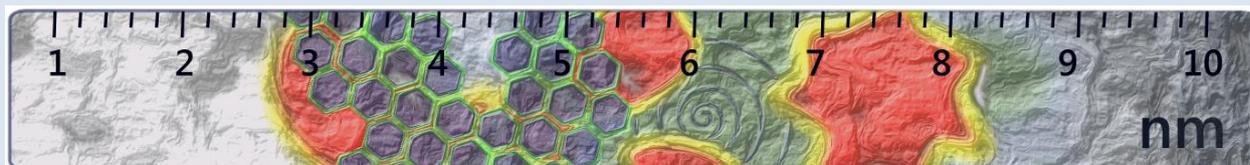


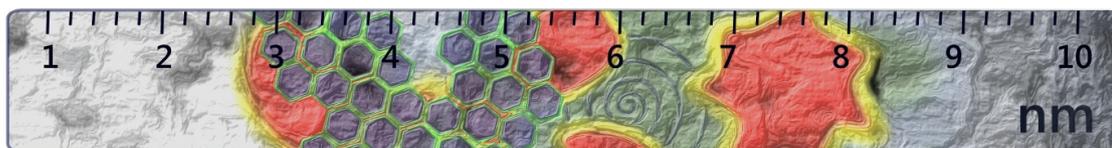
# Современные достижения бионаноскопии



## Сборник тезисов

Восьмая международная конференция  
15 июня 2016 г., Москва  
МГУ имени М.В.Ломоносова

# Современные достижения бионаноскопии



## Восьмая международная конференция

15 – 17 июня 2016 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  
**Галлямов М.О.** – доцент физического факультета МГУ  
**Клячко Н.Л.** – профессор химического факультета МГУ, Россия  
**Курочкин И.Н.** – профессор физического факультета МГУ  
**Панов В.И.** – профессор физического факультета МГУ  
**Твердислов В.А.** – профессор физического факультета МГУ  
**Тимошенко В.Ю.** – профессор физического факультета МГУ  
**Федянин А.А.** – профессор физического факультета МГУ  
**Шайтан К.В.** – профессор биологического факультета МГУ  
**Яминский И.В.** – профессор физического факультета МГУ (председатель)  
**Lyubchenko Y.L.** – Professor, Nebraska Medical Center, USA  
**Zinoviev K.E.** – Research Scientist, Spain

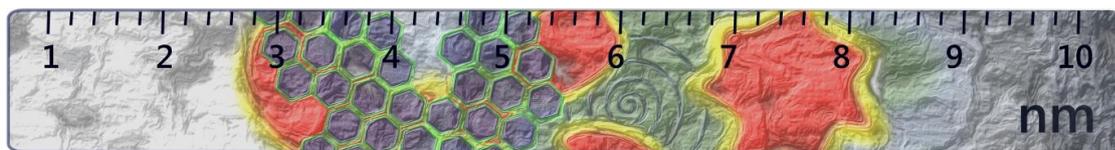
### Организационный комитет:

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

При поддержке



# Современные достижения бионаноскопии



## Программа восьмой международной конференции

### «Современные достижения бионаноскопии»

Среда, 15 июня 2016 года

- 10:30 – 10:55      Регистрация участников.  
10:55 – 11:00      Яминский И.В. Вступительное слово.  
11:00 – 11:20      О. В. Сеницына. Динамическое наблюдение изменений микроструктуры поверхности холестерических пленок на основе циклосилоксановых олигомеров  
11:20 – 11:40      А. В. Сагитова. Атомно-силовая микроскопия бактериального штамма *E.coli* M-17, его взаимодействие с наночастицами оксида цинка.  
11:40 – 12:00      Н. В. Кузьмина. Механизм формирования и тонкая структура амилоидных наноприбрилл  $\sigma^{70}$ -субъединицы РНК-полимеразы *E.coli*.  
12:00 – 12:20      С. Н. Плескова. Исследование механизмов клеточной гибели методом атомно-силовой микроскопии.

#### *Кофе-брейк*

- 12:40 – 12:45      И. С. Арзуманян. Зависимость характера агрегации ферментов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* от концентрации.  
12:45 – 12:50      И. С. Арзуманян. Зависимость характера агрегации репрессибельной кислой фосфатазы от концентрации в сравнении с конститутивной кислой фосфатазой.  
12:50 – 12:55      А. О. Дудник. Крейзинг полиэтилена высокой плотности, деформированного в сверхкритическом диоксиде углерода: исследование структуры методом АСМ.  
12:55 – 13:00      Е.С. Трофимчук. Синтез фосфатов кальция в пористой матрице полилактида.  
13:00 – 13:05      А.И.Ахметова. Физические методы исследования бактерии *E.coli*.  
13:05 – 13:10      И. В. Сосновский. Микроскопическое исследование образования полос сдвига при «холодной прокатке» ПЭТФ.

#### *Перерыв*

- 14:20 – 14:40      Яминский И.В. Бионаноскопия в центре молодежного инновационного творчества «Нанотехнологии»  
14:40 – 15:00      О. В. Сеницына. Сканирующая зондовая микроскопия оксидов графита и графена: поиск новых материалов для электронного носа.  
15:00 – 15:20      Д. В. Казанцев. АСНОМ – оптический щуп-пробник нанометрового разрешения.

#### *Кофе-брейк*

- 15:40 – 16:00      Д. В. Корнеев. Визуализация зонда атомно-силового микроскопа в силовой спектроскопии биологических объектов.

16:00 – 16:20	A. D. Protopopova. Direct visualization of fibrinogen $\alpha$ c regions and their involvement in fibrin polymerization.
16:20 – 16:40	Е. В. Дубровин. Механизм транскрипционной интерференции: АСМ-исследование открытых промоторных комплексов РНК-полимеразы с близкорасположенными конвергентными промоторами.
16:40 – 17:00	Подведение итогов конференции.

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Зависимость характера агрегации ферментов дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i> от концентрации .....</b>	<b>6</b>
И. С. Арзуманян, С. Н. Егоров, И. В. Яминский	6
<b>Зависимость характера агрегации репрессибельной кислой фосфатазы от концентрации в сравнении с конститутивной кислой фосфатазой .....</b>	<b>7</b>
И. С. Арзуманян, С. Н. Егоров, С. А. Кузнецов, И. В. Яминский	7
<b>Физические методы исследования бактерии <i>E.coli</i> .....</b>	<b>8</b>
А.И.Ахметова, И.В.Яминский	8
<b>Application of AFM for the diagnostics of initial stages of radiation damage of extracellular matrix.....</b>	<b>9</b>
G. V. Belkova, S. L. Kotova, V. A. Timofeeva, K. V. Babak, M. V. Kochueva, A. V. Maslennikova, A. B. Solovieva	9
<b>Механизм транскрипционной интерференции: АСМ-исследование открытых промоторных комплексов РНК-полимеразы с близкорасположенными конвергентными промоторами.....</b>	<b>10</b>
Е. В. Дубровин, О. Н. Королёва, И. В. Яминский, В. Л. Друца	10
<b>Крейзинг полиэтилена высокой плотности, деформированного в сверхкритическом диоксиде углерода: исследование структуры методом АСМ.....</b>	<b>11</b>
А. О. Дудник, Е. С.Трофимчук, Д. В. Багров, И. В. Яминский	11
<b>ASNOM – оптический щуп-пробник нанометрового разрешения.....</b>	<b>13</b>
Д. В. Казанцев, Е. А.Казанцева, И. Э.Бессарабская	13
<b>Бесконтактный контроль температуры поверхности при исследовании поверхностей <i>in situ</i> .....</b>	<b>14</b>
Д. В. Капытов, О. В. Сеницына, Г. Б. Мешков, И. В. Яминский	14
<b>Визуализация зонда атомно-силового микроскопа в силовой спектроскопии биологических объектов.....</b>	<b>15</b>
Д. В. Корнеев, Б. Н. Зайцев	15
<b>Механизм формирования и тонкая структура амилоидных нанофибрилл <math>\sigma^{70}</math>-субъединицы РНК-полимеразы <i>E.coli</i> .....</b>	<b>16</b>
Н. В. Кузьмина, Е. В. Дубровин	16
<b>Исследование механизмов клеточной гибели методом атомно-силовой микроскопии .....</b>	<b>17</b>
С. Н. Плескова, Э. Р. Михеева, Е. Е. Горностаева	17

<b>Direct visualization of fibrinogen <math>\alpha</math>c regions and their involvement in fibrin polymerization</b> .....	<b>18</b>
A. D. Protopopova, N. A. Barinov, R. I. Litvinov, D. V. Klinov, J. W. Weisel	18
<b>Использование электронной микроскопии для исследования структуры полимерных смесей на основе крейзованных полимеров</b> .....	<b>19</b>
Е.Г. Рухля, Л.М. Ярышева, А.Л. Волынский, Н.Ф. Бакеев	19
<b>Атомно-силовая микроскопия бактериального штамма <i>E.coli</i> M-17, его взаимодействие с наночастицами оксида цинка</b> .....	<b>20</b>
А. В. Сагитова, И. В. Яминский, Г. Б. Мешков	20
<b>Динамическое наблюдение изменений микроструктуры поверхности холестерических пленок на основе циклосилоксановых олигомеров</b> .....	<b>21</b>
О.В. Сеницына, А.Ю. Бобровский, Г.Б. Мешков, И.В. Яминский, В.П. Шibaев	21
<b>Сканирующая зондовая микроскопия оксидов графита и графена: поиск новых материалов для электронного нося</b> .....	<b>22</b>
О. В. Сеницына, Г. Б. Мешков, А. В. Григорьева, Ш. С. Раджабзода, И. В. Яминский	22
<b>Микроскопическое исследование образования полос сдвига при «холодной прокатке» ПЭТФ</b> .....	<b>23</b>
И. В. Сосновский, С. Л. Баженов, А. Л. Волынский, А. В. Ефимов, А. В. Большакова	23
<b>Синтез фосфатов кальция в пористой матрице полилактида</b> .....	<b>24</b>
Е.С. Трофимчук, О.А. Иванова, М.А. Москвина, Н.И. Никонорова	24
<b>Бионаноскопия в центре молодежного инновационного творчества «Нанотехнологии»</b> .....	<b>26</b>
А.И. Ахметова, А.О.Дудник, Г.Б. Мешков, О.В. Сеницына, И.В. Яминский	26
<b>Метрология в бионаноскопии</b> .....	<b>27</b>
Г.Б. Мешков, О.В. Сеницына, И.В. Яминский	27
<b>Деформация кристаллических полиолефинов в жидкой среде по механизму крейзинга</b> .....	<b>29</b>
Ярышева А.Ю., Багров Д.В., Ярышева Л.М.	29
<b>Список участников конференции</b> .....	<b>30</b>

# ЗАВИСИМОСТЬ ХАРАКТЕРА АГРЕГАЦИИ ФЕРМЕНТОВ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ

И.С. Арзуманян, С.Н. Егоров, И.В. Яминский  
МГУ имени М.В. Ломоносова, ИНЭОС РАН  
i.arzumanyan@festivalnauki.ru

В данной работе был изучен характер агрегации трех ферментов (конститутивная кислая фосфатаза, инвертаза, алкогольдегидрогеназа) дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* при четырех различных концентрациях методом атомно – силовой микроскопии.

Поскольку исследуемые ферменты, как и большинство биологических объектов имеют низкую механическую жесткость, применение инвазивных методов и методов, требующих обработки образца может приводить к искажению полученных результатов. Метод атомно – силовой микроскопии позволяет обойти вышеупомянутые ограничения, поскольку подготовка образца не требует обработки.

Конститутивная кислая фосфатаза и инвертаза являются гликопротеинами, в то время как алкогольдегидрогеназа – негликозилированный фермент дрожжей. Все препараты были выделены из культуральной среды по ранее описанной методике [1], лиофильно высушены и хранились при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Показана зависимость характера агрегации конститутивной кислой фосфатазы от концентрации фермента. При низких концентрациях она агрегирует в округлые глобулы, однако при самой высокой из исследуемых концентраций начинается образование плотных структурных тяжей длиной до  $\sim 800$  нм, что не является характерным для большинства гликопротеинов.

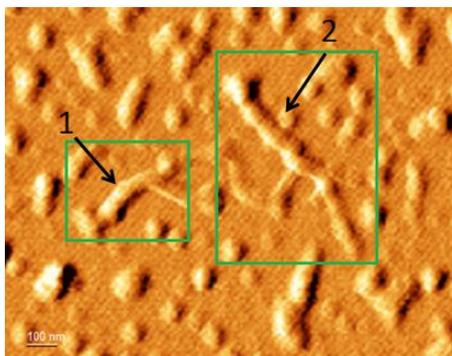


Рис. 1. АСМ изображение конститутивной кислой фосфатазы,  $C = 45 \cdot 10^{-3}$  мг/мл.

Для того, чтобы подтвердить, что подобный характер агрегации является индивидуальной особенностью конститутивной кислой фосфатазы, было проведено исследование двух других ферментов.

Было показано, что характер агрегации инвертазы является характерным для большинства гликопротеинов – фермент агрегирует в бесформенные структуры при всех исследуемых концентрациях, размер которых увеличивается с повышением концентрации.

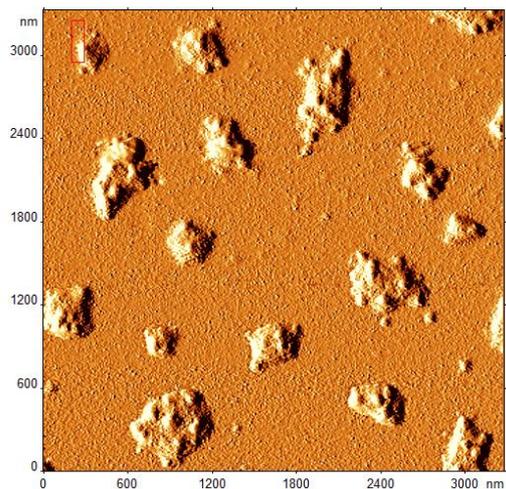


Рис. 2. АСМ изображение инвертазы,  $C = 45 \cdot 10^{-3}$  мг/мл.

