечения i -й сферы в плоскости, ортогональной направлению вектора $\sum_{j=0}^{N-1} [E_j \times H_j]$,

$[E_j \times H_j]$ - плотность потока энергии (вектор Умова-Пойнтинга), создаваемого j -й сферой. Результаты применения предложенной модели приведены на рис.3. Показаны распределения интенсивности излучения на нижней плоскости среза, в случае толщины среза 0.1мкм, 1.0 мкм, 10.0 мкм и 100.0 мкм соответственно (рис.3б-д). Пространственное распределение интенсивности падающего излучения ($\lambda=680$ нм) приведено на рис.3а. Рассеивающие объекты (сферы) имели случайное равномерное распределение по объему, а также случайное распределение d в интервале 0.1...1.0мкм

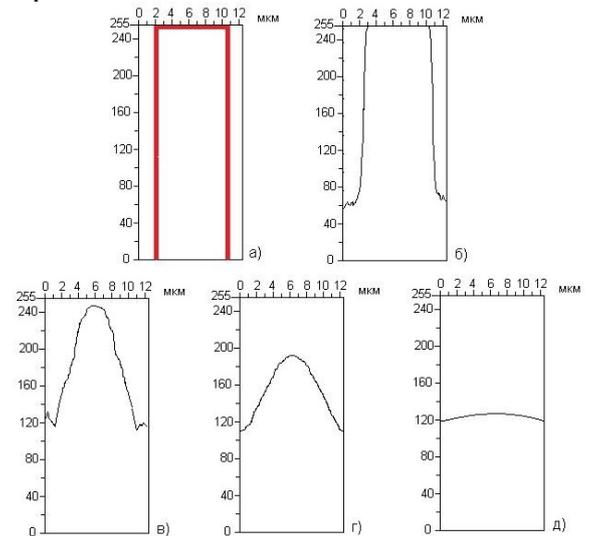


Рис. 2. Распределение интенсивности излучения на нижней плоскости среза (численное моделирование)

Список литературы:

1. Kerker M. The Scattering of Light and Other Electromagnetic Radiation. Academic Press, New York, 1997, 666 p.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ РЕЗИСТИВНОЙ МИКРОСКОПИИ

В.Р. Шапошников, Г.Б. Мешков, Л.С. Ягужинский, И.В. Яминский
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
НИИФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ имени М.В.Ломоносова,
Центр перспективных технологий
meshkov@polly.phys.msu.ru

Митохондрии являются важным функциональным элементом в большинстве эукариотических клеток. Они участвуют в ключевых внутриклеточных процессах – дыхании и преобразовании энергии. Существуют предположения, что дисфункция митохондрий приводит к перепроизводству активных форм кислорода и провоцирует возникновение раковых клеток. Белки окислительно-фосфорилирующей системы митохондрий способны образовывать комплексы и более сложные кристаллоподобные суперкомплексы, изучение структуры которых значимо для понимания функций самих белков и работы митохондрий в целом.

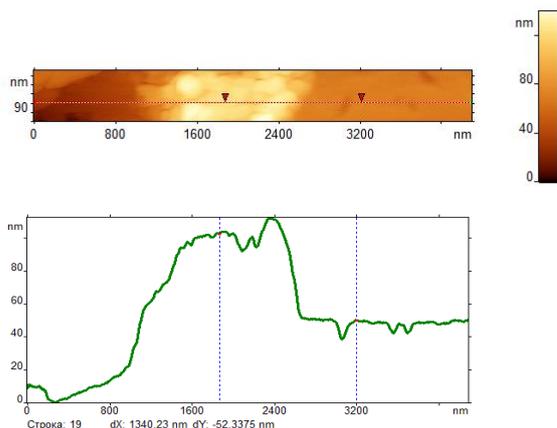


Рис. 1. Топография поверхности мембраны на графите в окружении липидного слоя и её сечение по выбранной линии.

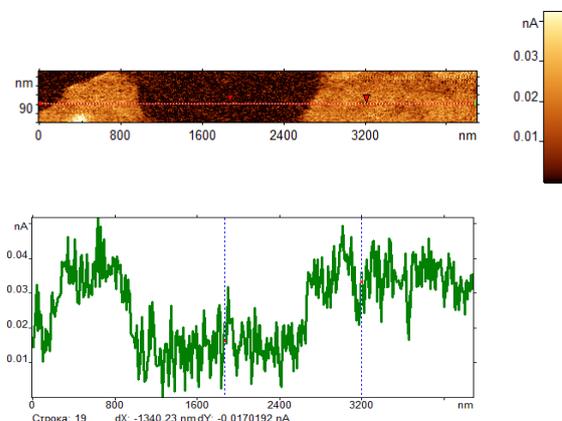


Рис. 2. Карта распределения тока протекающего через зонд, соответствующая области поверхности приведенной на рис. 1, и аналогичное сечение по выбранной линии.

Синхронное измерение нескольких различных параметров в каждой точке исследуемого объекта в сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ) открывает новые возможности в исследовании живой природы на молекулярном уровне. Измерение множества характеристик поверхности в каждой точке позволяет получить дополнительную информацию об исследуемом объекте, и иногда повысить разрешающую способность метода, которая обычно определяется изменением свойств поверхности по измеряемому параметру. В случае суперкомплексов белков, синхронное измерение топографии (формы) и распределения проводимости по его поверхности, может позволить различить составляющие его белки и белковые комплексы. Силовое взаимодействие зонда с белками, как правило, одинаково, а проводящие свойства конкретного белка определяются его структурой. На рис. 1 и 2 приведен, пример, изображений СЗМ ФемтоСкан (Центр перспективных технологий, Россия) при синхронном измерении топографии и проводимости поверхности митохондриальной мембраны нанесенной на подложку из высокоориентированного пиролитического графита в условиях гипотонии.

На Рис. 1 приведена топография поверхности и соответствующее сечение, проведенное через мембрану. На рис. 2 показана карта распределения тока протекающего через зонд в каждой точке поверхности в области, приведенной на рис. 1 и соответствующее сечение. Разность потенциалов между зондом и поверхностью графита составляла 8 В. Проводимость мембраны может быть оценена величиной менее 0,1 мСм/см.

Таким образом, высокочувствительные токовые измерения с большим пространственным разрешением являются перспективными в плане применения для исследования биообъектов. В работе также обсуждаются вопросы исследования структуры и формы суперкомплексов белков дыхательной цепи митохондрий с использованием сканирующей зондовой микроскопии.

QUANTITATIVE CHARACTERIZATION OF ADHESION AND MECHANICS OF SINGLE CELLS AND THEIR INTERACTIONS WITH BIOMATERIALS BY AFM

M. Minin, T. Müller, M. Richter, J. Barner, A. Hermsdörfer, C. Pettersson, T. Jähnke

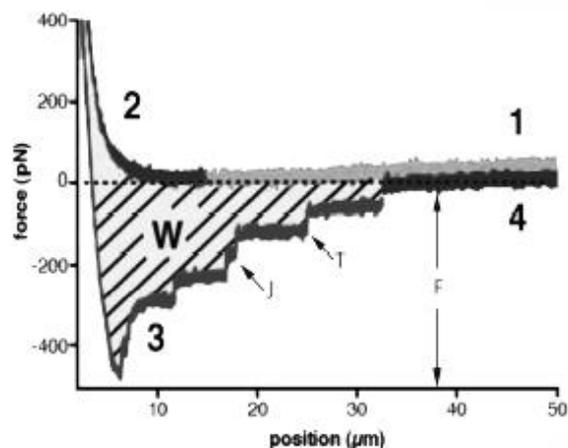
JPK Instruments AG, Bouchéstrasse 12, 12435 Berlin, Germany
minin@imc-systems.ru

Topography, roughness and mechanical properties of biomaterials are crucial parameters influencing cell adhesion/motility, morphology and mechanics as well as the development of stem/progenitor cells [1 - 5]. Atomic force microscopy is a powerful tool not only to study the morphology in terms of high resolution imaging and roughness measurements, but also to map mechanical and adhesive properties of the sample/cells in high resolution. Combining these remarkable abilities with advanced optical microscopy allows for extensive characterization of biomaterials. The JPK NanoWizard® 3 AFM provides advanced imaging and mapping modes, which can be combined with inverted and upright optical microscope techniques.

Using single cell force spectroscopy (SCFC), cell adhesion can be quantified [6], and the contribution of different components e.g. from the extra cellular matrix, can be assessed [7]. Additionally, based on scanning force microscopy the nano-indentation technique has emerged as a useful tool to determine elastic properties. Nano-mechanical analysis of cells increasingly gains in importance in different fields in cell biology like cancer research [8] and developmental biology. We present a strategy to comprehensively characterize biomaterials as well as their interaction with cells and influence on cell behavior.

Adhesion dynamics between cells and biomaterials play a crucial role in characterizing and evaluating of e.g. implant materials. AFM based SCFS allows for characterizing these interactions by testing the adhesion of one single cell to any substrate. Binding forces down to the molecular level as well as mechanical properties can be measured and advanced light microscopy techniques (e.g. epifluorescence TIRF CLSM) can be used simultaneously to follow these processes optically.

The CellHesion® technique is our tailor made solution to studying these interactions providing a 100 micron z-range, which ensures a complete separation of the probe cell from the sample. Dedicated sample holders provide physiological conditions (temperature, perfusion) for different sample supports, like thin glass Petri dishes or cover slips.



Illus. 1 Cell Adhesion

The results appear as a force-distance curve. The force is automatically calculated from the cantilever deflection and the distance reflects the separation of the probe cell and the target surface (maximum 100µm).

Parameters that can be obtained from the force-distance curve: F - the maximal unbinding force J single protein protein unbinding events; T - single protein-protein unbinding events preceded by the formation of a membrane tether; W- the total work of removal of the probe cell from the target surface.

Analysis of sub-features of the force-distance retraction curve allows the determination of the force required for the unbinding of single protein-protein interactions at the cell surface.