Алкогольдегидрогеназа также продемонстрировала агрегацию в бесформенные или округлые структуры.

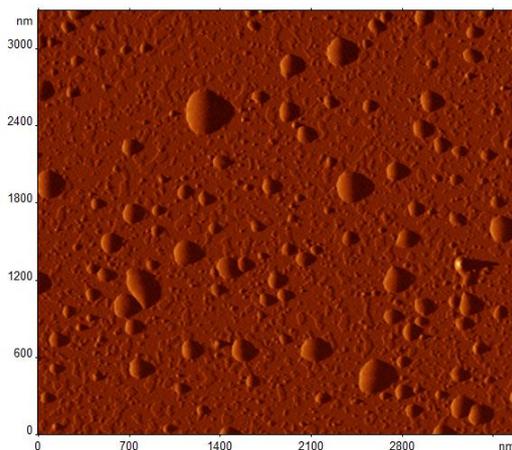


Рис. 3. АСМ изображение алкогольдегидрогеназы,  $C = 45 \cdot 10^{-3}$  мг/мл.

Список литературы:

1. Шнырева М.Г., Цупрун В.Л., Стельмашук В.Я., Егоров С.Н., Биохимия, 57, 1110-1118 (1992).

# ЗАВИСИМОСТЬ ХАРАКТЕРА АГРЕГАЦИИ РЕПРЕССИБЕЛЬНОЙ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ В СРАВНЕНИИ С КОНСТИТУТИВНОЙ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗОЙ

И.С. Арзуманян, С.Н. Егоров, С.А. Кузнецов, И.В. Яминский  
МГУ имени М.В. Ломоносова, ИНЭОС РАН  
*i.arzumanyan@festivalnauki.ru*

Репрессибельная кислая фосфатаза является одним из двух видов внеклеточных фосфатаз (помимо конститутивной кислой фосфатазы), которые синтезируются дрожжами *Saccharomyces cerevisiae*.

Считается, что кислые фосфатазы дрожжей имеют одинаковую функцию – катализ гидролиза эфиров фосфорной кислоты при низких значениях рН.

Ранее нами было показано, что характер агрегации конститутивной кислой фосфатазы при высокой концентрации фермента не является типичным для большинства гликопротеинов – было выявлено образование вытянутых структурных тяжей длиной до ~800 нм [1]. В данной работе методом атомно – силовой микроскопии проведено исследование характера агрегации репрессибельной кислой фосфатазы, считающейся аналогичной по функции конститутивной кислой фосфатазе, и ее гомомерных форм, полученных при клонировании генов РНО5, РНО10 и РНО11 при четырех различных концентрациях.

Все препараты были выделены из культуральной среды по ранее описанной методике [2], лиофильно высушены и хранились при температуре -18 °С.

Показана зависимость характера агрегации репрессибельной кислой фосфатазы от ее концентрации. При всех исследуемых концентрациях фермент, в отличие от конститутивной кислой фосфатазы, продемонстрировал слипание в характерные для всех гликопротеинов бесформенные или округлые структуры (рис.1).

Также было показано, что при аналогичных условиях эксперимента фермент, кодируемый геном РНО10 образует вытянутые структуры так же, как конститутивная кислая фосфатаза, в то время как ферменты, кодируемые генами РНО5 (рис. 2) и РНО11 (рис.3), образуют округлые глобулы размером от ~ 30 нм при низких концентрациях и до ~ 570 нм при концентрации более 15 мкг/мл.

Полученные нами данные позволяют сделать предположение о том, что синтез ортофосфата для питания клетки может быть не единственной функцией конститутивной

кислой фосфатазы, вытянутые тяжи которой, предположительно могут иметь и структурную функцию.

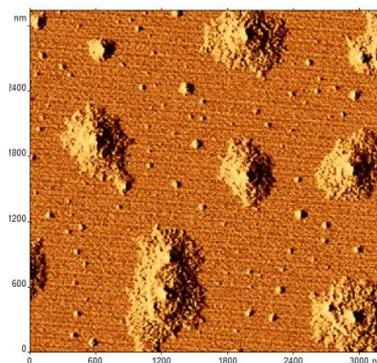


Рис. 1. АСМ изображение репрессибельной кислой фосфатазы,  $C = 45 \cdot 10^{-3}$  мг/мл

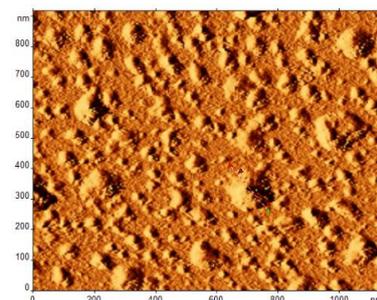


Рис. 2. АСМ изображение фермента, кодируемого геном РНО5,  $C = 45 \cdot 10^{-3}$  мг/мл

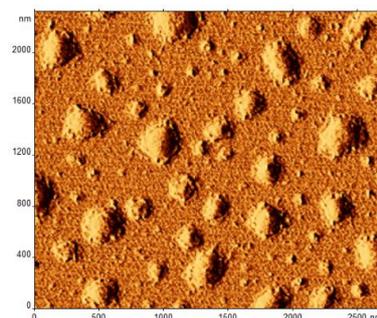


Рис. 3. АСМ изображение фермента, кодируемого геном РНО11,  $C = 45 \cdot 10^{-3}$  мг/мл

Список литературы:

- Арзуманян И.С., Егоров С.Н., Яминский И.В., Медицина и высокие технологии, (2016) – *принято в печать*.
- Шнырева М.Г., Цупрун В.Л., Стельмашук В.Я., Егоров С.Н., Биохимия, 57, 1110-1118 (1992).

# ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БАКТЕРИИ *E.Coli*

А.И.Ахметова, И.В.Яминский

Центр перспективных технологий, НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ  
pr@atcindustry.ru

Исследование *E.coli* как нозокомиального (внутрибольничного) патогена становится все более актуальным, поскольку кишечная палочка является первым по частоте возбудителем в ряде стран и входит в число основной пятерки бактериальных патогенов [1]. Особенности лечения внутрибольничной инфекции связаны с возникновением болезни в ослабленном организме, и характеризуется, как правило, высокой резистентностью штаммов к традиционным методам лечения.

В настоящее время различные методы лабораторной диагностики вирусных и бактериальных инфекций в определенной степени развиты, однако их применение в индивидуальных портативных системах затруднено. Нами было предложено разработать биосенсор на бактерии *Escherichia coli* для персонального использования в рамках проекта «Разработка сенсорных технологий молекулярной диагностики для персонифицированной медицины». В ходе реализации проекта были проведены измерения бактерии *E.coli* в биологических жидкостях и воздушной среде с помощью сканирующего зондового микроскопа ФемтоСкан и программного обеспечение ФемтоСкан Онлайн [2]. Программное обеспечение ФемтоСкан Онлайн позволяет осуществлять многопараметрический анализ изображений с применением интеллектуальных алгоритмов, что существенно повышает достоверность результатов.

Если наблюдать в одних и тех же условиях различные штаммы бактерий, то регистрируемые различия могут давать ценную диагностическую информацию. Например, удастся обнаружить различный характер морфологии внешней мембраны исходного штамма бактерий *Escherichia coli* K62 и его трансдуктантного штамма с внедренным в ДНК дополнительным геном *gfb-a3,4*, ответственным за синтез О-специфических боковых цепей липополисахаридов, типичных для возбудителя дизентерии – *Shigella flexneri* [3]

В рамках первого этапа проекта проведено теоретическое сравнение методов по предельно достижимой чувствительности для различной топологии сенсорного элемента и геометрии проточной жидкостной ячейки. Биосенсор состоит из блока управления, корпуса и комплекта биочипов, на сенсорной поверхности

которых наносится вещество, содержащее группы, специфичные к элементам наружной мембраны клетки, для обнаружения и измерения концентрации бактерий *E.coli*.

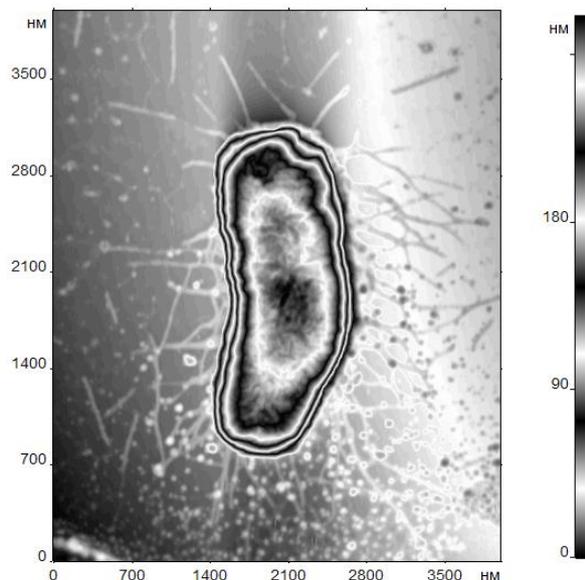


Рис 1. Изображение *E.coli*. В программном обеспечении «ФемтоСкан Онлайн» использована палитра «зебра» для контрастирования контурного рельефа.

Проект предполагает дальнейшее развитие высокочувствительных физических методов, направленных на обнаружение бактериальных частиц в воздушной среде и в жидкостях. При выполнении проекта будут разработаны методы, основанные на детекцию бактерий без использования дополнительных меток, что позволит уменьшить как количество стадий пробоподготовки, так и общее время обнаружения бактерий.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и образования (в рамках проекта 02.G25.31.0135).

## Список литературы:

1. Г.К. Решедько, А.Г. Щебников, М.В. Морозов, Л.А. Решедько, Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 13(4), 314-321 (2011).
2. И. Яминский, А. Филонов, О. Сеницына, Г. Мешков, Программное обеспечение «ФемтоСкан Онлайн» // Наноиндустрия, 2(64), с. 42-46 (2016)
3. И.В. Яминский, В.В. Демин, В.М. Бондаренко, Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 6, 15–18 (1997).

# APPLICATION OF AFM FOR THE DIAGNOSTICS OF INITIAL STAGES OF RADIATION DAMAGE OF EXTRACELLULAR MATRIX

G.V. Belkova, S.L. Kotova, V.A. Timofeeva, K.V. Babak<sup>1</sup>, M.V. Kochueva<sup>1</sup>, A.V. Maslennikova<sup>1</sup>, A.B. Solovieva

*N.N. Semenov Institute of Chemical Physics*

<sup>1</sup>*N.I. Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod – National Research University*

*galinabelkova@mail.ru*

Currently, radiotherapy has been widely used for the treatment of malignant tumors. However, a high rate of adverse effects is observed for the normal tissues which are also affected by irradiation.

Here we report using atomic force microscopy (AFM) for early detection of radiation damage of collagen structures in the internal organs at the micro- and nanometer scale. For this purpose, experiments on the irradiation of experimental animals at a dose of 2 Gr were carried out *in vivo*, and the bladder and rectum tissue samples were studied 1 day, 1 week and 1 month post-irradiation. The tissue sections on glass slides were examined on air with an atomic force microscope Solver P47 (NT-MDT, Russia).

As was shown by the histological studies, the basic localization of elements containing collagen and elastin in intact bladder and rectum of rats are basement membrane, lamina propria of mucosa, submucosa, the walls of blood vessels and the stromal skeletal muscle membrane. Optical microscopy of Van Gieson-stained bladder samples showed that 1 week post-irradiation, small changes were detected in the form of fuzziness of contours of the urothelium basement membrane. The study of the bladder samples of 1 month post-irradiation showed no signs of alteration of the collagen/elastin containing elements. The histological study of the rectum samples after exposure to the dose of 2 Gr showed no change regardless of the period post-irradiation.

The AFM study of intact bladder tissues showed collagen fibers and their bundles, either naked or covered with an amorphous material. Densely stacked short collagen fibrils were clearly visible inside the collagen fibers. In overview AFM images of the extracellular matrix of the rectum samples, a 3D network of collagen fibers was visualized with the thickness of 1-2 microns. High resolution images demonstrated a dense mesh packing of thin collagen fibrils, partially coated with spherical particles of amorphous protein. It was shown, that, as soon as in a week post-irradiation, the extracel-

lular matrix's morphology of the bladder samples underwent visible changes. The collagen fibrils' packing was characterized by "smearing" due to the presence of a non-fibrous material at the surface of fibrils, with areas of exposed collagen fibrils bound in a dense 3D network. In 1 month post-irradiation, there were significant changes in the extracellular matrix's morphology of the bladder samples at all the levels of its organization. The collagen fibers in these samples formed dense oriented structures of a considerable thickness. The fibrils formed several types of packing - dense parallel packing, mesh packing and dense packing of the fibrils, coated by spherical particles of another protein. In the rectum samples, prepared 1 week after irradiation, the three-dimensional structure characteristics of the intact tissue basically remained unchanged. However, there were areas with thick densely packed collagen fibers. Similarly to the bladder samples, in the rectum samples 1 month post-irradiation collagen fibers formed a dense oriented structures of a considerable thickness (3-7  $\mu\text{m}$ ), in contrast to the initial network structures. A very dense fine-meshed network of thin fibrils, partially nude, partially covered with a dense continuous layer of an amorphous protein material was visualized inside such structures. One may assume that inflammation, manifesting itself as a disorder of collagen structures, develops in the bladder tissue 1 week post-irradiation; 1 month post-irradiation, fibrosis develops in the bladder and rectum tissues leading to formation of dense oriented bundles of collagen fibers, composed of similarly densely packed fibrils. The process of fibrosis results in the loss of elasticity of these organs.

Thus, we have shown that AFM is a sensitive method of early detection of radiation damage in collagen-containing internal organs which may offer new approaches to the assessment of the early radiation damage to normal tissues during radiation therapy.

This study was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant No. 15-02-04505).