Bibliography:

1. Elter et al., Eur. Biophys. J. 40: 317-327 (2011)
2. Docheva et al., Biochem. Biophys. Res. Com., 402, 361 - 366 (2010)
3. Engler et al., Cell, 126, 677 - 689 (2006)
4. Selhuber Unkel et al., Biophys J., 98, 543 - 551, (2010)
5. Kirmse et al J Cell Science, 124, 1857 - 1866 (2011)
6. Benoit et al., Nature Cell Biology, 2, 313 - 317 (2000)
7. Puech et al., Journal of Cell Science, 118, 4199 - 4206 (2005)
8. Cross et al., Nature Nanotechnology, 2, 780 - 783 (2007)

AUTOPHAGY AS A SUPPRESSOR OF RAS-INDUCED MALIGNANT TRANSFORMATION OF INTESTINAL EPITHELIAL CELLS

Yoo B.H.¹, Wu X.¹, Li Y.¹, Zagryazhskaya A.¹, Koomson A.,¹ Li Y.¹, Haniff M.¹, Sasazuki S.², Shirasawa S.³, Eskelinen E.-L.⁴ and Rosen K.V.¹

*1*Departments of Pediatrics & Biochemistry and Molecular Biology, Atlantic Research Centre, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, Canada, *2*Department of Pathology, Research Institute, International Medical Center of Japan, Tokyo, Japan, *3*Department of Cell Biology, School of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japan, *4*Department of Biological and Environmental Sciences, Division of Biochemistry, University of Helsinki, Helsinki, Finland
kirill.rosen@dal.ca

The study described below illustrates how we use electron and fluorescence microscopy to study molecular mechanisms of cancer progression. The rationale for our study is based on the fact that detachment of non-malignant epithelial cells from the extracellular matrix (ECM) triggers their growth arrest and, ultimately, death. By contrast, cells composing carcinomas, cancers derived from the epithelial cells, remain viable and capable of proliferation without being attached to the ECM. These properties of cancer cells are the hallmarks of malignant transformation and are critical for tumor progression. In an effort to understand the mechanisms blocking growth of detached non-malignant epithelial cells and promoting that of cancer cells we found that detachment of non-malignant intestinal epithelial cells promotes formation of autophagosomes, vacuole-like structures that mediate autophagy (a process of cellular self-cannibalization). We detected autophagic vacuoles in detached cells by electron and fluorescence microscopy. In the latter case we monitored the incorporation of Green Fluorescent Protein-tagged protein LC3 (an autophagy mediator) into the autophagosomes. We observed that autophagosome formation in the detached cells is driven by detachment-induced upregulation of autophagy mediator Atg3. Ablation of Atg3 by RNA interference (RNAi) suppressed detachment-induced

autophagy of these cells and increased cell proliferation without affecting their viability. Atg3 drives autophagy by stimulating the lipidation of autophagy mediators, such as LC3, GABARAP and others. We observed that ablation of Atg3 blocked detachment-induced GABARAP lipidation whereas GABARAP ablation by RNAi stimulated proliferation of detached cells. We further found that *ras*, a major oncoprotein that frequently occurs in colon cancer, prevents detachment-induced autophagosome formation in intestinal epithelial cells. We established that *ras* activates a GTPase RhoA, that RhoA triggers activation of a protease calpain and that calpain induces degradation of Beclin-1, another critical mediator of autophagy, in the indicated cells. The reversal of the effect of *ras* on Beclin-1 induced autophagosome formation in detached cells and significantly reduced their rate of proliferation without affecting their viability. Similar to what was observed in case of Atg3 and GABARAP, Beclin-1 ablation by RNAi in non-malignant intestinal epithelial cells prevented detachment-induced growth arrest of these cells. We conclude that detachment-induced autophagosome formation blocks proliferation of non-malignant intestinal epithelial cells and that *ras* oncogene promotes proliferation of detached cells by downregulating Beclin-1.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЛЬЕФА ПОВЕРХНОСТИ ФОТОХРОМНЫХ ПЛЁНОК НА ОСНОВЕ ХОЛЕСТЕРИЧЕСКИХ ОЛИГОМЕРОВ

О.В. Синицына, А.Ю. Бобровский, С.С. Абрамчук,
И.В. Яминский, В.П. Шibaев

*Химический факультет Московского государственного университета
имени М.В.Ломоносова
sinitsyna@gmail.com*

Важной задачей современного материаловедения является разработка подходов для контролируемого формирования рельефа поверхности, особенности которого играют значительную роль в поверхностных явлениях, таких как смачивание, адсорбция, адгезия и др.

Особый интерес представляют пленки фотохромных холестериков, так как в данных материалах реализуется уникальная спиральная надмолекулярная структура, которой можно управлять воздействием света, вызывая существенные изменения оптических свойств и топографии поверхности.

В работе методом атомно-силовой микроскопии впервые исследовалось влияние УФ-облучения и термической предыстории на формирование рельефа поверхности холестерических пленок циклосилоксановых олигомеров, содержащих хирально-фотохромные допанты на основе изосорбида и ментона. Под действием УФ-облучения происходит фотоизомеризация хирально-фотохромных допантов, которая приводит к изменению шага холестерической спирали в объеме образца и периода рельефа, наблюдаемого на его поверхности. Было обнаружено два типа топографии пленок: рельеф «отпечатки пальцев» и домены в виде двойных спиралей (рис. 1). При уменьшении шага холестерической спирали в результате УФ-облучения наблюдалась смена типа топографии и формирование доменов.

Строение доменов дополнительно было изучено методом просвечивающей электронной микроскопии тонких срезов пленок. Показано, что появление доменов на поверхности пленки связано с изменением ориентации оси холестерической спирали в объеме образца, причиной которой является необходимость удовлетворения гомеотропным граничным условия поля директора на границе пленки холестерика с воздухом [1].

В работе показано, что форма и высота доменов определяются скоростью охлаждения пленок после отжига. Для объяснения

этого явления предложен механизм, включающий течение материала, вызванное раскручиванием холестерической спирали при медленном охлаждении пленок.

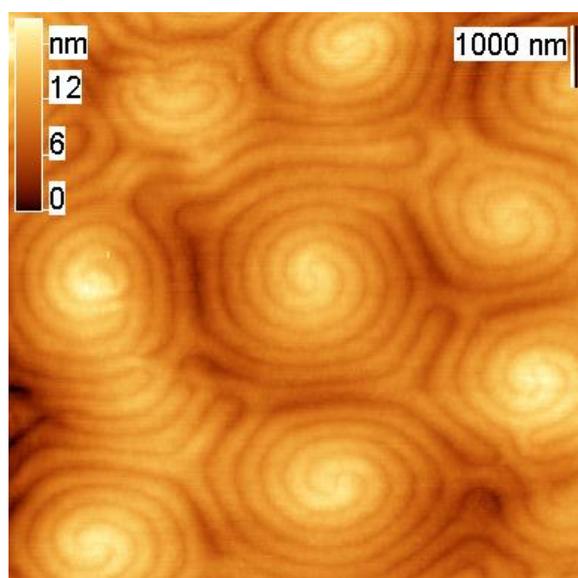


Рис. 1. Изображение поверхности пленки холестерического циклосилоксанового олигомера, полученное методом атомно-силовой микроскопии.

Результаты работы демонстрируют новые возможности управления рельефом поверхности холестерических пленок циклосилоксановых олигомеров путем УФ-облучения и варьирования режима отжига.

Работа поддержана грантом РФФИ 13-03-00648-а.

Список литературы:

1. Meister R., Dumoulin H., Halle M.-A., Pieranski P. Phys. Rev. E., Vol. 54, 3771-3782 (1996).

ПРЯМАЯ НЕКОВАЛЕНТНАЯ ИММОБИЛИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛ ГЕМОГЛОБИНА НА УГЛЕРОДНЫЕ НАНОТРУБКИ, ЛЕГИРОВАННЫЕ АЗОТОМ

В.В. Болотов¹, Н.А. Давлеткильдеев¹, Е.Ю. Мосур¹, И.А. Лобов²,
Д.В. Стецько¹

¹Омский научный центр СО РАН

²Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского
stezko@obisp.oscsbras.ru

Гибридные наноматериалы на основе углеродных нанотрубок (УНТ) и биологических макромолекул имеют широкую перспективу применения в биосенсорах, биотопливных ячейках, системах доставки лекарств и биомедицинской диагностики. Формирование таких материалов происходит посредством иммобилизации макромолекул на поверхности УНТ с использованием двух групп методов – ковалентной и нековалентной иммобилизации. Нековалентная иммобилизация молекул имеет существенные преимущества перед ковалентной, так как не приводит к нарушению конформационной структуры молекул и изменению электронной π -системы графеновых слоев УНТ. Недостатком данной группы методов является нестабильность закрепления молекул на УНТ и их потеря в процессе эксплуатации гибридных структур [1].

Связывание гемоглобином (Hb) O_2 , NO и CO приводит к изменению его электрических и магнитных свойств, что позволяет использовать Hb в качестве активного компонента биосенсоров.

В настоящей работе изучается возможность стабильного закрепления молекул Hb посредством прямой физической адсорбции на поверхности УНТ, легированных азотом.

Водные растворы гемоглобина были приготовлены путем осмотического гемолиза эритроцитов человеческой крови. Эритроциты отделялись центрифугированием от плазмы крови и трехкратно отмывались в изотоническом растворе NaCl. Гемолиз эритроцитов осуществлялся добавлением равного объема дистиллированной воды. Полученный гемолизат центрифугировали для отделения гемоглобина от стромы эритроцитов. Надосадочная фракция представляла собой водный раствор Hb с концентрацией 75 мг/мл и pH=6,1.

Слои УНТ синтезировались методом CVD на подложках SiO_2/Si в результате пиролиза паров ацетонитрила при 850°C с добавлением ферроцена в качестве катализатора. Согласно

данным рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии концентрация азота в слоях УНТ составила 4 ат. %.

Слои УНТ выдерживались в дистиллированной воде и водном растворе гемоглобина в течение 1 часа, затем промывались и высушивались. Полученные образцы исследовались с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) JSM-6610LV (JEOL) и сканирующего зондового микроскопа SOLVER PRO (NT-MDT). Для исследования методами атомно-силовой микроскопии (АСМ) и электростатической силовой микроскопии (ЭСМ) УНТ высаживались на подложку SiO_2/Si из суспензии, полученной путем ультразвукового диспергирования слоев УНТ в дистиллированной воде в течение 20 минут.

Анализ СЭМ и АСМ изображений показал, что внешний диаметр УНТ находится в диапазоне 5 – 70 нм. Для УНТ, экспонированных в дистиллированной воде, характерными являются однородный контраст изображения, четкие ровные контуры и отсутствие загрязнений на поверхности. Для нанотрубок, выдержанных в растворе Hb, подобной однородности контуров и контраста изображений не наблюдается из-за наличия светлых образований различного размера и формы вдоль поверхности УНТ (рис. 1).

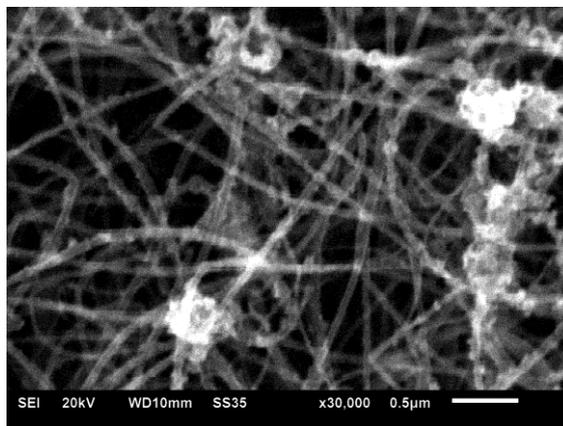


Рис. 1. СЭМ изображение слоя УНТ после экспозиции в растворе гемоглобина.

Очевидно, что образования являются агрегатами молекул Hb, о чем свидетельствует размытость их изображений (низкая проводимость молекул белка вызывает образование статического заряда на их скоплениях и уменьшает четкость изображения).