# МЕХАНИЗМ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ: АСМ-ИССЛЕДОВАНИЕ ОТКРЫТЫХ ПРОМОТОРНЫХ КОМПЛЕКСОВ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ С БЛИЗКОРАСПОЛОЖЕННЫМИ КОНВЕРГЕНТНЫМИ ПРОМОТОРАМИ

Е.В. Дубровин, О.Н. Королёва, И.В. Яминский, В.Л. Друца  
Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова  
dubrovin@polly.phys.msu.ru

Исследования последних лет показали, что транскрипционная интерференция (ТИ), связанная со взаимодействием двух молекул РНК-полимеразы, инициирующих транскрипцию с близкорасположенных промоторов в одном (тандемная транскрипция) или противоположных (конвергентная транскрипция) направлениях, является одним из механизмов регуляции экспрессии генов. В последнем случае эффект подавления транскрипции является наиболее выраженным [1]. При этом молекулярные механизмы ТИ остаются недостаточно изученными.

В данной работе для того чтобы выяснить вклад различных структурных факторов в ТИ, был сконструирован ряд плазмид с близкорасположенными конвергентными промоторами, отличающихся межпромоторным расстоянием. Межпромоторные области характеризуются тем, что для конструкций pRLM1, pRLM2 и pRLM4 расстояния между точками инициации транскрипции отличаются на целое число витков спирали, а в случае конструкции pRLM3 это отличие составляет целое число плюс половина. Сконструированные плазмиды и образуемые ими открытые транскрипционные комплексы были исследованы с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ).

Все исследуемые в работе плазмиды образовывали одинарные открытые транскрипционные комплексы (пример таких комплексов приведён на рисунке 1) приблизительно с одинаковой частотой (~25%). Кроме того, часть плазмид содержала двойные открытые промоторные комплексы, однако частота их образования и пространственная организация были разными для разных типов плазмид. Так, на плаزمиде pRLM2 и pRLM4 двойные транскрипционные комплексы встречались довольно редко (с частотой менее 1%), при этом обе молекулы РНК-полимеразы выстраивались вдоль контура прилегающего к ним участка ДНК. Напротив, плазмиде pRLM3 образовывала двойные транскрипционные комплексы гораздо чаще (с частотой около 20%), причём две молекулы выстраивались,

как правило, поперёк контура молекулы ДНК.

На основе полученных данных была предложена модель ТИ, основанная на взаимодействии двух близкорасположенных молекул РНК-полимераз. Данное взаимодействие обусловлено изгибом ДНК, возникающим в результате связывания РНК-полимеразы с промотором и образования открытого комплекса. В зависимости от взаимного расположения точек инициации транскрипции в пространстве, может образовываться «карман» (U-образная конфигурация), затрудняющий образование двойного транскрипционного комплекса из-за стерического фактора, или S-образная конфигурация, при которой два фермента РНК-полимеразы стерически не препятствуют образованию двойного транскрипционного комплекса.

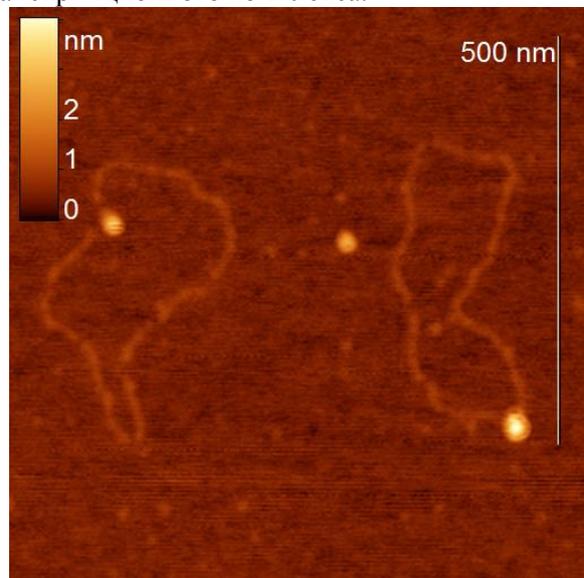


Рис. 1. АСМ-изображение открытых промоторных комплексов на плазмиде pRLM4. Размер изображения 700×700 нм.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-32-20629.

Список литературы:

1. A.C. Palmer, J.B. Egan, K.E. Shearwin, *Transcription*, 2, 9-14 (2011).

# КРЕЙЗИНГ ПОЛИЭТИЛЕНА ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ, ДЕФОРМИРОВАННОГО В СВЕРХКРИТИЧЕСКОМ ДИОКСИДЕ УГЛЕРОДА: ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ МЕТОДОМ АСМ

А.О. Дудник, Е.С.Трофимчук, Д.В. Багров, И.В. Яминский

Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, г.Москва

[dudnik@physics.msu.ru](mailto:dudnik@physics.msu.ru)

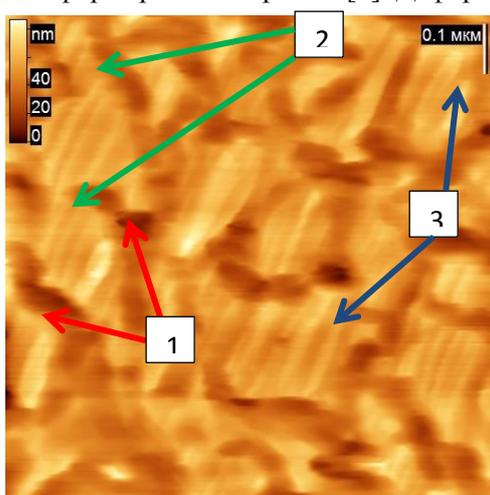
Полиэтилен высокой плотности (ПЭВП) или полиэтилен низкого давления – один из представителей полиолефинов. ПЭВП характеризуется высокой долей кристалличности (около 70%), обладает водонепроницаемостью и химической инертностью, практически не набухает ни в одном из известных растворителей, легко поддается переработке. Все это делает его привлекательным для применения в самых различных областях. В частности, пористые материалы на основе полиэтилена оказываются востребованными в качестве изоляционных, мембранных, медицинских материалов.

В качестве одного из методов создания пористой структуры в полимерных пленках и волокнах является процесс одноосного деформирования в присутствии адсорбционно-активной среды. В этом случае формирование пористой структуры происходит по механизму крейзинга[1]. Цель данного исследования - изучить явление крейзинга для пленки ПЭВП в сверхкритическом диоксиде углерода с помощью метода АСМ. Сверхкритический диоксид углерода был выбран как экологически чистая и невзрывоопасная среда для формирования крейзов[2]. Деформи-

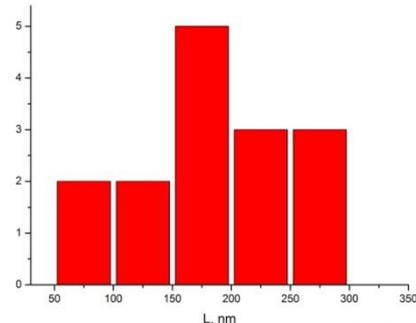
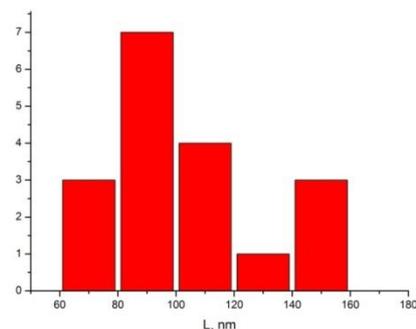
рование образцов ПЭВП проводили в ячейке высокого давления в среде  $\text{CO}_2$  со скоростью примерно 25%/мин при температуре 35°C и давлении газа 100 атм. Удаление  $\text{CO}_2$  из объема полимеров осуществляли путем его выпуска из устройства через капилляр.

Полученный образец зажимали в рамку по периметру и исследовали на атомно-силовом микроскопе в контактном режиме (рис.1).

Для исключения действия на поверхности полимера капиллярных эффектов на иглу кантилевера измерения проводились в воде. Помимо этого, вода была выбрана как наиболее безопасная и устойчивая к испарению среда.



**Рис.1.** АСМ-изображения ПЭВП-185%, растянутого в сверхкритике  $\text{CO}_2$ . 1 – ламели, 2 – фибриллы, 3 – поры.



**Рис.2.** Гистограмма распределения периода  $L$  для 100% (сверху) и 185% (снизу) деформации.

Последнее особенно важно при измерении на АСМ. В качестве контактного зонда был вы-

бран MSCT – чип с 6-ю кантилеверами жесткостью от 0,1 до 0,5 Н/м треугольной формы. Полученные изображения подтвердили, что развитие пористой структуры в пленке ПЭВП происходит по механизму делокализованного крейзинга в результате раздвижения ламелей и формирования между ними системы разобщенных ориентированных фибрилл. При этом возникающие поры имеют форму щелей. Статистические данные – период ламель-фибрилла и период парафибрилла – были измерены по максимальным пикам поперечного сечения снимка, так что  $d$  – это (поперечный размер поры + диаметр фибриллы), а  $L$  – это (продольный размер фибриллы + поперечный размер ламели). Результаты измерений показали, что с ростом деформации увеличивается продольный размер фибрилл (рис.2), а также продольный размер пор. При этом поперечный размер пор

и диаметр фибрилл изменяются незначительно.

Полученные данные представляют значительный интерес для фундаментальной и прикладной физики высокомолекулярных соединений. АСМ-изображения в качестве визуального метода могут служить наглядным подтверждением той или иной теории деформации аморфных полимеров.

#### Список литературы:

1. А.Л.Волынский, Н.Ф.Бакеев. Структурные аспекты деформации аморфных полимеров. Известия Академии наук. Серия химическая. №1 (2005).
2. Е.С. Трофимчук, А.В. Ефимов, Л.Н. Никитин, Н.И. Никонорова и др. Получение нанопористых пленок полиолефинов в сверхкритическом диоксиде углерода. Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. Том 8. №4. (2013).

# ASNOM – ОПТИЧЕСКИЙ ЩУП-ПРОБНИК НАНОМЕТРОВОГО РАЗРЕШЕНИЯ

Д.В. Казанцев<sup>1</sup>, Е.А.Казанцева<sup>2</sup>, И.Э.Бессарабская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Институт теоретической и экспериментальной физики им. А.И. Алиханова  
Москва, 117218, Бол. Черемушкинская ул., 25*

[kaza@itep.ru](mailto:kaza@itep.ru)

<sup>2</sup>*Московский технологический университет  
Москва, 119454, просп. Вернадского, д.78*

Рассматриваются принципы работы и результаты применения сканирующего безапертурного микроскопа ближнего оптического поля (Apertureless Scanning Near-field Optical Microscope, ASNOM). В этом приборе SPM (в русской аббревиатуре – СЗМ), растровое сканирование поверхности производится традиционным способом, а предметом измерения является оптическое взаимодействие острия зондирующей иглы с объектами на поверхности образца в области, определяемой размерами острия.

Игла в ASNOM, представляющая собой в большинстве случаев продолговатый металлический или металлизированный объект макроскопических размеров, хорошо взаимодействует с эфиром: эффективно принимает пролетающие мимо световые волны и эффективно излучает волны в окружающее пространство. С другой стороны, в ASNOM гораздо лучше электромагнитное согласование с объектами на поверхности. Амплитуда электромагнитного поля в области «пятна контакта», поперечный размер которого определяется радиусом острия иглы (десятки нм), а зазор игла-поверхность может достигать доли нм. В итоге оказывается, что амплитуда электромагнитного поля в зазоре игла-образец, непосредственно приложенного к исследуемому объекту (напр., молекуле) превышает амплитуду пролетающих мимо волн возбуждающего излучения на 4-5 порядков.

Продолговатую иглу, в которой внешнее излучение возбуждает дипольные колебания, можно рассматривать как штыревую антенну, подключенную через емкость зазора к заземляющей поверхности образца. Наведенные внешним полем вынужденные дипольные колебания в этой антенне (амплитуда и фаза которых определяется амплитудой и фазой действующего на диполь локального поля), сами становятся источником расходящихся в окружающее пространство волн.

При этом амплитуда и фаза этих волн зависят от условий заземления антенны, т.е. от свойств исследуемого точечного объекта под иглой, или от диэлектрической проницаемости самой поверхности. Оказывается, что при «упругом» рассеянии (когда частота рассеянного иглой света равна частоте падающего на нее излучения) ничтожно слабую рассеянную волну можно надежно продетектировать путем оптического гомо- и гетеродинамирования в интерферометре.

Игла ASNOM имеет размер нескольких микрон (как правило, эта игла сделана из стандартных игл для AFM). Сигнал, соответствующий амплитуде рассеянного ей поля, ничтожно слаб. Тем более слаба компонента сигнала, соответствующая ближнепольным электромагнитным взаимодействиям кончика иглы с поверхностью образца и исследуемым объектом на ней. Другой прием, в дополнение к оптическому гомо(гетеро)динамизированию, использует нелинейность зависимости ближнепольного взаимодействия иглы с образцом от расстояния игла-поверхность. Выделение высших гармоник частоты вертикальных колебаний иглы (используемых в обратной связи по высоте TappingMode в качестве датчика касания) позволяет избавиться от бесполезных вариаций фототока детектора, которые в десятки раз сильнее. Аналогичный эффект дает и просто подвод-отвод иглы к образцу.

В докладе будут представлены примеры использования ASNOM для получения карт диэлектрической проницаемости образца, дающих материал-контраст, карт распределения локального поля в бегущих (стоячих) поляритонных волнах. Будут также представлены примеры использования ASNOM для сбора сигнала люминесценции и комбинационного рассеяния. Пространственное разрешение метода составляет 10-50 нм в плоскости образца, а чувствительность достаточна для спектроскопии одиночных молекул.

# БЕСКОНТАКТНЫЙ КОНТРОЛЬ ТЕМПЕРАТУРЫ ПОВЕРХНОСТИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ПОВЕРХНОСТЕЙ IN SITU

Д.В. Капытов<sup>1</sup>, О.В. Сеницына<sup>2</sup>, Г.Б. Мешков<sup>1</sup>, И.В. Яминский<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup>Физический ф-т Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

<sup>2</sup>Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова (ИНЭОС РАН)

<sup>3</sup>Центр перспективных технологий

[dv.kapytov@physics.msu.ru](mailto:dv.kapytov@physics.msu.ru)

Научный и практический интерес к исследованиям поверхностей методами сканирующей зондовой микроскопии при различных температурах обусловлен существованием широкого спектра объектов и эффектов для которых температурные условия играют определяющее значение. К таким процессам можно отнести, например, исследование роста кристаллов, наблюдение фазовых переходов в термотропных жидкокристаллических полимерах и др. Изучение биологических структур очень часто требует постоянного прецизионного контроля температуры образца, что само по себе является нетривиальной задачей.

Возможно применить два различных подхода: подогрев всего объема измерительной камеры, включающей предметный столик с образцом и зонд, или же локальный подогрев непосредственно столика.

В научной литературе недостаточно работ, посвященных всестороннему рассмотрению процессов контроля температуры зонда и поверхности в точке измерения. В исследованиях, как правило, указывают точность установки температуры из документации к применяемым термостатам, не приводя контрольных измерений и калибровки температуры поверхности.

В основном в коммерчески доступных приборах мощность, подаваемая на нагревательный элемент, регулируется показаниями датчика с обратной связью, который располагается достаточно далеко от точки измерения, что приводит к неспособности системы контролировать температуру на поверхности с необходимой точностью.

В случае исследования фазовых переходов, сопровождающихся выделением или поглощением энергии, удобно использовать физический теплоноситель с достаточной теплоемкостью. И в такой ситуации наиболее логичным выглядит применение бесконтактного инфракрасного датчика температуры, который измерял бы температуру поверхности в точке измерений и производил бы наиболее точные данные даже без возможно-

сти точного контроля температуры, поскольку в зондовой микроскопии основную роль играет локальное состояние поверхности.

Исследования с бесконтактным измерением температуры образца проводятся достаточно редко вследствие достаточной инженерной сложности экспериментальных установок, обеспечивающих необходимую точность. Коммерчески доступные приборы опираются на применение в качестве датчика температуры термисторов, закрепленных в основании нагревательного столика. Следствием этого является затрудненность быстрого и точного нагрева образца, так как довольно сложно учесть все пути диссипации тепловой энергии в системе

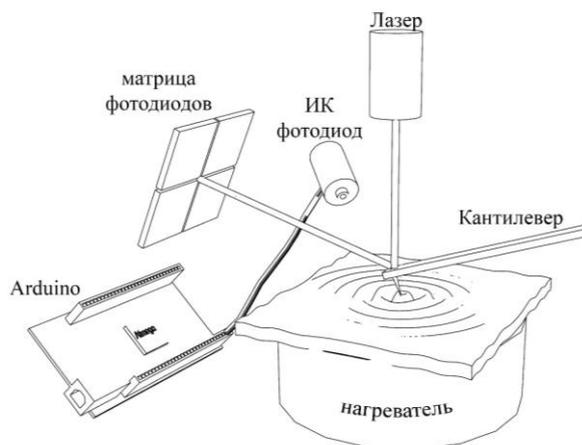


Рис. 1. Схема установки для бесконтактного контроля температуры в точке измерений.

В настоящей работе для изучения локальных свойств поверхности при различных температурах использовался метод атомно-силовой микроскопии в полуконтактном режиме сканирования. Для измерения температуры была собрана установка, схематично представленная на рис.1, в которой использовался микро-ЭВМ Arduino Mega 2560 и бесконтактный датчик температуры Melexis MLX90614. Нагреватель управлялся ШИМ-модулированным сигналом системы обратной связи, на основе показаний датчика.

# ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ЗОНДА АТОМНО-СИЛОВОГО МИКРОСКОПА В СИЛОВОЙ СПЕКТРОСКОПИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Д.В. Корнеев, Б.Н. Зайцев  
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»  
korneev\_dv@vector.nsc.ru

Атомно-силовой микроскоп (АСМ) позволяет измерять силы, возникающие при контакте одиночных наноразмерных объектов, и изучать локальные механические свойства различных поверхностей [1].

Данная техника, называемая атомно-силовой спектроскопией (АСС) нашла широкое применение в исследованиях механических свойств различных биологических объектов от одиночных макромолекул до целых клеток [2,3].

Основной проблемой интерпретации результатов АСС является вопрос о состоянии острия зонда АСМ в момент измерений. Его геометрические параметры и свойства поверхности критически важны для адекватной интерпретации полученных силовых кривых – зависимостей силы, действующей на зонд, от расстояния до изучаемой поверхности.

Наиболее информативным методом характеристики острия зонда АСМ является просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) [4].

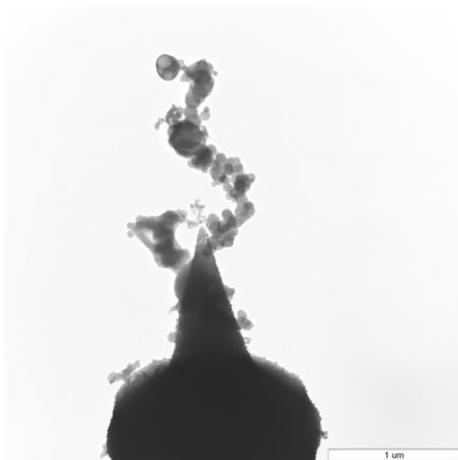


Рис. 1. Контаминированный зонд АСМ. ПЭМ, масштабная линия 1 мкм.

Было проведено более 100 экспериментов по фиксации одиночных вирусных частиц на зонде АСМ. Визуализацией методом ПЭМ было показано, что фиксация вириона на острие функционализованного зонда является крайне маловероятным событием и при простой инкубации в вирусной суспензии поверхность зонда лишь покрывается слоем свободного белка (Рис. 2), всегда присутствующего в вирусных препаратах.

Электронно-микроскопическое исследование сопряжено с воздействием низкого давления и электронного пучка, которое может привести к деградации биологических объектов. Поэтому наиболее адекватной стратегией представляется визуализация зонда до его функционализации и сразу после выполнения силовых измерений (Рис. 3).

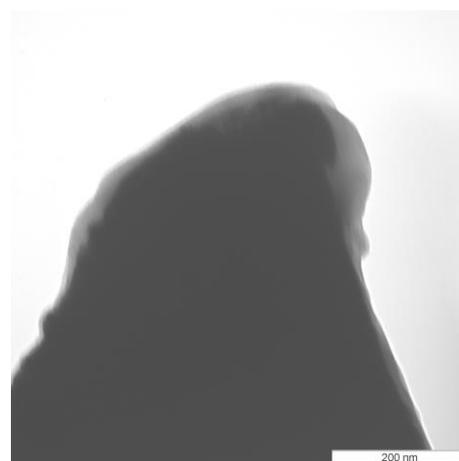


Рис. 2. Зонд АСМ, покрытый белком. ПЭМ, масштабная линия 200 нм.

На примере силовой спектроскопии вирионов была показана необходимость визуализации модифицированных зондов, использованных в силовых измерениях. Без данной операции результаты АСС нельзя считать достоверными, т.к. не определены объекты, контакту которых они соответствуют.



Рис. 3. Надлежащий алгоритм использования зонда АСМ в силовой спектроскопии.

Список литературы:

1. Butt H.J., Capella B., Kappl M., Surf. Sci. Rep., Vol. 59, 1-104 (2005).
2. Bizzarri A.R., Cannistraro S., J. Phys. Chem., Vol. 113, 16449-64 (2009).
3. Costa K.D., Disease Markers, Vol. 19, 139-154 (2004).
4. Cheung C.L., Hafner J.H., Lieber C.M., PNAS, Vol. 97, 3809-13 (2000).

# МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ И ТОНКАЯ СТРУКТУРА АМИЛОИДНЫХ НАНОФИБРИЛЛ $\sigma^{70}$ -СУБЪЕДИНИЦЫ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ *E. COLI*

Н.В.Кузьмина, Е.В.Дубровин

МГУ имени М.В.Ломоносова

*nv.kuzmina@physics.msu.ru*

Амилоидные фибриллы на протяжении нескольких десятилетий являются предметом разносторонних исследований и дискуссий. Формируясь в живых организмах по неизвестным причинам при различных патологиях, такие фибриллы проявляют устойчивость к воздействию денатурирующих агентов и протеаз, сохраняя способность к самосборке и стабильность даже при высоких температурах (вплоть до 140°C) [1].

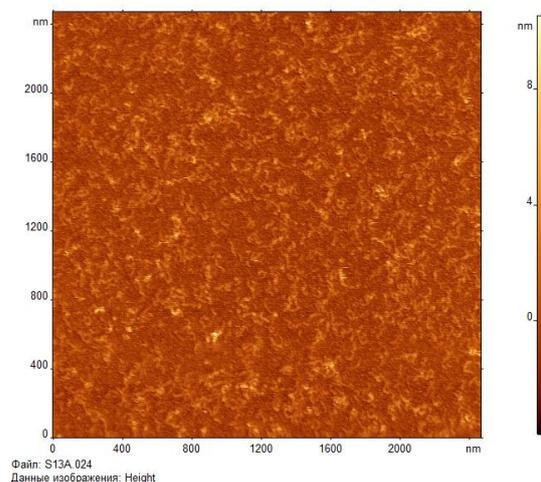
Склонность к спонтанной агрегации в амилоидные фибриллы проявляют различные по структуре и функциям белки, однако причины и молекулярные механизмы процесса остаются все еще актуальной задачей на сегодняшний день [2]. Одним из амилоидогенных белков является  $\sigma^{70}$ -субъединица РНК-полимеразы *E.coli*.

Ранее нами была исследована роль N-концевого участка с использованием мутантных образцов белка, и выявлено, что делеция с 1 по 73 аминокислотных остатков повышает способность к формированию амилоидных фибрилл почти в 10 раз по сравнению с диким типом белка. [3]

Методом атомно-силовой микроскопии был выявлен другой вид агрегатов белка - так называемых червеобразных структур, имеющих структуру "бусин на нити". Молекулярное моделирование показало, что такие структуры, по всей видимости, образуются вследствие связывания различных участков мономеров и димеров белка. При взаимодействии N- и C- концевых участков белка угол между двумя димерами или мономера с димером может умеренно изменяться, тогда как контакт двух NCR-участков остается неизменным. Вероятно, такая гибкость в связи N- и C- концевых участков позволяет образующейся фибрилле изгибаться и формироваться в спиральную нанотрубку.

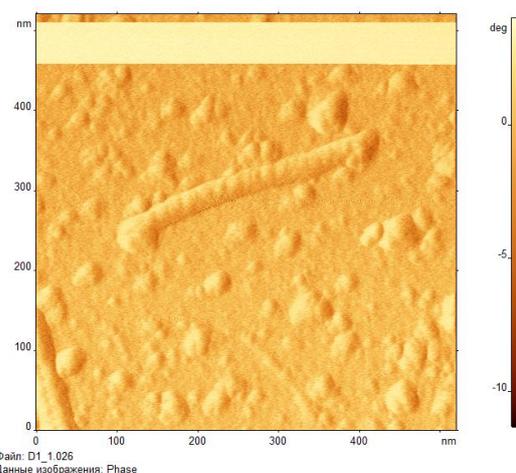
Атомно-силовая микроскопия также позволила увидеть спиральность укладки белка в палочкообразные фибриллы, причем как для дикого типа, так и для мутантов. Средний шаг витка спирали оказался приблизительно равным 20 нм, в отдельных

редких случаях наблюдались фибриллы с шагом витка ~ 10 нм.



Файл: S13A\_024  
Данные изображения: Height

Рис. 1. Червеобразные структуры мутанта с делецией 1-100 от N-конца.



Файл: D1\_1\_026  
Данные изображения: Phase

Рис.2 Спиральность фибриллы мутанта с делецией 1-73 от N-конца.

Работа поддержана грантами РФФИ 15-32-20629 и 13-04-01504.

Список литературы:

1. Anubhav Arora et al. Protein Science, 2004, v.13(9), 2429-2436.
2. Sian-Yang Ow and Dave E Dunstan. Protein Science, 2014, v.23(10), 1315-1331.
3. O. N. Koroleva et al. Cell Biochemistry and Biophysics, 2013, 66(3):623-36.

# ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

С.Н.Плескова, Э.Р. Михеева, Е.Е. Горностаева

Научно-образовательный центр физики твердотельных наноструктур Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского  
pleskova@mail.ru

Атомно-силовая микроскопия позволяет исследовать клетки в нативном состоянии без потери разрешения. Это предоставляет возможность изучать длительные процессы жизнедеятельности клеток в режиме реального времени. Таким образом, можно проводить наблюдения за реализацией разных механизмов клеточной гибели.

Основными ограничениями и требованиями при этом являются: (1) хорошая адгезия клеток к субстрату, (2) оптимальный подбор среды для клеток, (3) минимизация воздействия зонда.

В работе методом атомно-силовой микроскопии исследованы разные механизмы клеточной гибели, инициированные разными индукторами. В качестве индукторов клеточной гибели использовались *S.aureus* 7M, липополисахарид *P.mirabilis* 210, пероксид водорода, квантовые точки CdSe/ZnS-МПК, (CdSe/CdZnS)/ZnS-polyT, CdSeCdSZnS/polyT-(Si(NH<sub>2</sub>)-O)<sub>n</sub>, наночастицы с эффектом апконверсии типа F<sub>3</sub>: Er/Yb и наночастицы магнетита для нейтрофильных гранулоцитов, а также низкие дозы ионизирующей радиации для эритроцитов.

Полученные данные позволяют говорить о конвергенции разных вариантов клеточной гибели под воздействием разных индукторов. В частности, под влиянием грамположительных бактерий и квантовых точек преобладающими вариантами клеточной гибели были некроз (в случае взаимодействия с бактериями результат «сорванного фагоцитоза») и образование neutrophil extracellular traps (нетоз) (рис. 1).