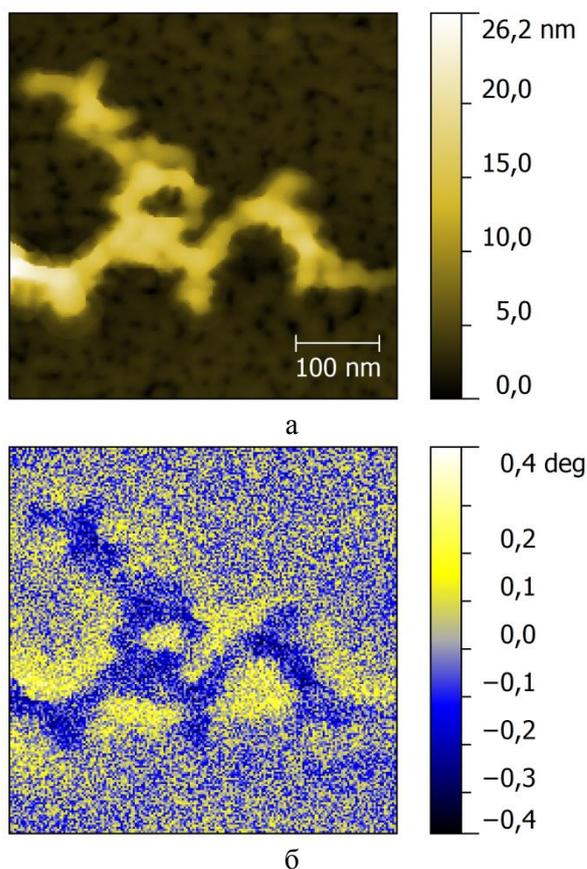


Рис. 2. АСМ (а) и ЭСМ (б) изображения изогнутой УНТ с иммобилизованными на ней молекулами гемоглобина.

Наблюдать отдельные молекулы гемоглобина, закрепленные на поверхности УНТ, позволяют изображения, полученные методами АСМ и ЭСМ. На рис. 2а представлено АСМ изображение тонкой (диаметром 6 нм), изогнутой нанотрубки, покрытой отдельными хорошо различимыми частицами и их агрегатами. О том, что частицы представляют собой молекулы гемоглобина, свидетельствуют их морфологические характеристики. Высота частиц над подложкой и открытыми участками трубки составляет в среднем $7,2 \pm 2,3$ нм, что соответствует диаметру молекулы Hb (6,5 нм). Размытость изображения частиц может быть связана с распаковкой глобулярной структуры молекулы при ультразвуковой обработке, а также со сдвиговой деформацией молекул зондом АСМ при сканировании. Наиболее четкое изображение отдельных молекул

можно видеть в правой нижней части рис. 2, там, где агрегат молекул частично касается подложки и, поэтому, незначительно деформировался в процессе сканирования.

Иммобилизация молекул гемоглобина на УНТ подтверждается характерным контрастом ЭСМ-изображения (рис. 2б), демонстрирующим проводящий характер УНТ (светлое гало вдоль нанотрубки) и отсутствие проводимости у молекул Hb (гало вокруг молекул отсутствует). Светлый ореол вокруг УНТ обусловлен дополнительной емкостной связью зонд-подложка электростатическим взаимодействием зонда с нанотрубкой, благодаря наличию в ней свободных носителей заряда. Подобный ореол не наблюдается вокруг частиц, закрепленных на УНТ, что свидетельствует о проявлении ими диэлектрических свойств, характерных для молекул белков.

Согласно принятым представлениям, прямая физическая адсорбция белков на поверхности УНТ может определяться следующими нековалентными взаимодействиями: π - π стекингом, гидрофобными и электростатическими [1]. Вклад гидрофобного взаимодействия, рассматриваемого многими авторами как доминирующий тип нековалентного взаимодействия УНТ с белками, в случае легированных УНТ может существенно снижаться вследствие уменьшения их гидрофобности. Об этом свидетельствует отсутствие на СЭМ изображениях какого-либо объединения нанотрубок в связки после их экспозиции в воде. Использование в эксперименте легированных УНТ может существенно увеличить вклад электростатического взаимодействия. Атом азота, замещая атом углерода в стенке нанотрубки, формирует квазисвязанное донорное состояние, которое локально увеличивает электронную плотность и создает на поверхности УНТ аналог отрицательно заряженной функциональной группы [2]. При pH=6,1 молекулы Hb в растворе имеют слабый положительный заряд (pI для Hb равна 6,8 – 7). Электростатическое взаимодействие положительно заряженной молекулы белка с отрицательно заряженными участками локализации атома азота в стенке УНТ может приводить к эффективному связыванию гемоглобина с УНТ.

Список литературы:

1. Saifuddin N., Raziah A.Z., Junizah A.R. Journal of Chemistry, Article ID 676815 (2013).
2. Zhang R., Li L., Chen L., Zhang G., Shi K. J. Alloys Compounds, 509, 8620 (2011).

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА АСМ-ИЗОБРАЖЕНИЙ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ

Д.В. Уткин, П.С. Ерохин, О.С. Кузнецов, В.Е. Куклев

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»

Роспотребнадзора

e-mail: rusrapi@microbe.ru

В настоящее время для изучения морфологии бактериальных клеток все шире применяют различные методы атомно-силовой микроскопии (АСМ) [1, 2]. Информацию о рельефе поверхности клеток получают с помощью полуконтактного метода, небольшие неоднородности регистрируют методом расогласования, метод отображения фазы используют для выявления неочевидных контрастов, зависящих от физических свойств поверхности. Программное обеспечение сканирующих зондовых микроскопов позволяет получать АСМ-изображения конкретной области сканирования одновременно всеми тремя методами в разных фреймах.

Для повышения информативности получаемых результатов, увеличения контрастности АСМ-изображения, реконструкции (восстановления) поверхности рельефа может применяться математическое преобразование фреймов.

Цель работы заключалась в оценке использования математической обработки АСМ-изображений клеток бактерий с помощью программы управления NOVA (НТ-МДТ, Россия).

Исследования проводили методом полуконтактной атомно-силовой микроскопии, методом расогласования и методом отображения фазы с использованием сканирующего зондового микроскопа Solver P47-PRO (НТ-МДТ, Россия) и кремниевых зондов серии NSG01 жесткостью 5,1 Н/м, радиусом кривизны 10 нм и резонансной частотой 150 кГц (НТ-МДТ, Россия). Обработку АСМ-изображений проводили в программе NOVA с помощью инструмента «Калькулятор».

В качестве модельных биологических объектов использовали штаммы бактерий *Yersinia enterocolitica* Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб» (Саратов). Фиксацию микроорганизмов осуществляли 2,5 % раствором глутарового альдегида в течение 2 ч с последующей отмывкой в дистиллированной воде и высушиванием на воздухе в соответствии с Методическими указаниями 1.3.3103-13.

В результате сканирования клеток микроорганизмов получены три фрейма, отображающих информацию о поверхности исследуемых объектов (Рис. 1-3).

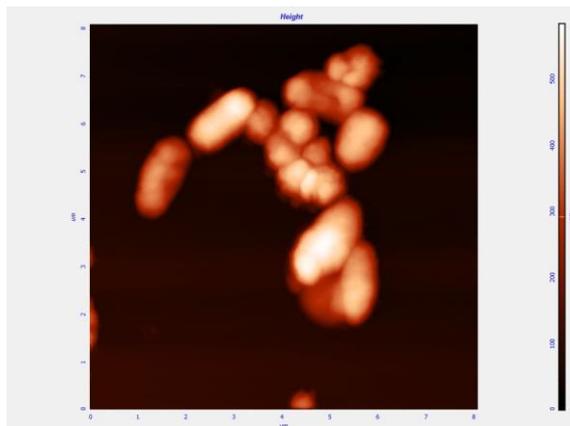


Рис. 1. *Y. enterocolitica*. Полуконтактный метод. Размер скана 8×8 мкм

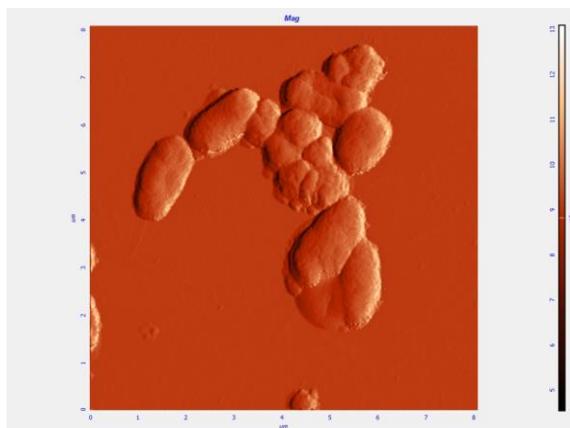


Рис. 2. *Y. enterocolitica*. Метод расогласования. Размер скана 8×8 мкм

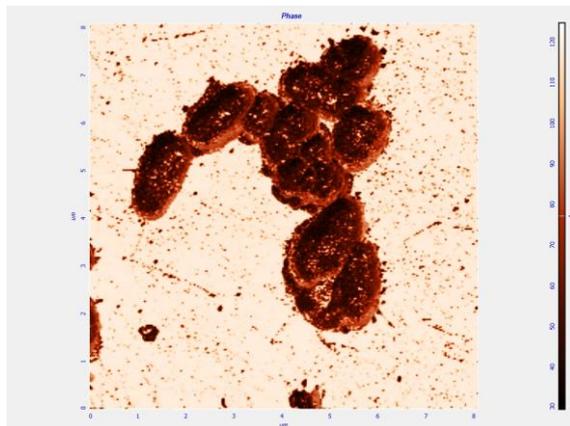


Рис. 3. *Y. enterocolitica*. Метод отображения фазы. Размер скана 8×8 мкм

Сигнал рассогласования может быть использован для восстановления информации о рельефе на АСМ-изображениях. В результате математического сложения фреймов, представленных на рисунках 1 и 2 получен результирующий фрейм (Рис. 4). Суммированное АСМ-изображение является более контрастным и, в отличие от использования различных фильтров обработки изображений, отражает истинный рельеф поверхности с учетом ошибки обратной связи.

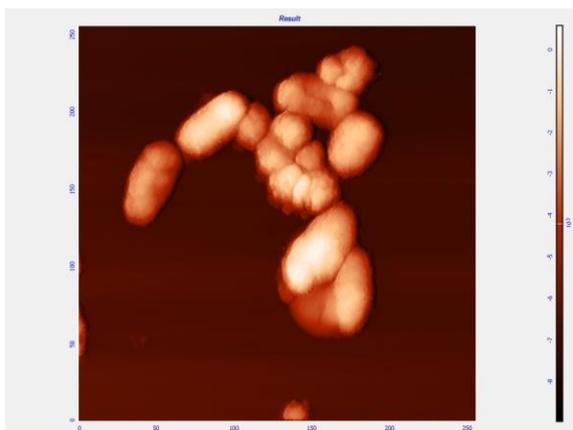


Рис. 4. *Y. enterocolitica*. Сумма АСМ-изображений, полученных полуконтактным методом и методом рассогласования. Размер скана 8×8 мкм

Метод отображения фазы применяют для выявления фазовых различий между клеткой, подложкой, капсулой, молекул полисахаридов без учета рельефа поверхности. Математическое сложение АСМ-изображений, полученных всеми тремя методами, позволяет отразить как топографию поверхности, так и соответствие фазовых различий (Рис. 5).