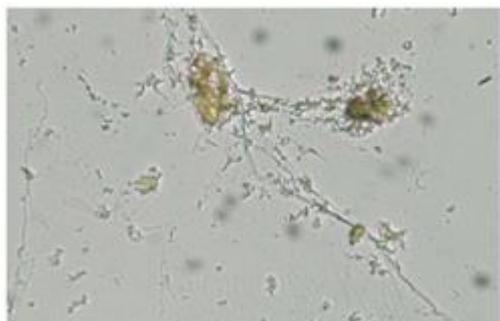


Рис. 1. Нетоз нейтрофильных гранулоцитов-

после инкубации клеток с CdSe/ZnS- МПК (0,1 мг/мл, 90 мин).

В случае воздействия липополисахарида ведущим вариантом клеточной гибели являлся апоптоз, он же наблюдался в гораздо меньшем количестве случаев при воздействии разных типов наноматериалов и при воздействии пероксида водорода. Интересной особенностью данного механизма клеточной гибели, зафиксированной методом атомно-силовой микроскопии является изменение ригидности мембрано-цитоскелетного комплекса перед отпочковыванием апоптозных телец.

Эриптоз наблюдался в качестве основного механизма клеточной гибели и при воздействии низких доз ионизирующей радиации (0.08 мГр).

Самым интересным из наблюдаемых результатов явилось открытие нового механизма клеточной гибели – «мумификации» при воздействии пероксида водорода и апконверсионных наночастиц. Этот вариант клеточной гибели характеризуется неизменной клеточной морфологией, не отвечающей на воздействие зондом, появление протрузий на поверхности клеток (рис. 2). С некрозом его роднит окрашивание постмортальным красителем (пропидиумом иодидом).

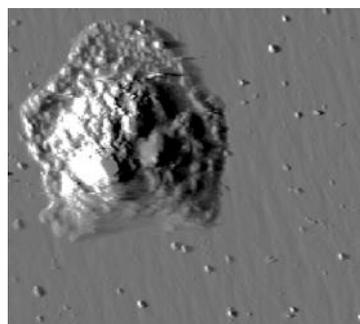


Рис. 2. «Мумификация» нейтрофильного гранулоцита под воздействием апконверсионных наночастиц F<sub>3</sub>: Er/Yb (110 мин).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ (№ 16-14-10179)

# DIRECT VISUALIZATION OF FIBRINOGEN $\alpha$ C REGIONS AND THEIR INVOLVEMENT IN FIBRIN POLYMERIZATION

A. D. Protopopova<sup>1</sup>, N. A. Barinov<sup>2</sup>, R. I. Litvinov<sup>1</sup>,  
D. V. Klinov<sup>2</sup>, J. W. Weisel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

<sup>2</sup> – Scientific Research Institute of Physical-Chemical Medicine, Moscow, Russia

*aprot@mail.med.upenn.edu*

Fibrinogen is a blood plasma protein that forms fibrin, the mechanical scaffold of clots and thrombi. The fibrinogen molecule consists of three pairs of non-identical polypeptide chains designated A $\alpha$ , B $\beta$  and  $\gamma$  arranged into three globular regions connected with two  $\alpha$ -helical coiled-coils. The C-terminal parts of the A $\alpha$  chains called the  $\alpha$ C regions comprise about 27 % of the mass of the molecule and are mostly disordered and flexible. Little is known about their structure and functions, although the  $\alpha$ C regions are thought to mediate intermolecular interactions during fibrin formation [1].

To characterize the morphology of the  $\alpha$ C regions and their involvement in fibrin polymerization, we used a high-resolution atomic force microscopy (AFM) to image fibrin(ogen) monomers, oligomers, protofibrils, and fibers made of the full-length human fibrinogen and naturally truncated purified fibrinogen fractions I-8 and I-9 lacking most of the  $\alpha$ C regions [2]. For imaging in air we used modified graphite as a substrate and supersharp cantilevers [3, 4].

The incidence of the  $\alpha$ C regions extending outward from the fibrinogen monomers was 29% in I-8 and 19% in I-9 compared to 50% in the full-length fibrinogen (assuming the existence of two  $\alpha$ C regions per molecule). Most of the  $\alpha$ C regions were shorter in I-8 and I-9 with the major peak length at 10 nm vs 20 nm in the monomeric full-length structures (fig. 1). The differences in the number and length of the  $\alpha$ C regions remained distinct in protofibrils made from the full-length and I-8/I-9 fibrinogens. Multiple  $\alpha$ C- $\alpha$ C interactions between and within protofibrils made of the full-length fibrinogen were clearly visible, while protofibrils made of the I-8/I-9 fibrinogen had few interacting  $\alpha$ C regions, albeit with the same backbone structures.

These results provide a structural basis for the functional role of the  $\alpha$ C regions, confirming their involvement in fibrin polymerization. It is for the first time that the structural differences between fibrin(ogen) monomers, protofibrils, and fibers with and without the  $\alpha$ C regions were characterized using AFM.

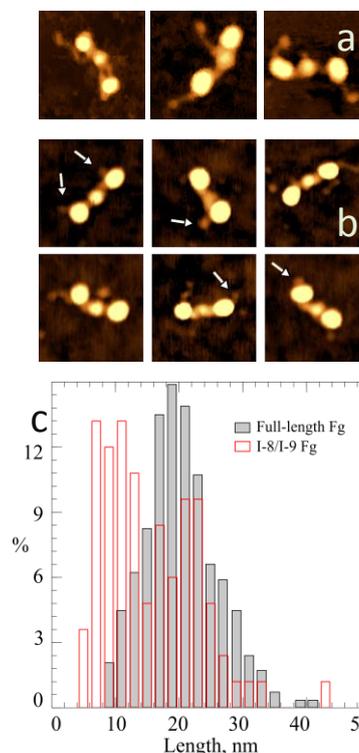


Fig. 1. Different dimensions of the  $\alpha$ C regions in the full-length and truncated fibrinogens. a – AFM images of the full-length and b – I-8/I-9 fibrinogen molecules; the truncated  $\alpha$ C regions are marked with arrows. c – Histogram of the  $\alpha$ C region contour length in the full-length and I-8/I-9 fibrinogens.

## References:

1. Litvinov R. I., Yakovlev S., Tsurupa G., Gorkun O. V., Medved L. V., Weisel J. W. *Biochemistry* 2007; 46: 9133–42.
2. Mosesson M. W., Finlayson J. S., Umfleet R. A., Galanakis D. *Journal of Biological Chemistry* 1972; 247: 5210–5219.
3. Klinov D. V., Lagutina I. V., Prokhorov V. V., Neretina T., Khil P. P., Lebedev Y. B., Cherny D. I., Demin V. V., Sverdlov E. D. *NAR* 1998; 26: 4603–10.
4. Protopopova A. D., Barinov N. A., Zavyalova E. G., Kopylov A. M., Sergienko V. I., Klinov D. V. *JTH* 2015; 13: 570–579.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУРЫ ПОЛИМЕРНЫХ СМЕСЕЙ НА ОСНОВЕ КРЕЙЗОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ

Е.Г. Рухля, Л.М. Ярышева, А.Л. Волынский, Н.Ф. Бакеев  
Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,  
Химический факультет  
119991 Москва, Ленинские горы, д.1  
katrin310@yandex.ru

Электронная микроскопия широко используется для исследования структуры объектов нанометрового размера. В данной работе с помощью сканирующей электронной микроскопии исследована структура полимерных смесей, полученных методом крейзинга полимеров в адсорбционно-активных жидких средах (ААС).

Отличительной особенностью крейзинга является то, что деформирование полимеров в ААС приводит к диспергированию полимера на мельчайшие агрегаты ориентированных макромолекул (фибриллы), разделенных микростратами с размерами не превышающими 20 нм, т.е. соответствуют размерам фаз, характерным для наноматериалов.

Полученные таким образом высокодисперсные фибриллярно-пористые материалы являются основой для создания нанокомпозитов и полимерных смесей. Важным является тот факт, что для получения смесей на основе крейзованных полимеров термодинамическая совместимость компонентов не является определяющим фактором, а критическим условием в данном случае является размер молекул вводимой добавки.

В работе рассмотрены смеси на основе ПЭТФ, деформированного в растворах ПЭО различной молекулярной массы (от 400 до 1М).

Установлено, что ПЭО низкой молекулярной массы, находящийся в жидком агрегатном состоянии сам является ААС по отношению к ПЭТФ и ПЭВП, поэтому состав получаемых смесей соответствует пористости крейзованного полимера.

Для смесей с ПЭО более высокой молекулярной массы содержание ПЭГ вы-

ше, чем это можно предположить исходя из теоретических расчетов, учитывающих пористость полимеров.

Показано, что содержание ПЭО в смесях зависит от скорости деформирования, молекулярной массы полимера и его концентрации в растворе.

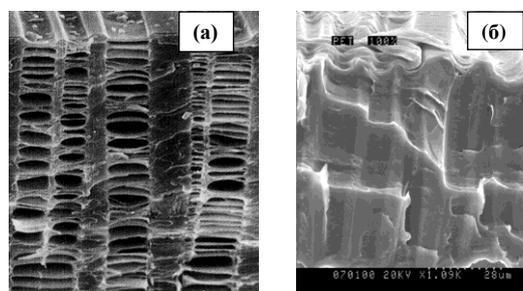


Рис. 1. Сканирующие электронные микрофотографии образцов ПЭТФ, деформированных в ААС (а) и в 5,5%-ном растворе ПЭО м.м. 1М (б).

Электронно-микроскопические исследования позволили заключить, что структура смесей на основе крейзованных полимеров характеризуется микрофазовым разделением и высокой степенью дисперсности компонентов. Высокодисперсная взаимопроникающая фибриллярно-пористая структура крейзованного полимера обуславливает непрерывность двух полимерных фаз в смеси и подобна структуре полувзаимопроникающих полимерных сеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-03-03430-а.

# АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ШТАММА E.COLI M-17, ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА ЦИНКА

А.В.Сагитова, И.В.Яминский, Г.Б.Мешков

Физический факультет МГУ, Центр перспективный технологий  
sagitova@polly.phys.msu.ru

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) биологических объектов – ключевое направление медицины, биотехнологий и нанотехнологий. АСМ применяют для визуализации морфологии объектов и структуры, для создания различных биосенсоров и медицинской аппаратуры для определения резистентности бактерий к антибиотикам и другим химическим вещества и физическим факторам.

В данной работе представлены исследования по взаимодействию бактериального штамма E.coli M-17 с наночастицами оксида цинка в контактном режиме на многофункциональном микроскопе Femtoscanner.

На рисунке 1, 2, 3 представлены АСМ-изображения бактериального штамма E.coli M-17 в различных масштабах и режимах.

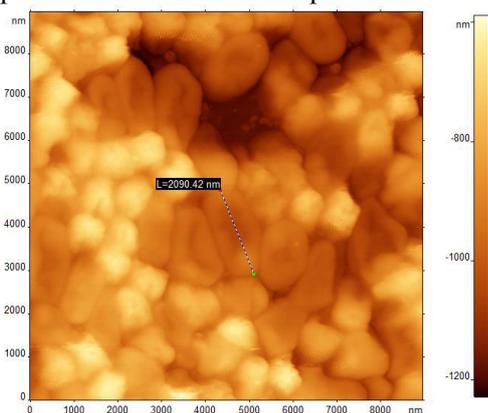


Рис.1. АСМ-изображение штамма E.coli M-17. Топография. Измерения длины одиночной бактерии.

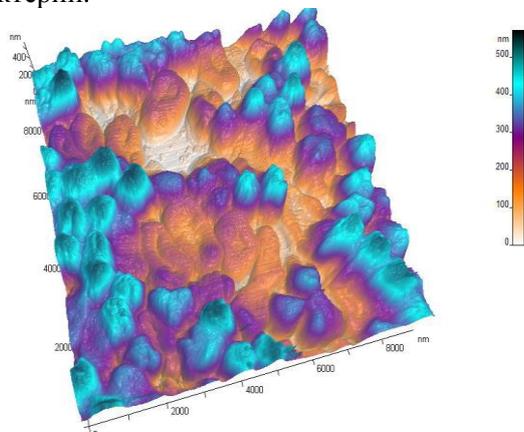


Рис.2. АСМ 3D-изображение штамма бактерий E.coli M-17. В режиме боковой подсветки. Оригинальная цветовая палитра

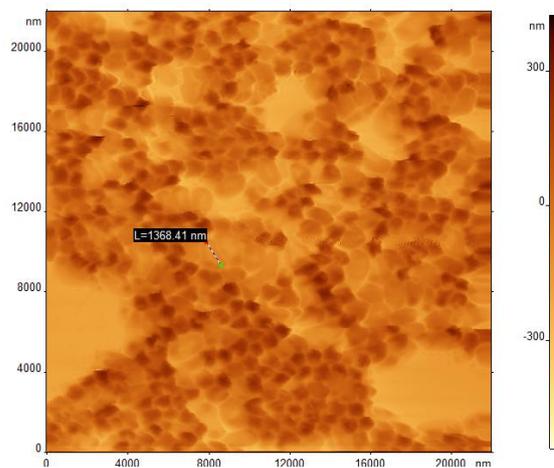


Рис.3. АСМ-изображение штамма E.coli M-17. Обзорный кадр. Измерения длины одиночной бактерии.

Обработка изображений показала, что бактерии имеют овальную уплощенную форму. Размер бактерий от 1 до 2 мкм.

Для исследования резистентности бактериального штамма были выбраны наночастицы оксида цинка. Наночастицы добавляли в суспензию бактерий, далее полученную смесь наносили на природную слюду и получили изображения.

На рисунке 4 наблюдается неравномерное распределение, группирование бактерий на подложке и незначительные различия в морфологии.

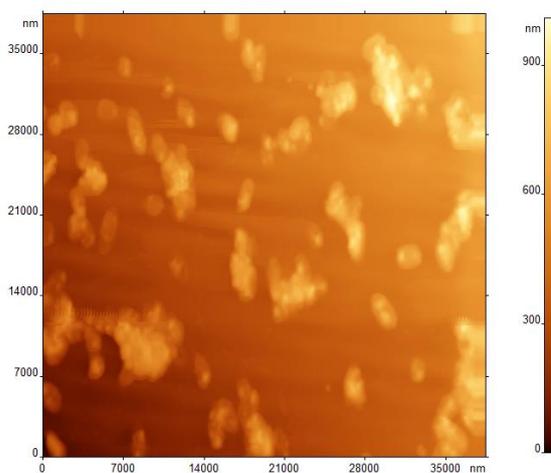


Рис.4. АСМ-изображение штамма E.coli M-17 с наночастицами оксида цинка. Топография.

# ДИНАМИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОСТРУКТУРЫ ПОВЕРХНОСТИ ХОЛЕСТЕРИЧЕСКИХ ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ ЦИКЛОСИЛОКСАНОВЫХ ОЛИГОМЕРОВ

О.В. Синицына<sup>1</sup>, А.Ю. Бобровский<sup>1</sup>, Г.Б. Мешков<sup>2</sup>,

И.В. Яминский<sup>1,2</sup>, В.П. Шibaев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Химический факультет и <sup>2</sup>Физический факультет,

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

E-mail: sinitsyna@gmail.com

Микроструктура поверхности значительно влияет на ее физико-химические свойства, поэтому установление закономерностей формирования микрорельефа полимерных пленок при различных внешних воздействиях является важной задачей. Особого внимания заслуживают холестерические пленки жидкокристаллических (ЖК) полимеров и олигомеров, рельефом поверхности которых можно легко управлять с помощью облучения светом или выбора режима нагрева, пока пленки находятся в ЖК состоянии. Важно отметить, что заданная микроструктура пленок сохраняется при их охлаждении ниже температуры стеклования.

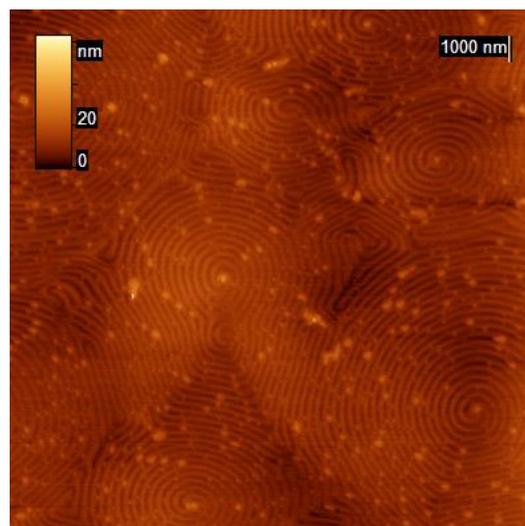
В работе исследовали холестерические пленки на основе циклосилоксановых олигомеров с разной длиной волны селективного отражения света  $\lambda_{\max} \approx 515$  нм (SilGreen) и  $\lambda_{\max} \approx 650$  нм (SilRed). Для контроля шага холестерической спирали с помощью облучения светом в циклосилоксановую матрицу вводили фотохромную хиральную добавку на основе изосорбида (Sorb).

Изучение динамики изменения микроструктуры поверхности пленок проводили с помощью атомно-силового микроскопа «ФемтоСкан» в полуконтактном режиме при нагревании. Использовали кантилеверы с высокой резонансной частотой (около 325 КГц). При данной частоте колебаний зонда поверхность пленок вязкого ЖК полимера проявляла упругие свойства, что позволило получить топографические изображения высокого качества (рис. 1 а, б).

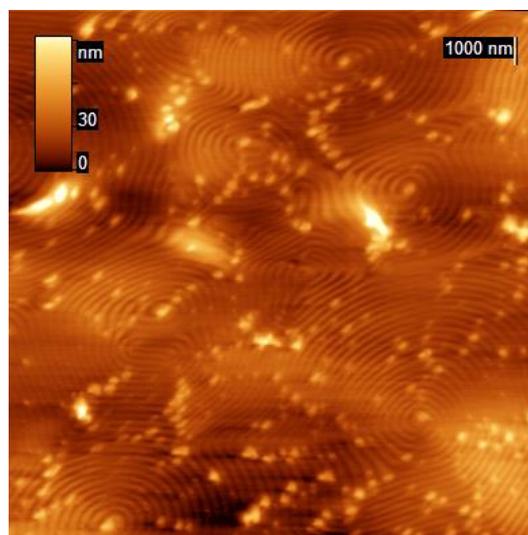
Было найдено, что поверхность пленок состоит из конфокальных доменов со спиральным рельефом. Показано, что высотой доменов можно эффективно управлять в пределах от 5 нм до 30 нм, изменяя режим нагрева и охлаждения пленок.

Выявлены особенности формирования микрорельефа поверхности при изменении шага холестерической спирали, вызванном облучением УФ светом, которые заключаются в уменьшении периода спирального релье-

фа с 550 нм до 350 нм и увеличении площади дефектных областей между доменами.



а



б

Рис. 1. Изображения поверхности пленки SilRed с добавкой Sorb, полученные после облучения пленки УФ светом и нагрева при 80 °С в течение 1.5 часа (а) и 8 часов (б).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта №14-13-00379 (О.В. Синицына, А.Ю. Бобровский, В.П. Шibaев).

# СКАНИРУЮЩАЯ ЗОНДОВАЯ МИКРОСКОПИЯ ОКСИДОВ ГРАФИТА И ГРАФЕНА: ПОИСК НОВЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЭЛЕКТРОННОГО НОСА

О.В. Синицына<sup>1</sup>, Г.Б. Мешков<sup>2</sup>, А.В. Григорьева<sup>3</sup>, Ш.С. Раджабзода<sup>4</sup>,  
И.В. Яминский<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>*Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова  
Российской академии наук (ИНЭОС РАН)*

<sup>2</sup>*Физический факультет и <sup>3</sup>Факультет наук о материалах,*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова*

<sup>4</sup>*Факультет ХФММ Филиала Московского государственного университета в г.Душанбе*  
[sinitsyna@gmail.com](mailto:sinitsyna@gmail.com)

Электронный нос – устройство, предназначенное для анализа окружающей атмосферы с использованием принципов, лежащих в основе обонятельной рецепции человека. Электронный нос является эффективным инструментом для многих научных и промышленных приложений. Он может быть применен для контроля качества и безопасности пищевых продуктов [1], в медицине, фармацевтике, парфюмерии, сельском хозяйстве, в задачах контроля состояния атмосферы на вредных производствах [2].

Электронный нос может быть реализован с использованием газовых сенсоров различных типов: резистивных, оптических, устройств на основе полевых транзисторов, кварцевых микровесов и экспресс-методов газовой хроматографии и масс-спектрометрии [1, 2].

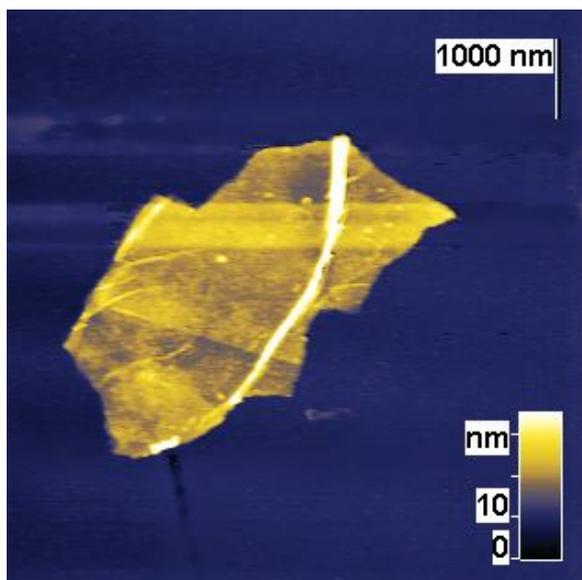


Рис. 1. Частица оксида графена на поверхности слюды с золотым напылением. Атомно-силовая микроскопия.

Перспективным материалом для создания электронного носа является оксид графена.

Он характеризуется высоким отношением поверхности к объему и низкой стоимостью. Его физические свойства, в частности электропроводность, могут меняться в широком диапазоне в зависимости от степени окисления, что открывает возможности для создания больших массивов резистивных сенсоров с различной чувствительностью к составу атмосферы. Электропроводность оксида графена значительно зависит от количества и распределения функциональных групп.

В настоящей работе для изучения локальных свойств оксида графена и графита применены методы зондовой микроскопии: атомно-силовая микроскопия, сканирующая туннельная и сканирующая резистивная микроскопия. Проведено исследование частиц оксида графена, нанесенных на проводящие подложки, а также частично окисленных областей на поверхности высокоориентированного пиролитического графита, созданных методом локального анодного окисления [3]. В докладе обсуждается влияние микроструктуры оксидов графита и графена на их локальную электрическую проводимость. Предложены подходы для создания электронного носа на базе оксида графена.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №16-33-00866 мол\_а.

Список литературы:

1. Loutfi A., Coradeschi S., Mani G.K. et al., Journal of Food Engineering, 144, 103-111 (2015).
2. Wilson A.D., Baietto M., Sensors, 9, 5099-5148 (2009).
3. Sinitsyna O.V., Meshkov G.B., Yaminsky I.V., Proc. IMechE, Part N: J. Nanoengineering and Nanosystems, 224(N3-4), 133-138 (2010).

## Микроскопическое исследование образования полос сдвига при «холодной прокатке» ПЭТФ.

И. В. Сосновский, С. Л. Баженов, А. Л. Волынский, А. В. Ефимов, А. В. Большакова

*Московский Педагогический Государственный Университет*

*Институт физики, технологии и информационных систем, Москва, Россия*

*E-mail: sosnovskii777@gmail.com*

Цель исследования состоит в изучении влияния прокатки на структуру полимера.

Для изучения были взяты пленки: ПЭТФ, ПК, ПА-6 и ПММА в диапазоне толщин 110 - 910 мкм. После осуществлялись наблюдения с помощью световой и SEM микроскопии за структурными изменениями пленки при прокатке на степень вытяжки: от  $\lambda=1.06$  до  $\lambda=1.32$ .

В процессе эксперимента было выяснено, что первоначально полимер деформируется неоднородно. Деформация локализована в зигзагообразном рельефе, который имеет периодическую структуру, зависящую от толщины пленки и степени прокатки. Расстояние между полосами сдвига примерно равно удвоенной толщине пленки. «Пилообразный» рельеф объясняется

истинный размягчением полимера. В местах выхода полос сдвига на поверхность наблюдаются впадины. После выхода области деформации на поверхность образца она продолжает свое распространение к противоположной стороне, зарождаясь в уже существующей. Причем, если смотреть образец на просвет, сфокусировавшись на одной из его поверхностей, то можно заметить, что часть полос находится не в фокусе, это объясняется особенностью образования рельефа.

Таким образом обнаружены новые особенности структуры аморфного ПЭТФ, появляющиеся после прокатки. Образуется зигзагообразная структура. Полосы сдвига имеют размер порядка толщины пленки. Деформирование полимера происходит по полосам сдвига, который имеют ярко выраженную периодическую структуру.

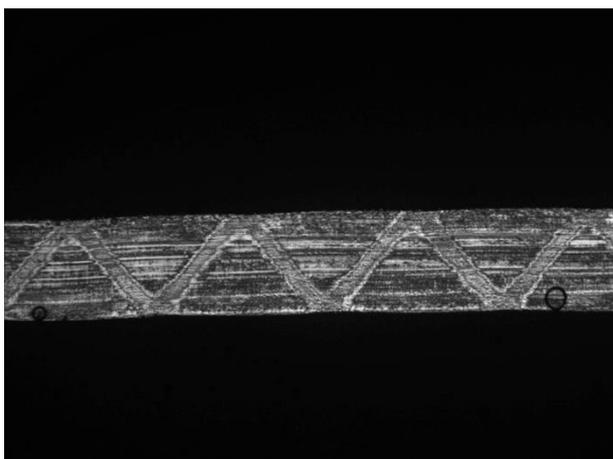


рис. 1. Срез пленки ПЭТФ в торец, толщиной 25 мкм.

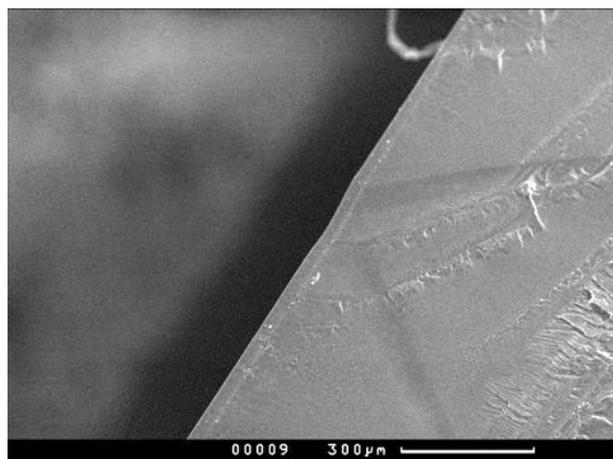


рис. 2. СЭМ-изображение скола пленки ПЭТФ. Пересечение полос сдвига у поверхности образца.

# СИНТЕЗ ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ В ПОРИСТОЙ МАТРИЦЕ ПОЛИЛАКТИДА

Е.С. Трофимчук, О.А. Иванова, М.А. Москвина, Н.И. Никонорова

*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова*

*nni@genebee.msu.ru*

Актуальной проблемой в инженерии костной ткани (КТ) является разработка материалов для устранения костных дефектов. В настоящее время разработаны различные виды материалов, которые применяются в современных медицинских технологиях: кальций-фосфатные цементы, матриксы, биокерамика, др. [1]. Однако важной задачей исследований в этой области является создание органоминерального композита, который бы обладал определенным уровнем механических свойств, был не токсичным и способствовал естественному росту КТ и восстановлению поврежденных участков организма.