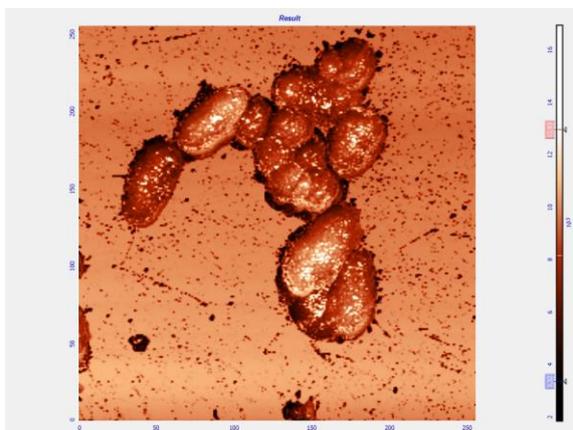


Рис. 5. *Y. enterocolitica*. Сумма АСМ-изображений, полученных полуконтактным методом, методом рассогласования и методом отображения фазы. Размер скана 8×8 мкм

В результате математической обработки АСМ-изображений выявлялись поверхностные и внеклеточные структуры трудно различимые на исходном фрейме (Рис. 1), более детально визуализировали поверхность клеточной стенки и степень укладки пептидогликанового слоя (Рис. 6, 7). Следует отметить, что математическое сложение фреймов не является физическим сложением и не отражает профиль поверхности, а только качественную (визуальную) характеристику поверхности для удобства соотнесения топографии фазовых распределений с топографией рельефа.

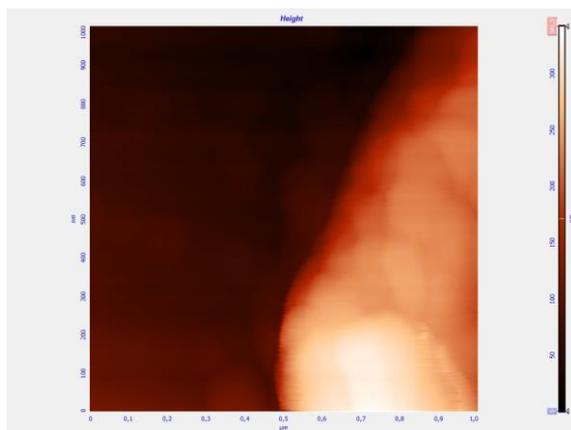


Рис. 6. *Y. enterocolitica* Полуконтактный метод. Размер скана 1×1 мкм

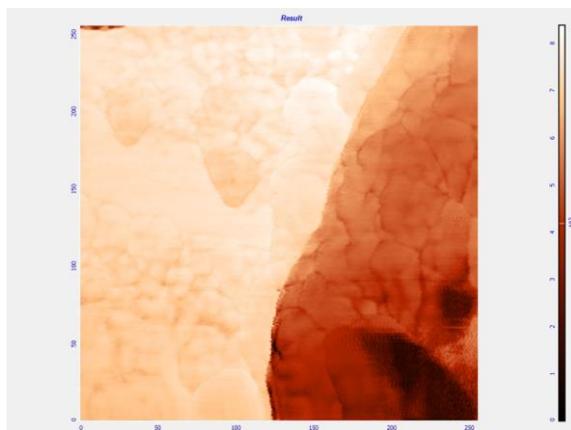


Рис. 7. *Y. enterocolitica*. Сумма АСМ-изображений, полученных полуконтактным методом, методом рассогласования и методом отображения фазы. Размер скана 1×1 мкм

Список литературы:

1. Яминский И.В., Горелкин П., Ерофеев А., Сеницына О., Мешков Г. Наноиндустрия, 8 (46), 34-44 (2013).
2. Dubrovin E.V., Fedukina G.N., Kraevsky S.V., Ignatyuk T.E., Yaminsky I.V., Ignatov S.G. The Open Microbiology Journal, 6, 22-28 (2012).

АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ ПЛЕНОК ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИХ КОМПЛЕКСОВ ЕВРОПИЯ С ОРГАНИЧЕСКИМИ ЛИГАНДАМИ

А.В.Харчева, Н.Е.Борисова, А.В.Иванов,
Т.П.Каминская, С.В.Пацаева, В.В.Попов

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

harcheva.anastasiya@physics.msu.ru

Интерес к производству органических светодиодов (OLED) в последнее время активно подогревается научными исследованиями и опытными работами, открывающими все большие возможности применения данной технологии в изготовлении тонких, гибких, прозрачных и ярких экранов цифровых устройств. Современное производство OLED нуждается, прежде всего, в высокоэффективных светоизлучающих материалах, хорошо растворимых в органических средах, которые позволят использовать высокоэкономичные жидкофазные печатные нанотехнологии при изготовлении изделий на их основе. Одним из наиболее перспективных классов соединений для производства OLED являются координационные соединения редкоземельных элементов (РЗЭ) из-за высокой яркости их люминесценции.

Для повышения комплексообразующих и фотофизических характеристик комплексов РЗЭ в данной работе синтезированы хелатообразующие лиганды, в структуры которых введены дополнительные пиридиновые фрагменты, обеспечивающие дополнительную координацию лиганда с ионами металла.

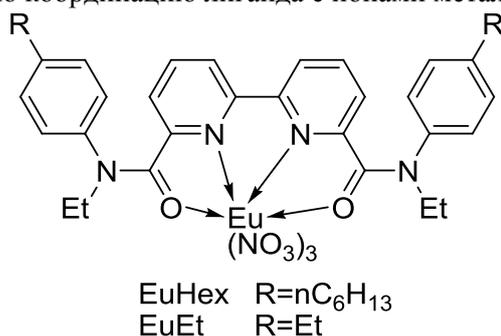


Рис. 1. Структурная формула исследованных комплексов европия.

Комплексы ионов РЗЭ с диамидами дикарбоновых кислот π-дефицитных азотистых полигетероциклов хорошо растворяются в органических растворителях, и люминесцируют как в растворах, так и в виде пленок, нанесенных на подложку. Пленки на прозрачных пластинах из полиэтилентерефталата, покрытых оксидом индия-олова

(ИТО) с удельным сопротивлением 60 Ом/см², получали методом спин-коатинга из растворов комплексов EuHex и EuEt в ацетате этила концентрации 2,24·10⁻⁴ и 1,79·10⁻⁴ моль/л, соответственно.

Методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) исследовали морфологию пленок комплексов европия с различными заместителями в органических лигандах. АСМ-измерения проводили на сканирующем зондовом микроскопе SMENA-A, платформа «Solver» компании NT-MDT. Сканирование проводили кремниевыми кантилеверами DCP-11 с резонансной частотой 178.6 kHz полуконтактным методом (tapping mode) [1]. Также был использован метод отображения фазы. АСМ-снимки обрабатывали с применением программного обеспечения «NOVA» для двумерных (2D) и трехмерных (3D) данных СЗМ.

Получено, что морфология пленок комплексов европия с диамидами дикарбоновых кислот на подложке существенно зависит как от типа заместителя в органическом лиганде, так и от скорости вращения спин-коатера. Пленки соединений с гексильным (EuHex) или этильным (EuEt) заместителями, полученные капельным методом без вращения подложки, дают структуру типа длинных и толстых переплетенных нитей (рис. 2).

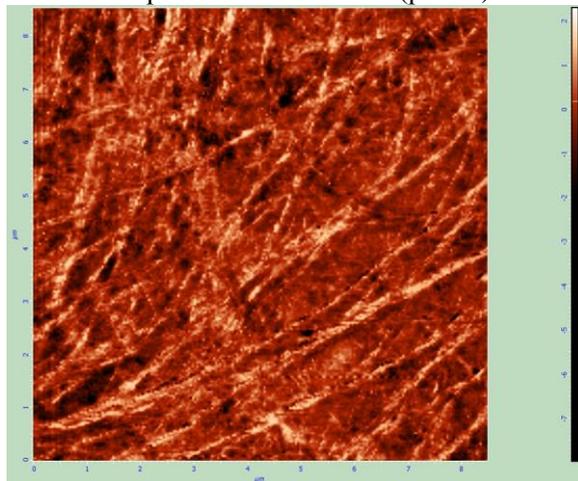


Рис. 2. АСМ-изображение фазы пленки комплекса EuHex, полученной без вращения.

Пленки этих же соединений, полученные при вращении спин-коатера с разными скоростями (1000 и 2000 об/мин), дают непрерывную пленку на поверхности пластины. Такая пленка образует структуру типа ячеистой сетки в случае EuEt (рис. 3), либо представляет собой пленку с хаотично расположенными частицами палочкообразной формы в случае EuHex (рис. 4).

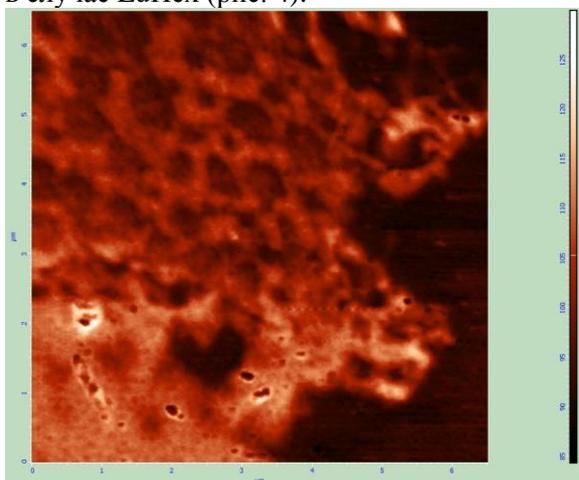


Рис. 3. АСМ-изображение фазы пленки комплекса EuEt, полученной при вращении спин-коатера (2000 об/мин).

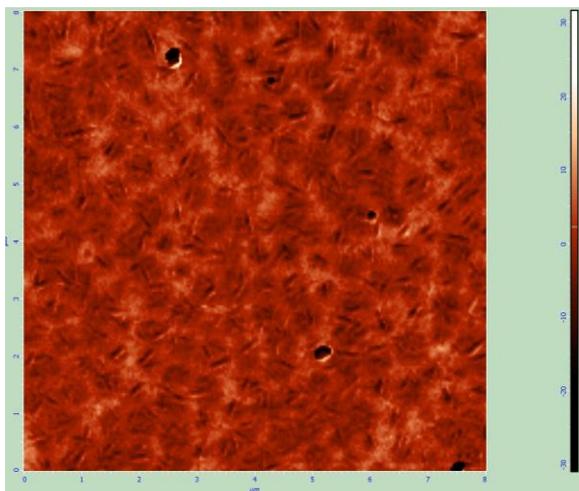


Рис. 4. АСМ-изображение фазы пленки комплекса EuHex, полученной при вращении спин-коатера (2000 об/мин).