Известно [2], что минеральная составляющая кости практически полностью представлена различными формами фосфатов кальция. Поэтому одним из важнейших является вопрос о поиске полимера, который бы стал основой для композиционного материала. Требования к свойствам полимерной матрицы следующие: она должна быть нетоксичной, биосовместимой и биорезорбируемой до полной диссимиляции в организме за контролируемый промежуток времени. Одним из таких перспективных полимеров, удовлетворяющих перечисленным требованиям, является полилактид (ПЛ).

В данной работе предложен подход к созданию композиционного материала, обладающего определенным уровнем механических свойств и характеризующегося высокой взаимной дисперсностью термодинамически несовместимых фосфатов кальция и полилактида. В основе метода создания композита – использование пористой матрицы ПЛ, получаемой по механизму крейзинга [3], в качестве основы для синтеза неорганической фазы фосфата кальция в объеме нанопор (крейзов).

Основная цель работы заключалась в изучении особенностей протекания реакции образования и кристаллизации фосфатов кальция в водных растворах и пористых крейзованных матрицах полилактида, установлении влияния рН среды и морфологии пористой пленки на химический

состав, дисперсность и структуру образующейся неорганической фазы.

В качестве полимерной матрицы использовали промышленные гранулы полилактида марки PLA4032D,  $M_w=200$  кДа,  $M_w/M_n=1.6$ , толщина 110-140  $\mu\text{m}$ . Изотропную аморфную пленку ПЛ получали горячим прессованием с быстрым охлаждением холодной водой. Одноосное деформирование пленки ПЛ в среде 50%-ного водного раствора этанола происходило по механизму крейзинга и сопровождалось формированием открыто-пористой структуры. На рис. 1 представлена СЭМ-микрофотография хрупкого скола деформированного образца.

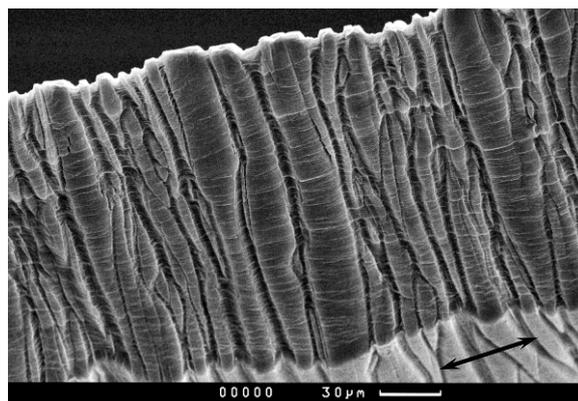


Рис. 1. СЭМ-микрофотография пленки ПЛ после растяжения в 50%-ном водном растворе этанола на 100%.

Эффективная объемная пористость пленок ПЛ составила 25-35 об.%.

Используя метод противоточной диффузии, в полученных крейзованных пористых матрицах была проведена реакция между 0.5 М водными растворами  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  и  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  в течение суток.

Установлено, что проведение реакции обмена при рН~5 в порах полимерной матрицы основным продуктом является двуводный гидрофосфат кальция  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (ДКФД), фаза которого локализуется в крейзах, не затрагивая блочные области (рис. 2, 3). Содержание наполнителя составило 29 мас.% в расчете на сухой остаток после выжигания полимерной матрицы при 1000 °С (в данных условиях

происходило образование пирофосфата кальция ( $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ).

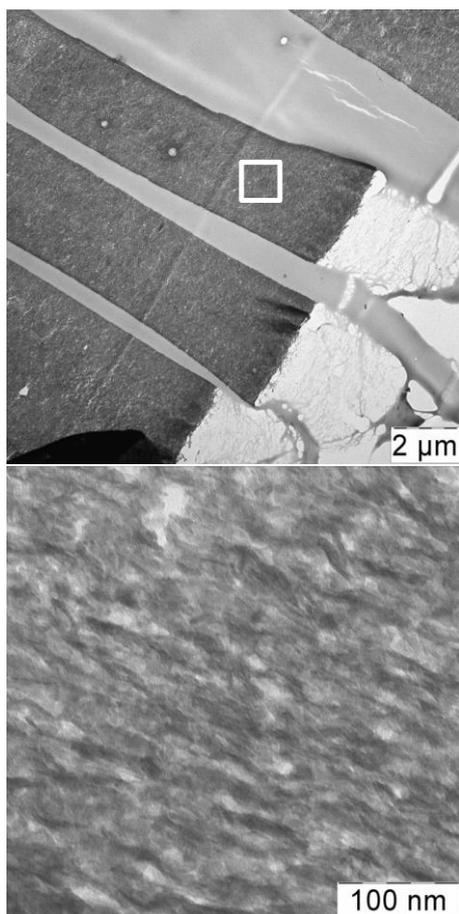


Рис. 2. ПЭМ-микротографии пленки ПЛ, содержащей фазу ДКФД.

Приведенные изображения позволяют сделать вывод о характере распределения фазы фосфата кальция в полимерной матрице. Необходимо отметить неравномерное распределение образующегося неорганического компонента по длине крейза – слой наполнителя сдвинут к одной из поверхностей композита (рис. 3). Возможно, это связано с различием коэффициентов диффузии ионов кальция и гидрофосфата в объем пор полимерной матрицы к реакционному фронту.

Диаметр образующихся в порах ПЛ кристаллитов фосфата кальция значительно меньше, чем в водных растворах, и составляет порядка 30 нм. Наряду с фазой ДКФД, в полимерной матрице происходит образование фазы гидроксиапатита или предшествующей ей фазы аморфного фосфата кальция.

Проведение реакции обмена в матрице ПЛ при  $\text{pH}=7-9.5$  приводит к быстрой (за сутки) деструкции полимера и разрушению композита.

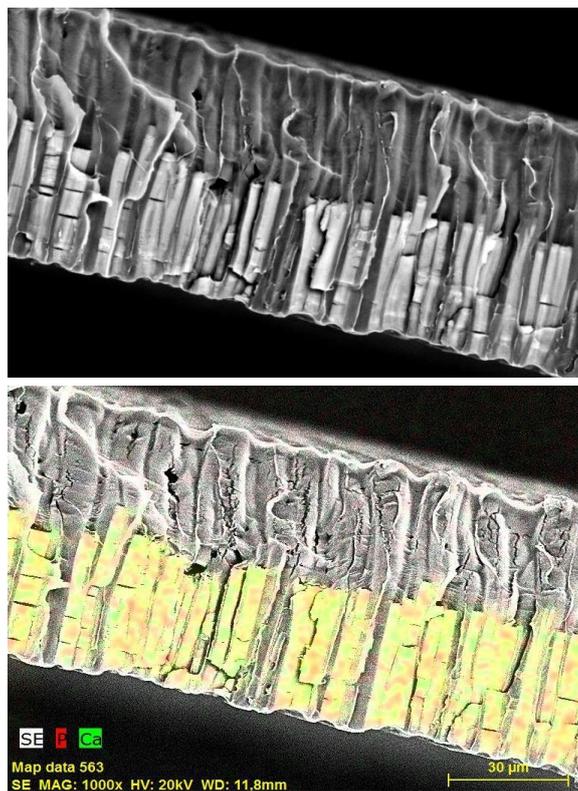


Рис. 3. СЭМ-микротография и карта распределения атомов Ca и P в композите на основе ПЛ и ДКФД.

Таким образом, в данной работе был предложен подход к получению нанокмпозиционного материала на основе биоразлагаемой матрицы полилактида и неорганической фазы – ДКФД, являющегося биоактивным прекурсором в процессах формирования биологического апатита в организме. Ранее [4] было показано, что композиты на основе ПЛ и фазы гидроксиапатита, полученные описанной в данной работе методикой, являются биоактивными, в частности, они показали остеокондуктивные свойства по отношению к остеобластам МС3Т3Е1.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, номер проекта 16-03-00504.

#### Список литературы:

1. Okamoto M., John B., Progress in Polymer Science, 38, 1487-1503 (2013).
2. Dorozhkin S.V., Epple M., Angew. Chem. Int. Ed., 41, 3130-3146 (2002).
3. Трофимчук Е.С., Мальцев Д.К., Седуш Н.Г., др., ДАН. Физика, 459, 689-692 (2014).
4. Fadeeva I., Trofimchuk E., Giretova M., et al., Biomedical Physics & Engineering Express, 1, 045011 (2015).

## БИОНАНОСКОПИЯ В ЦЕНТРЕ МОЛОДЕЖНОГО ИННОВАЦИОННОГО ТВОРЧЕСТВА «НАНОТЕХНОЛОГИИ»

А.И. Ахметова, А.О.Дудник, Г.Б. Мешков, О.В. Сеницына, И.В. Яминский  
МГУ имени М.В.Ломоносова, Центр перспективных технологий  
yaminsky@nanoscopy.net

Наблюдение биологических объектов с помощью зондового микроскопа ФемтоСкан является одним из увлекательных направлений обучения в Центре молодежного инновационного творчества «Нанотехнологии» (ЦМИТ), организованном в содружестве между МГУ имени М.В.Ломоносова и Центром перспективных технологий. Подробная информация о тематиках ЦМИТа представлена на [www.startinnovation.com](http://www.startinnovation.com).

Вирус табачной мозаики по данным просвечивающей электронной микроскопии представляет собой жесткую наночастицу длиной 300 нм и диаметром 18 нм. При наблюдении вируса в сканирующем зондовом микроскопе на подложке из графита или слюды наблюдаемая высота около 17 нм (Рис. 1). Постоянство диаметра вируса позволило применить его в нанотехнологии в качестве стандартного образца, для задания высоты при измерениях в атомно-силовой микроскопии.

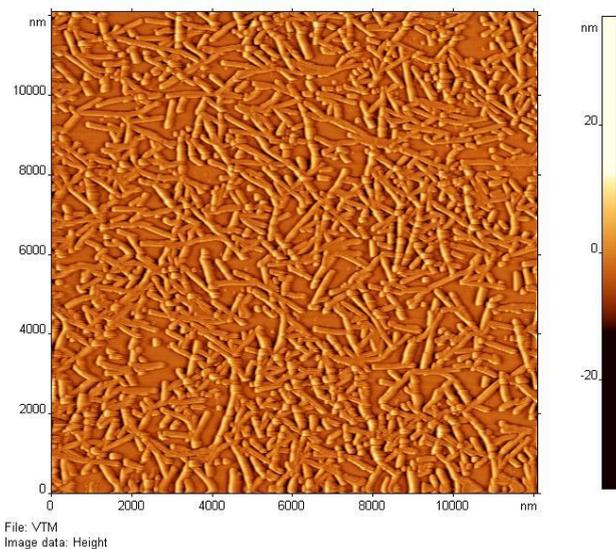


Рис.1. Изображение вирусов табачной мозаики, представленное в шаблоне для оформления тезисов участниками конференции «Бионаноскопия», получено на микроскопе ФемтоСкан, ПО «ФемтоСкан Онлайн».

Занятия в ЦМИТе ориентированы на приобретение школьниками практических навыков. Помимо измерений на сканирующем зондовом микроскопе школьникам предлагается самостоятельно сконструировать модель механической системы зондового микроско-

па. За базовый вариант выбирается механика микроскопа ФемтоСкан, в котором наивысшие параметры пространственного разрешения, стабильности работы, помехозащищенности, низкого температурного дрейфа достигаются при использовании простого оригинального решения многих механических узлов микроскопа. Разработка механической части микроскопа проводится в системе компьютерного моделирования SolidWorks. Школьники одновременно учатся как работать в SolidWorks, так и создавать оригинальную механику – одну из ключевых частей зондового микроскопа. Продолжить обучение можно в творческой мастерской «Собираем сканирующий зондовый микроскоп своими руками». В течение годового курса школьники могут не только собрать ключевые детали и узлы микроскопа, но и придумать новые оригинальные решения. Детали можно изготовить на миниатюрном фрезерно-гравировальном станке с ЧПУ АТС-400 или напечатать на 3D принтере.

ЦМИТ «Нанотехнологии» успешно функционирует с 2014 года на физическом факультете МГУ (руководитель – профессор Федосеев А.И.) [1], химическом факультете МГУ [2] и в НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского.

Мы приглашаем в ЦМИТ «Нанотехнологии» как преподавателей для творческой работы с молодежью, так и школьников, студентов и аспирантов для работы в области бионаноскопии, разработки биосенсоров и биомедицинских сканирующих зондовых микроскопов.

Наша искренняя благодарность Правительству Москвы, Министерству образования и науки (проект 02.G25.31.0135), Фонду содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (проект 16315) за эффективную поддержку.

Список литературы:

1. Федосеев А.И., Яминский И.В., Наноиндустрия, 8(54), 32-41 (2014).
2. Ахметова А.И., Штепа В.И., Яминский Д.И., Яминский И.В., Наноиндустрия, 2(64), 92-94 (2016).

## МЕТРОЛОГИЯ В БИОНАНОСКОПИИ

Г.Б. Мешков, О.В. Сеницына, И.В. Яминский  
МГУ имени М.В.Ломоносова, Центр перспективных технологий  
yaminsky@nanoscopy.net

В 2012 году при поддержке Метрологического центра РОСНАНО нами разработан эталон высоты для сканирующей зондовой микроскопии на основе вируса табачной мозаики, расположенного на поверхности высокоориентированного пиролитического графита [1]. Вирус табачной мозаики служит эталоном в 17 нм. Эта величина чуть меньше, чем известное значение диаметра вируса в 18 нм, полученное по данным просвечивающей электронной микроскопии. Разница в наблюдаемых значениях может быть обусловлена двумя факторами. Во-первых, при адсорбции вируса на графите может происходить уплотнение частицы, что приводит к уменьшению наблюдаемой в атомно-силовой микроскоп её высоты. Во-вторых, в просвечивающем электронном микроскопе происходит наблюдение поперечного размера вируса (диаметра), увеличение размера которого может быть также вызвано адгезионными (поверхностными) силами со стороны подложки.