Диаметр пор и размер частиц на поверхности пленки зависят от скорости вращения спин-коатера при изготовлении пленки. Пленки EuEt, нанесенные на подложку при скорости вращения 1000 об/мин, принимают вид ячеистой сетки с довольно регулярно расположенными порами диаметром около 0,5 мкм и глубиной 5 нм. При увеличении скорости вращения до 2000 об/мин получаются более равномерные пленки с редко расположенными «кратерами» такого же размера, как и поры в ячеистой сетке.

Для пленок EuHex, изготовленных при скорости вращения 1000 об/мин, длина «палочек» примерно равна 0,8 мкм. При увеличении скорости вращения до 2000 об/мин получают более короткие «палочки» длиной 0,3 мкм и высотой 2-3 нм.

Спектры поглощения растворов и пленок регистрировали спектрофотометром Hitachi U-1900. Растворы комплексов EuHex и EuEt в ацетонитриле, концентрации $7 \cdot 10^{-5}$ и $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л соответственно, помещали в кварцевые кюветы, а пленки наносили на кварцевые подложки. Спектры испускания и возбуждения люминесценции пленок измеряли с помощью спектрофлуориметра Hitachi F-7000 в геометрии «на отражение», как на полимерных подложках с ИТО-покрытием, так и на кварцевых подложках.

Было найдено, что растворы и пленки комплексов европия люминесцируют с максимумом полосы испускания. 618 нм и временем жизни около 1 мс. В спектрах поглощения растворов наблюдали пик при 324 нм, а в спектрах поглощения пленок на кварцевых подложках при 326 нм для обоих комплексов. Соответствующий пик в УФ диапазоне спектра возбуждения люминесценции при регистрации на 618 нм зависел от типа лиганда и способа нанесения пленки: для пленок, полученных без вращения, длина волны УФ пика равна 322 нм (EuHex) и 329 нм (EuEt), а для пленок, нанесенных методом спин-коатинга, 333 нм для обоих лигандов, независимо от скорости вращения. Различие в положении максимума в спектре возбуждения люминесценции объясняется уменьшением толщины пленки и размера агрегатов комплексов при вращении подложки. Заметнее всего этот эффект проявляется на примере комплекса EuHex, содержащего липофильный гексильный заместитель.

Таким образом, проведенные в данной работе эксперименты показывают, что комплексы европия с диамидами дикарбоновых кислот π -дефицитных азотистых полигетероциклов, люминесцируют как в растворе, так и в виде пленок, при этом они способны образовывать частично кристаллические надмолекулярные структуры, морфология которых может быть объяснена в рамках существующей теории кристаллизации полимеров в ультратонких пленках.

Список литературы:

1. Миронов В.Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии. РАН, Нижний Новгород. 2004. 108 с.

ОПТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ: ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ЗА ПРЕДЕЛАМИ ДИФРАКЦИОННОГО ПРЕДЕЛА

П.А. Зыков

ООО «БиоВитрум»

pavel.zykov@biovitrum.ru

Микроскопы сверхвысокого разрешения стали одним из самых значимых открытий за последнее время и произвели революцию в области визуализации биологических объектов. В 2010 году компания Nikon первая выпустила на рынок две системы, основанные на технологии STORM и SIM.

Согласно лицензионному соглашению между корпорацией Nikon и Гарвардским университетом, Nikon получил права на использование технологии микроскопии со стохастической оптической реконструкцией изображения (STORM). Технология STORM, обеспечивающая более четкое наблюдение тканей и клеток, является передовой разновидностью оптической микроскопии – одного из самых широко используемых методов биомедицинских исследований. Система STORM отличается от обычных систем флуоресцентной микроскопии тем, что наблюдение всех флуоресцентно-меченых молекул образца происходит не одновременно, а в определенный момент времени активируется только их небольшая часть. Повторением этого процесса со съемкой нескольких кадров, положение молекул в которых фиксируется с нанометровой точностью, достигается получение итогового изображения с разрешением в плоскости около 20 нм и по оси до 50 нм, что расширяет возможности оптических микроскопов почти до молекулярного уровня.

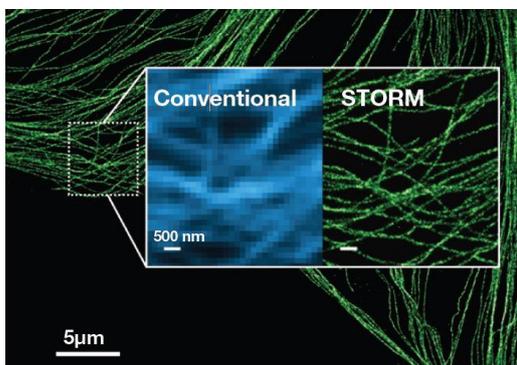


Рис. 1. Сравнительное изображение микротрубочек в обычном микроскопе и микроскопе N-STORM.

Система микроскопии N-SIM от Nikon может обеспечивать в два раза более высокое

разрешение, чем обычные оптические микроскопы. Система N-SIM также позволяет получать изображения с максимальной скоростью по сравнению с аналогами. При помощи высокочастотного структурированного освещения микроскоп Nikon N-SIM может давать разрешение 85 нм, считавшееся ранее недостижимым для оптических микроскопов. Более того, временное разрешение до 0,6 сек/кадр позволяет микроскопу N-SIM выполнять замедленную съемку динамических взаимодействий молекул в живых клетках со сверхвысоким разрешением.

Методика освещения TIRF-SIM позволяет проводить наблюдения по методу флуоресценции полного внутреннего отражения (TIRF) с более высоким разрешением, чем обычные микроскопы TIRF, и получать более детальную информацию о зонах вблизи клеточных мембран.

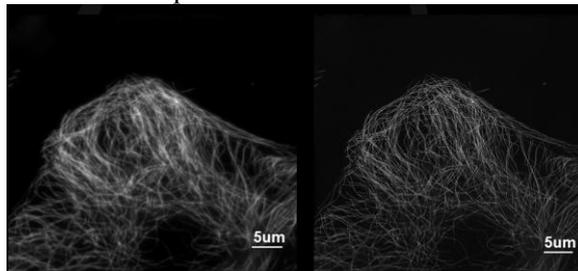


Рис.2. Сравнительное изображение микротрубочек в режиме TIRF (слева) и режиме TIRF-SIM (справа).

Режим освещения 3D-SIM позволяет делать оптические срезы образцов, за счет чего возможна визуализация более сложных клеточных структур при более высоком пространственном разрешении до 20 мкм.

Отличительной особенностью обеих систем сверхвысокого разрешения Nikon является гибкость конструкции приборов. Это также означает, что модули сверхвысокого разрешения могут быть совмещены с конфокальными и/или мультифотонными системами, что позволяет создавать многоцелевые конфигурации исследовательского микроскопа.

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОВРЕМЕННОЙ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ: ОТ ТКАНЕЙ И КЛЕТОК ДО ОТДЕЛЬНЫХ БИОМОЛЕКУЛ

В.С. Неудачина, И.Л. Волков
Intertech Corporation, г. Москва
vsn@intertech-corp.ru

Развитие методов атомно-силовой микроскопии в сочетании с оптическими методами позволило вывести исследование биологических объектов (как тканей, клеток, органелл, так и отдельных биомолекул и даже их фрагментов) на принципиально новый уровень. Так, использование передовых моделей АСМ Asylum Research (рис. 1) – Cypher ES (атомарное разрешение в контролируемой жидкостной или газовой среде) и MFP-3D-BIO (сочетание методик АСМ и инвертированного обратного микроскопа) – позволяет исследовать межклеточное взаимодействие, наномеханику клеток и отдельных биомолекул, получать АСМ изображения биомолекул, клеточных мембран и других нанобиообъектов с наилучшим разрешением (рис. 2-4).



Рис. 1. Общий вид АСМ Asylum Research Cypher ES (слева) и MFP-3D-BIO (справа).

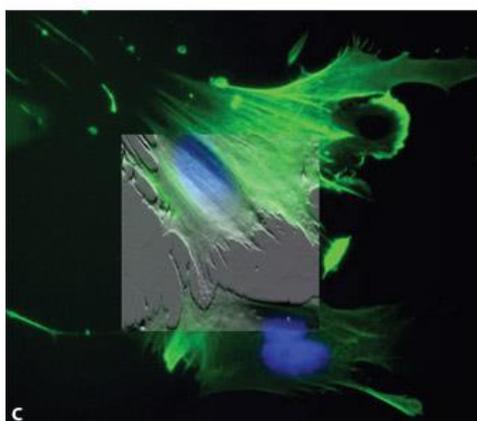


Рис. 2. Пример сочетания инвертированной оптической микроскопии с фазовым контрастом и изображения АСМ: наложение изображений фибропластов в буферном растворе (в центре). Изображения получены при помощи микроскопа MFP-3D-BIO.

Помимо изображений высокого качества, современные микроскопы Asylum Research также позволяют получать целый набор дополнительных сведений об исследуемых образцах, включая механические свойства (рис. 3).

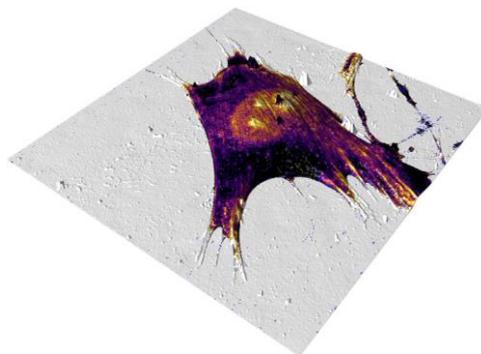


Рис. 3. Клетка фибропласта MRC-5: наложение топографического изображения АСМ на отображение распределения модуля Юнга. Получено при помощи микроскопа MFP-3D-BIO. Темный цвет отвечает более жестким областям клетки, светлый – менее жестким.

Новейшая технология фототермического возбуждения кантилевера blueDrive позволяет быстро получать изображения высокого разрешения с непревзойденной воспроизводимостью (рис. 4).

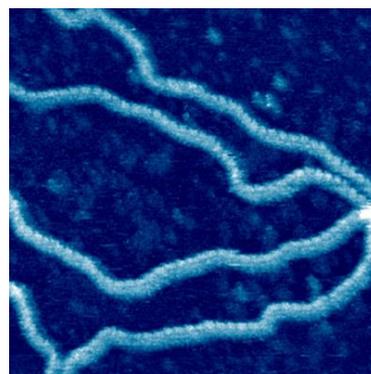


Рис. 4. Изображение двойной спирали ДНК, полученное при помощи микроскопа Cypher ES с blueDrive.

В ходе доклада будет подробно рассказано об этих и многих других современных методиках АСМ, разработанных и внедренных Asylum Research.

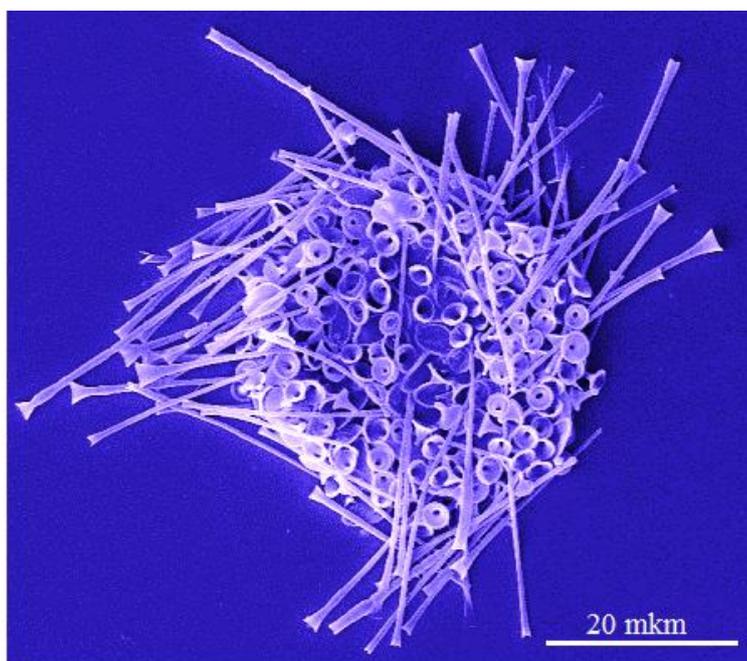
Конкурс изображений

BioImage

Ермоленко Елена Анатольевна

ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет»

Микроскоп: Сканирующий электронный микроскоп LEO-1420

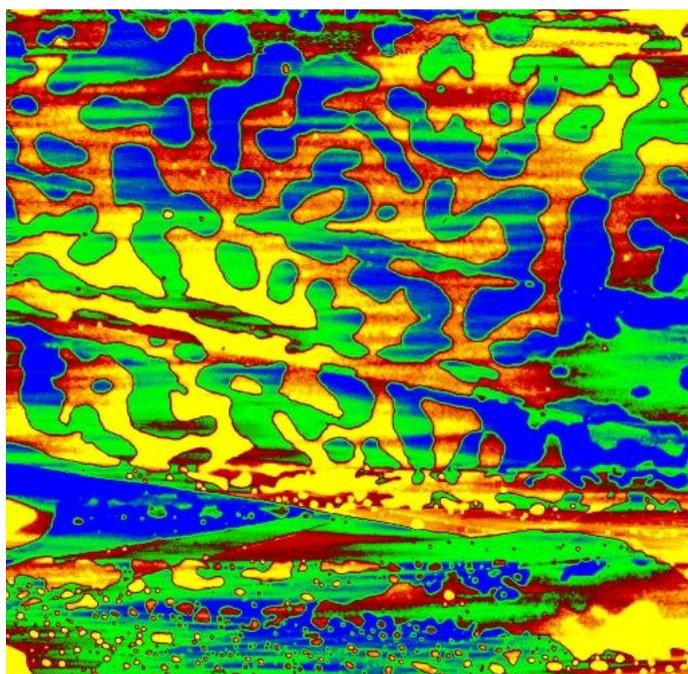


Симфония жизни. Изображение центрохелидного солнечника *Raphidocystis tubifera* (*Centrhhelida, Protista*) с наружным кремниевым скелетом. Кремниевые чешуйки в виде музыкальных инструментов – кларнета, валторна и тамбурина.

Мешков Георгий Борисович

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

Микроскоп: сканирующий зондовый микроскоп «ФемтоСкан».



Абстракция или «А вы что видите на картинке, доктор?» Слой лецитина на поверхности графита. Изображение получено с помощью сканирующего зондового микроскопа «ФемтоСкан» в полуконтактном режиме атомно-силовой микроскопии и обработано в программе «ФемтоСкан Онлайн» (совместно с О.В. Сеницыной).

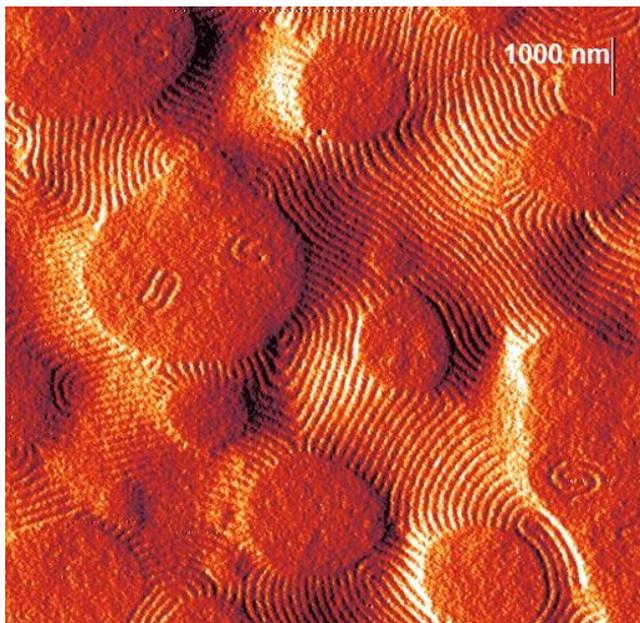
Конкурс изображений

BioImage

Синицына Ольга Валентиновна

*Химический факультет Московского государственного университета имени
М.В.Ломоносова*

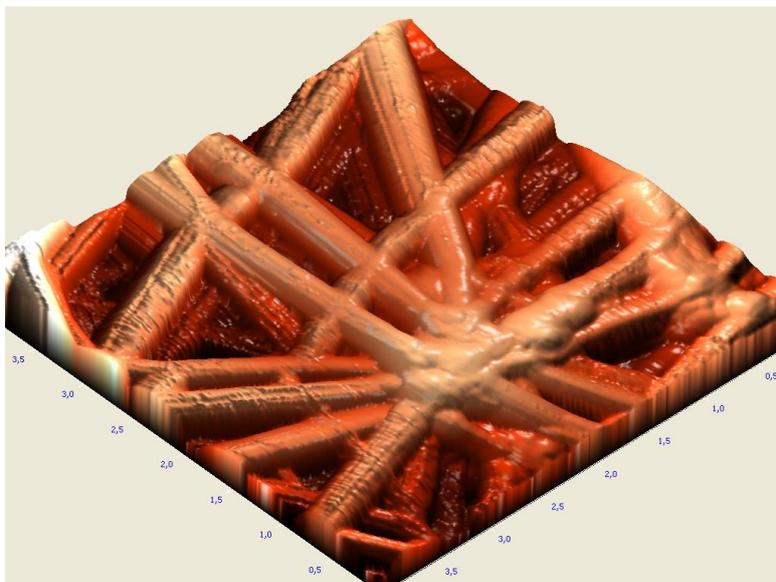
Микроскоп: сканирующий зондовый микроскоп «ФемтоСкан».



Рождение хаоса. Поверхность фотохромной холестерической пленки на основе циклосилоксанового олигомера. Произошла частичная изотропизация холестерика. Изображение получено с помощью сканирующего зондового микроскопа «ФемтоСкан» в полуконтактном режиме атомно-силовой микроскопии и обработано в программе «ФемтоСкан Онлайн». (совместно с А.Ю. Бобровским, И.В. Яминским, В.П. Шibaевым).

Уткин Денис Валерьевич

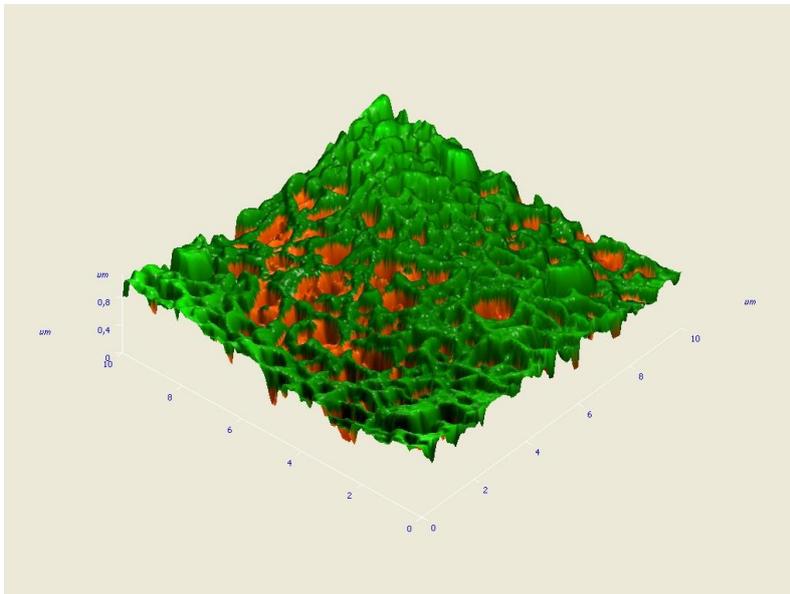
*ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»
Микроскоп: сканирующий зондовый микроскоп СЗМ Solver P47-PRO (НТ-МДТ, Россия)*



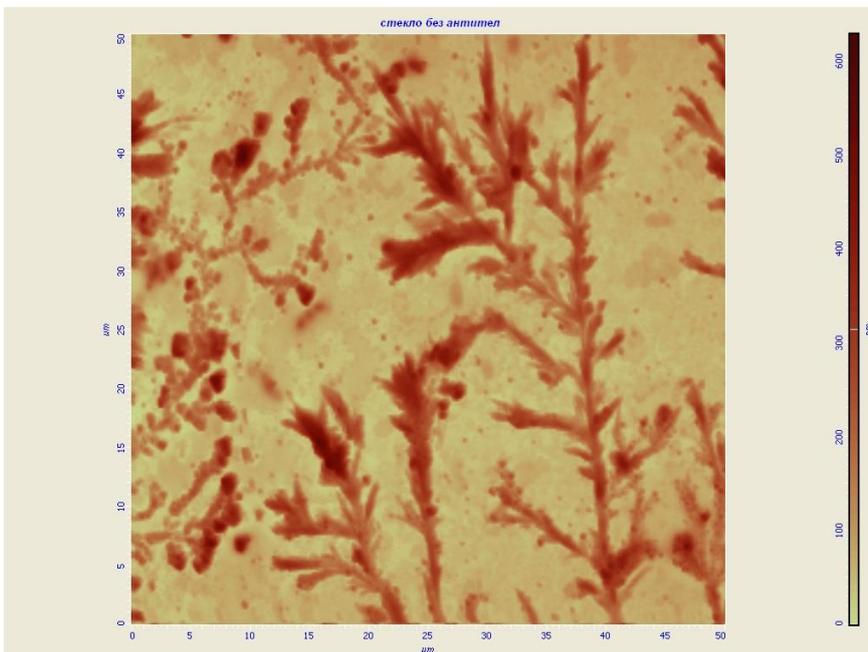
Паутина. Мембранный фильтр. Материал – политетрафторэтилен (PTFE). Размер пор 0,45 мкм.

Размер кадра 4x4 мкм. Полуконтактный режим на воздухе. 3D-изображение.

Конкурс изображений **BioImage**

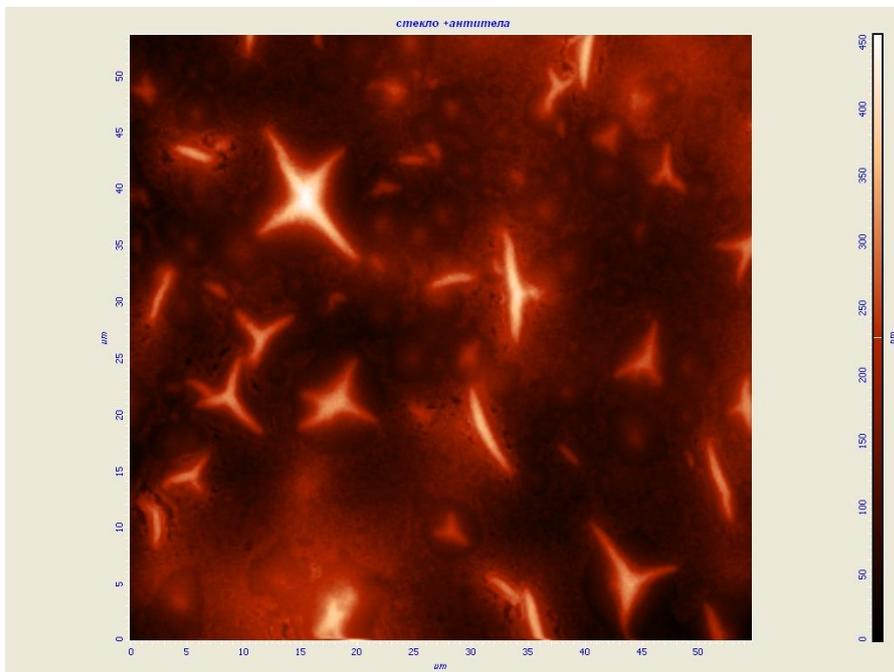


Лесные просторы. Мембранный фильтр. Материал – нейлон. Размер пор 0,45 мкм. Размер кадра 10x10 мкм. Полуконтактный режим на воздухе. 3D-изображение.

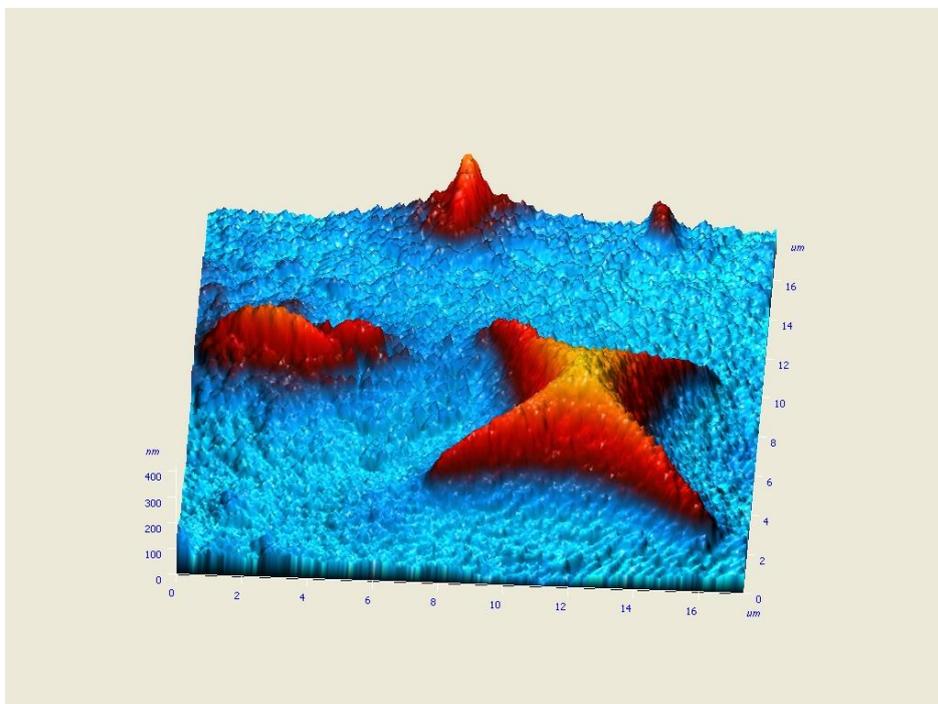


Узоры на стекле. Кристаллы белка А на покровном стекле. Размер кадра 50x50 мкм. Полуконтактный режим на воздухе.

Конкурс изображений **BioImage**

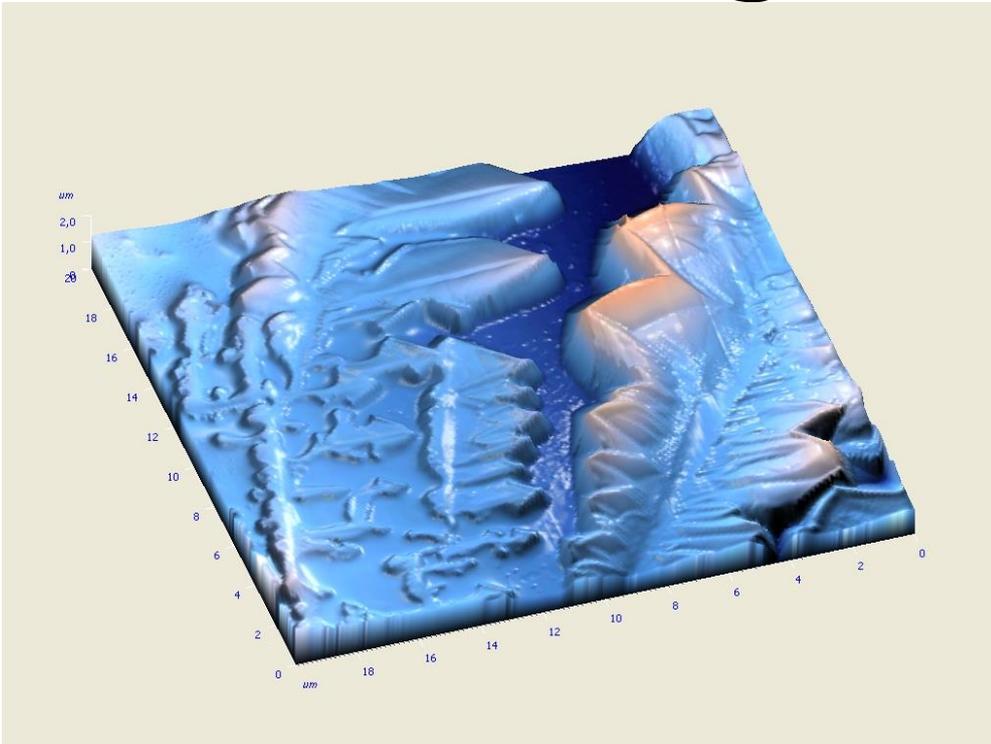


Звездная ночь. Кристаллы антител на покровном стекле.
Размер кадра 55x55 мкм. Полуконтактный режим на воздухе.

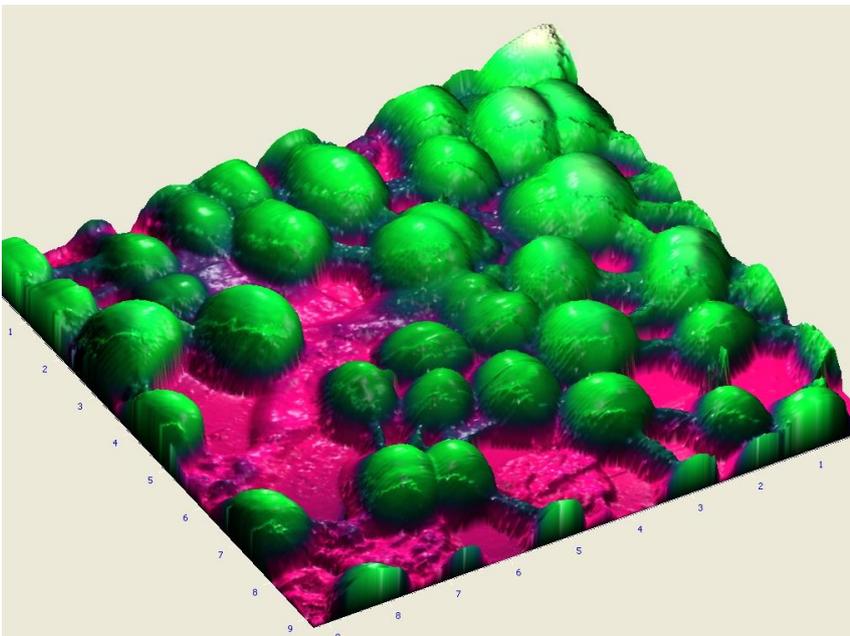


Морская звезда. Кристаллы антител на покровном стекле.
Размер кадра 18x18 мкм. Полуконтактный режим на воздухе. 3D-изображение.

Конкурс изображений **BioImage**



Ледяная сказка. Кристаллы белка на покровном стекле.
Размер кадра 20x20 мкм. Полуконтактный режим на воздухе. 3D-изображение.

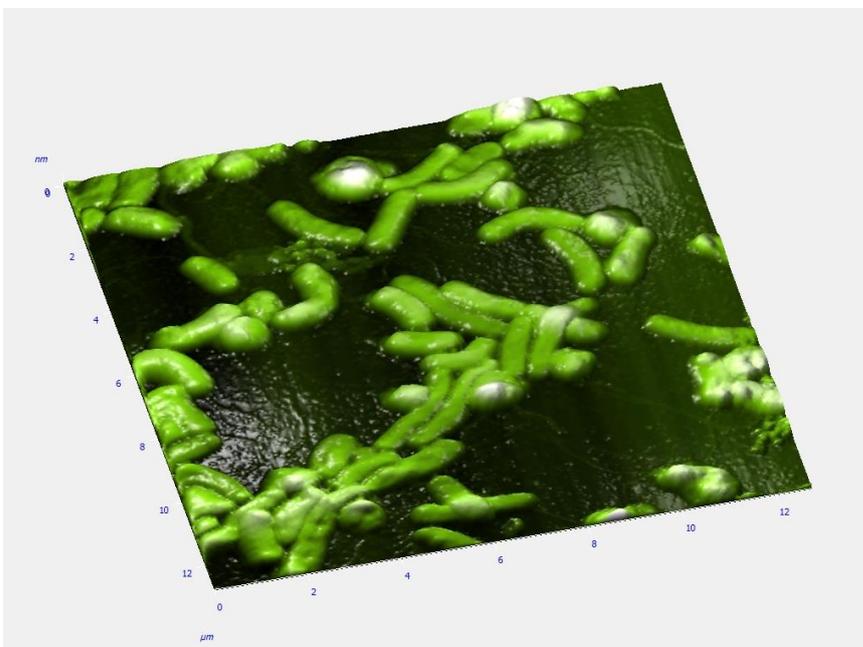


Микрококки. Клетки бактерий, соединенные гликановыми мостиками. Вид – золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*). Подложка – покровное стекло.
Размер кадра 9x9 мкм. Полуконтактный режим на воздухе. 3D-изображение.

Конкурс изображений **BioImage**



Нанолава. Мембранный фильтр. Размер пор 0,22 мкм. Размер кадра 10x10 мкм. Полуконтактный режим на воздухе. 3D-изображение.

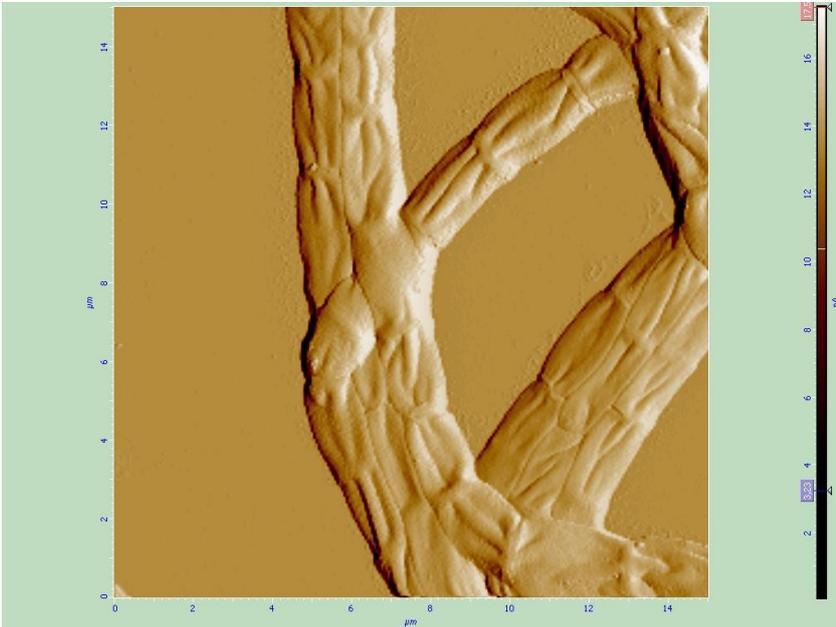


Болотце. Клетки бактерий холерного вибриона – *Vibrio cholerae*. Клетки по форме представляют изогнутые палочки с одним жгутиком (виден у некоторых клеток). Клетки фиксированы 2,5 % раствором глутарового альдегида и отмыты в дистиллированной воде.

Размер кадра 13x13 мкм. Полуконтактный режим на воздухе. 3D-изображение.

Конкурс изображений

BioImage



Микроцепи. Цепочки клеток бактерий сибиреязвенного микроба – *Bacillus anthracis*. Клетки при делении не расходятся, а образуют длинные цепи длиной несколько десятков мкм. Клетки фиксированы 5 % раствором глутарового альдегида и отмыты в дистиллированной воде.
Размер кадра 15x15 мкм. Полукачественный режим на воздухе. Метод рассогласования.

**УЧАСТНИКИ КОНФЕРЕНЦИИ
«СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ БИОНАНОСКОПИИ»**

Арзуманян Ирина Сергеевна
Институт элементоорганических
соединений им. А.Н.Несмеянова
Российской академии наук
i.arzumanyan@festivalnauki.ru

Волков Иван Леонидович
INTERTECH Corp.
volkov@intertech-corp.ru

**Дубровин Евгений
Владимирович**
Физический факультет МГУ имени
М.В.Ломоносова
dubrovin@polly.phys.msu.ru

Ермоленко Елена Анатольевна
ФГБОУ ВПО Оренбургский
государственный университет
ea-ermolenko@yandex.ru

Зарипова Регина Маратовна
Казанский (Приволжский) Федеральный
университет
Zaripova.reginka@mail.ru

Зыков Павел Андреевич
ООО «БиоВитрум»
pavel.zykov@biovitrum.ru

Korchev Yuri
Imperial College Faculty of Medicine,
London
y.korchev@imperial.ac.uk

Кузьмина Наталья Викторовна
Физический факультет МГУ имени
М.В.Ломоносова
kuzmina-natasha@inbox.ru

Лобов Иван Андреевич
ФГБОУ ВПО «Омский государственный
университет им. Ф.М. Достоевского»
li_87@mail.ru

**Макаров Валентин
Владимирович**
Научно-исследовательский институт
физико-химической биологии имени
А.Н.Белозерского МГУ имени
М.В.Ломоносова
makarovvalentine@gmail.com

Мантуров Алексей Олегович
ФГБОУ ВПО Саратовский
государственный технический
университет имени Гагарина Ю.А.
manturovao@gmail.com

Мешков Георгий Борисович
Физический факультет МГУ имени
М.В.Ломоносова
meshkov@nanoscopy.ru

Минин Максим Геннадьевич
ООО "Промышленный мониторинг и
контроль"
minin@imc-systems.ru

Неудачина Вера Сергеевна
INTERTECH Corp.
vsn@intertech-corp.ru

Rosen Kirill
Dalhousie University, Halifax
kirill.rosen@dal.ca

Sigalov Alexander
SignaBlok, Inc., Massachusetts
sigalov@signablok.com

Синицына Ольга Валентиновна

*Химический факультет МГУ имени
М.В.Ломоносова
sinitsyna@gmail.com*

Стецько Денис Витальевич

*ОНЦ СО РАН
classicsub-zero@mail.ru*

Уткин Денис Валерьевич

*ФКУЗ Российский научно-
исследовательский противочумный
институт "Микроб"
twoduck@yandex.ru*

Харчева Анастасия Витальевна

*Физический факультет МГУ имени
М.В.Ломоносова
harcheva.anastasiya@physics.msu.ru*

Яминский Игорь Владимирович

*Физический факультет МГУ имени
М.В.Ломоносова, г. Москва
yaminsky@nanoscopy.ru*

Vavra Jan

*JPK Instruments, Berlin
confregis@jpk.com*

The World's Fastest Megapixel Back-illuminated EMCCD



Building on a rich history of first to market innovation, Andor's 'supercharged' iXon Ultra 888, represents a massive **3x speed boost** for the largest available EMCCD sensor, as well as the first **USB 3.0** enabled EMCCD camera, in a distinctly 'budget friendly' package.

NEW iXon Ultra 888

1024 x 1024 active pixels / 13 μm pixel size

30 MHz readout - 26 fps

93 fps @ 512 x 512 (Crop Mode)

Single photon sensitivity

Back-illuminated > 90% QE max

USB 3.0

andor.com/ultra888

ООО «БиоВитрум»
Россия, г. СанктПетербург
Тел./факс: (812) 3050606
info@biovitrum.ru

ООО «БиоВитрум М»
Россия, г. Москва,
Тел./факс: (495) 7874046
moscow@biovitrum.ru

ООО «БиоВитрумСибирь»
Россия, г.Новосибирск,
Тел./факс: (383) 2304900
sibir@biovitrum.ru

ООО «БиоВитрумЮг»
Россия, г. Ростов-на-Дону
Тел./факс: (863) 2550305
garegin.khachatryan@biovitrum.ru

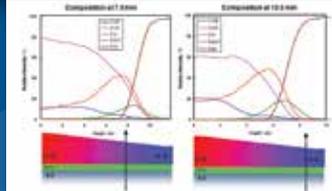
INTERTECH Corporation

ОБОРУДОВАНИЕ

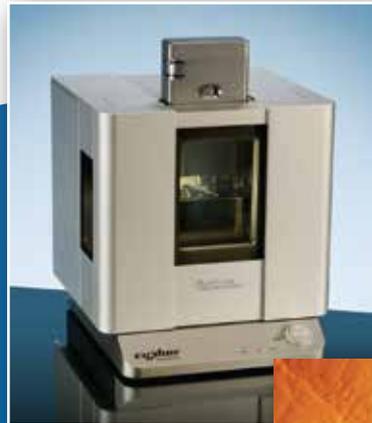
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОВЕРХНОСТИ
И НАНОРАЗМЕРНЫХ СТРУКТУР



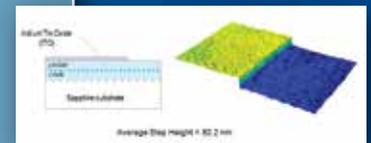
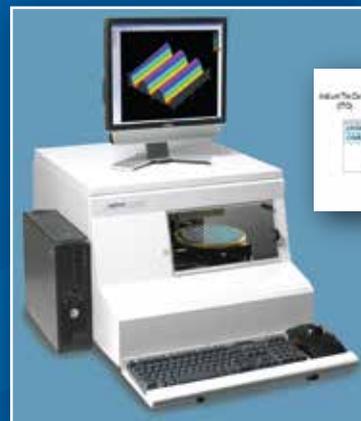
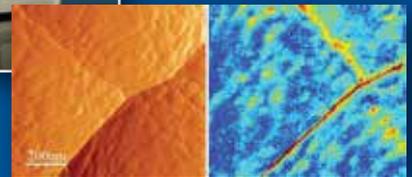
Non-destructive Composition Depth Profiles



РЕНТГЕНОВСКИЕ
ФОТОЭЛЕКТРОННЫЕ СПЕКТРОМЕТРЫ



АТОМНО-СИЛОВЫЕ
МИКРОСКОПЫ



ОПТИЧЕСКИЕ
И СТИЛУСНЫЕ
ПРОФИЛОМЕТРЫ

● Поставка оборудования ● Постановка методик ● Сервисное обслуживание

Россия: 8-800-200-4225 (звонок бесплатный по РФ)
г. Москва (495) 232-4225
г. Екатеринбург (343) 217-3546
г. Красноярск (391) 258-0923
г. Новосибирск (383) 335-9635

Украина:

г. Донецк +38 (062) 382-6099

г. Киев +38 (044) 230-2373

Беларусь:

г. Минск +375 (29) 650-5657

Центральная Азия:

г. Алматы +7 (727) 255-8626

США:

г. Аткинсон +1 (603) 893-9566

Thermo
SCIENTIFIC

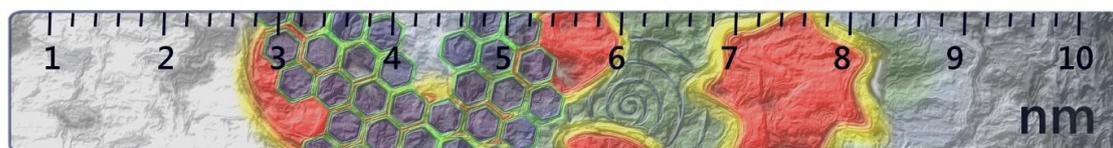
ASYLUM
RESEARCH
Atomic Force Microscopes

KLATencor

info@intertech-corp.ru

www.intertech-corp.ru

Современные достижения бионаноскопии



Сборник тезисов седьмой международной конференции
"Современные достижения бионаноскопии". 17–19 июня 2014
года, Москва, физический факультет МГУ имени
М.В.Ломоносова — 43 с.

Спонсоры:

ООО «БиоВитрум».

ООО «Промышленный мониторинг и контроль»

ООО НПП «Центр перспективных технологий»

Московское представительство «Интертек Трейдинг Корпорейшн» (США)

<http://www.nanoscopy.org/bionanoscopy/>