Размер в биологии имеет ключевое значение. Так, например, биоспецифическое взаимодействие обусловлено в существенной степени геометрией контакта между антигеном и антителом. Вместе с тем, следует, что метрология нанометрового масштаба разработана очень слабо. Применяемые статические решетки из кремния и других материалов подвержены деградации, загрязнению поверхности, износу. Кроме того, такие решетки достаточно дороги, и, что очень существенно, не позволяют калибровать зондовый микроскоп непосредственно в процессе измерения, например, биологических объектов.

Нами было предложено простое, но вместе с тем очень эффективное решение измерительной меры – эталона нанометра. К безусловным достоинствам такой меры относится удобная шкала – ровно один нанометр. Привязка измерительной меры нанометр к эталону метра осуществляется с помощью интерферометра. Измерительная мера нанометр защищена патентом, который передан в общенародное безвозмездное пользование [2-4].

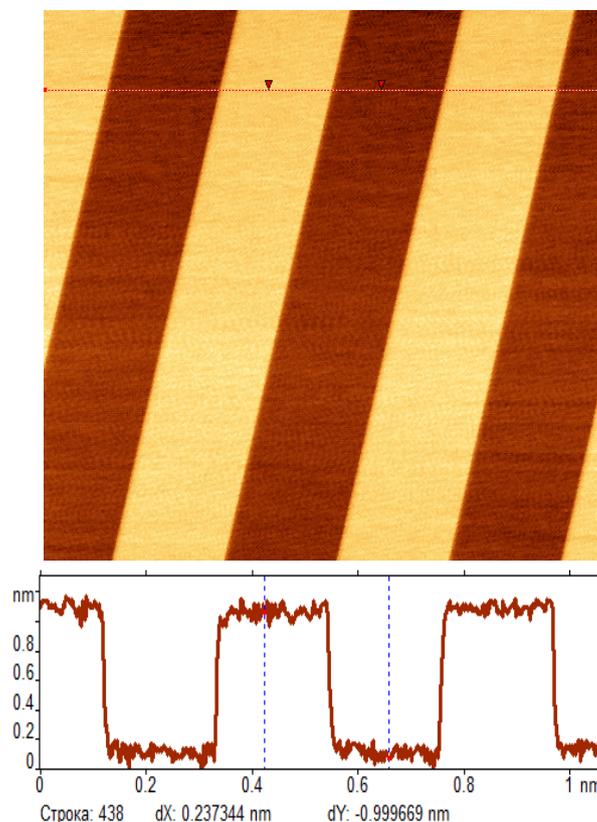


Рис. 1. Перепад высот, обусловленный эталоном нанометра, составляет величину в 1 нанометр. Топографическое изображение – сверху, поперечное сечение – внизу рисунка.

Измерительная мера (эталон) нанометра изготавливается из пьезокерамической пластинки толщиной 0,5-2 мм. На торцах пластинки формируются электроды. При приложении напряжения  $U$  к электродам за счет обратного пьезоэффекта происходит изменение толщины пластинки на величину:

$$Z = d_{33} U,$$

где  $d_{33}$  - пьезоэлектрический модуль. Такой эталон легко обеспечивает точность на уровне 0,001 нм ( $d_{33}$  – около  $2 \times 10^{-10}$  м/В,  $U$  – около 5 В).

Для использования в микроскопии данный эталон помещается в металлическом корпусе (см. рис. 2) таким образом, что при перемещении эталона на соответствующую величину перемещается верхняя крышка корпуса.



Рис. 2. Эталон нанометра в металлическом корпусе для использования в сканирующем зондовом микроскопе. Общий вид.

Калибровку микроскопа можно проводить и при включенном режиме сканирования. В этом случае на наблюдаемый прямоугольный перепад высот будет накладываться реальный рельеф образца. Во многих случаях регулярный прямоугольный рельеф можно легко отличить от реального рельефа образца.

Эталон нанометра не сложно изготовить своими силами в лаборатории зондовой микроскопии. Для этого потребуются пластинка пьезокерамики, которую можно приобрести за 10-100 руб., и генератор прямоугольного напряжения с частотой в единицы Гц и амплитудой около 5 В.

Представленная на Рис.2 мера измерительная динамическая нанометр (эталон нанометра) создана для выполнения калибровки вертикальной шкалы Z (по вертикали) сканирующего атомно-силового микроскопа.

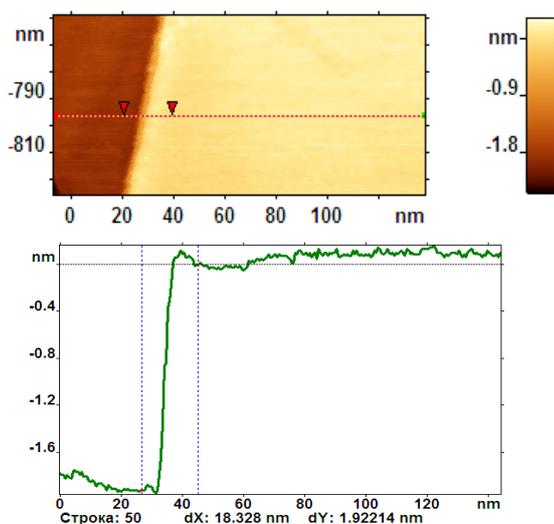


Рис.3. Изображение ступеньки на поверхности высокоориентированного пиролитического графита и соответствующего профиля сечения поверхности.

Для калибровки горизонтальной шкалы микроскопа предложены меры измерительные латеральные, которые обеспечивают перемещение образца по координатам X и Y. Для того, чтобы заметить перемещение образца по горизонтали идеально ровный образец не подходит. Для этого случая мы предлагаем использовать поверхность высокоориентированного пиролитического графита. Перемещение образца в нанометровом диапазоне можно наблюдать по сдвигу ступени на графите (Рис.3). Это решение защищено двумя патентами с одноименным названием [6,7].

Аккуратная калибровка сканирующих зондовых микроскопов бывает востребована при наблюдении объектов в диапазоне 10-100 нм. К этому диапазону относятся многие вирусы растений, животных и человека. Так типичный размер вируса гриппа А, получаемый при наблюдении в атомно-силовой микроскоп – около 100 нм.

Наша искренняя благодарность Министерству образования и науки за финансовую поддержку МГУ имени М.В.Ломоносова (проект 02.G25.31.0135), Фонду содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (проект 16315), АО «РОСНАНО» за эффективную поддержку.

#### Список литературы:

1. Государственный стандартный образец № ГСО 10299-2013 «СО диаметра вируса табачной мозаики на подложке из высокоориентированного пиролитического графита (ГСО ВТМ-ВОПГ-ЦПТ)» Свидетельство № 3366.
2. И.В. Яминский, Квант, 4, 4-6 (2009).
3. Г. Мешков, О. Сеницына, Д. Яминский, И. Яминский, Наноиндустрия, 6(36), 40-43 (2012).
4. С.Голубев, В.Захарьин, Г.Мешков, Ю.Токунов, Д.Яминский, И.Яминский, Наноиндустрия, 8(38), 42-46 (2012).
5. Д.И. Яминский, И.В. Яминский. Калибровочный эталон для профилометров и сканирующих зондовых микроскопов. Патент на изобретение № 2386989.
6. Мешков Г.Б., Яминский Д.И., Яминский И.В. Калибровочный эталон для профилометров и сканирующих зондовых микроскопов. Патент на изобретение № 2538029.
7. Мешков Г.Б., Яминский Д.И., Яминский И.В., Оленин А.В. Калибровочный эталон для профилометров и сканирующих зондовых микроскопов. Патент на изобретение № 2538024

# ДЕФОРМАЦИЯ КРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ПОЛИОЛЕФИНОВ В ЖИДКОЙ СРЕДЕ ПО МЕХАНИЗМУ КРЕЙЗИНГА

Ярышева А.Ю.\*, Багров Д.В.\*\*, Ярышева Л.М.\*

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

Химический\* и Биологический\*\* факультеты

alyonusha@gmail.com

Деформирование аморфных стеклообразных и кристаллических полимеров в адсорбционно-активных жидких средах (ААС) происходит по механизму крейзинга с образованием фибриллярно-пористой структуры наноразмерного уровня. Крейзинг позволяет создавать пористые материалы и нанокомпозиты на их основе путем вытяжки полимерных пленок. В связи с этим возникает необходимость изучения структуры полимера *in situ* в процессе деформирования. Для исследования структуры кристаллических полимеров (ПЭВП, ПП), деформированных в ААС, был использован метод атомно-силовой микроскопии (АСМ), позволяющий наблюдать за структурой полимера без удаления жидкой среды в условиях, предотвращающих усадку.

Исследуемые исходные пленки ПЭВП обладали роу-структурой со стопками ламелей, расположенными преимущественно перпендикулярно оси экструзии, пленки ПП имели изотропную сферолитную структуру. Полученные АСМ изображения позволили установить, что для ПЭВП и ПП деформация в ААС сопровождается образованием пористой структуры, при этом размеры пор увеличиваются с увеличением степени вытяжки.

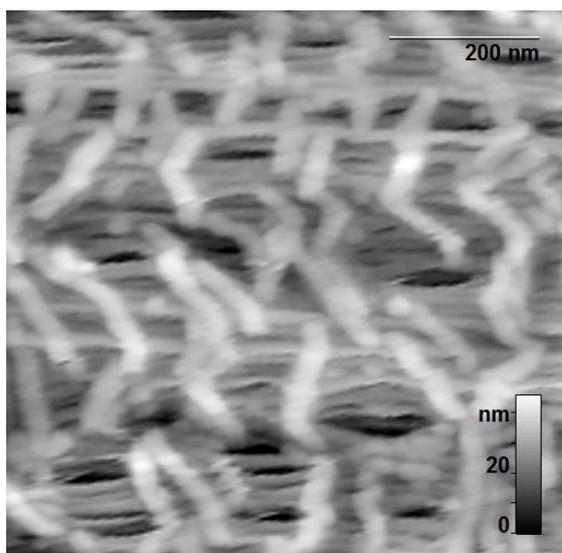


Рис. 1. ПЭВП, деформированный на 75 % в ААС, ось вытяжки горизонтальна.

С увеличением степени вытяжки наблюдается также изгиб, раздвижение, фрагментация ламелей на блоки, сдвиг фрагментов ламелей относительно друг друга.

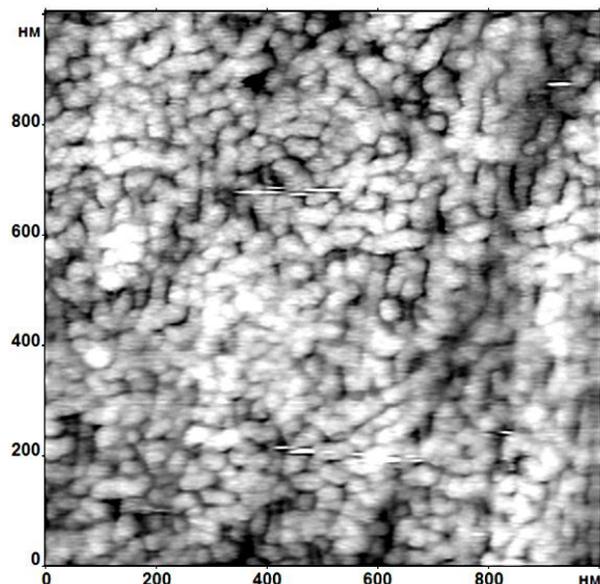


Рис. 2. ПП, деформированный на 200 % в ААС, ось вытяжки вертикальна.

Для анализа наблюдаемых структурных перестроек были построены распределения, характеризующие изменение большого периода и расстояний между фибриллами при увеличении степени вытяжки. Показано, что изменение большого периода прямо пропорционально степени вытяжки полимера, что свидетельствует о значительном вкладе раздвижения ламелей при деформировании кристаллических полимеров в жидкой среде. Таким образом, этот вид крейзинга можно назвать межкристаллитным или межламеллярным.

Полученные данные позволили развить представления о деформации полимеров по механизму крейзинга и определить различия между крейзингом кристаллических и аморфных стеклообразных полимеров. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований №15-03-03430а.

**УЧАСТНИКИ КОНФЕРЕНЦИИ  
«СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ БИОНАНОСКОПИИ»**

**Арзуманян Ирина Сергеевна**  
*МГУ имени М.В.Ломоносова*  
[i.arzumanyan@festivalnauki.ru](mailto:i.arzumanyan@festivalnauki.ru)

**Ахметова Ассель Иосифовна**  
*Центр перспективных технологий*  
[assel1505@yandex.ru](mailto:assel1505@yandex.ru)

**Белкова Галина Викторовна**  
*Институт химической физики  
им. Н.Н.Семенова Российской академии  
наук*  
[galinabelkova@mail.ru](mailto:galinabelkova@mail.ru)

**Дубровин Евгений  
Владимирович**  
*Физический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова*  
[dubrovin@polly.phys.msu.ru](mailto:dubrovin@polly.phys.msu.ru)

**Дудник Анна Олеговна**  
*Физический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова*  
[dudnik@physics.msu.ru](mailto:dudnik@physics.msu.ru)

**Казанцев Дмитрий Всеволодович**  
*Институт теоретической и  
экспериментальной физики им.  
А.И.Алиханова*  
[kaza@itep.ru](mailto:kaza@itep.ru)

**Капытов Дмитрий Васильевич**  
*Физический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова*  
[dv.kapytov@physics.msu.ru](mailto:dv.kapytov@physics.msu.ru)

**Корнеев Денис Владимирович**  
*ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"*  
[korneev\\_dv@vector.nsc.ru](mailto:korneev_dv@vector.nsc.ru)

**Кузьмина Наталья Викторовна**  
*Физический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова*  
[kuzmina-natasha@inbox.ru](mailto:kuzmina-natasha@inbox.ru)

**Мешков Георгий Борисович**  
*Физический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова*  
[meshkov@nanoscopy.ru](mailto:meshkov@nanoscopy.ru)

**Никонорова Нина Ивановна**  
*Химический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова*  
[nni@genebee.msu.ru](mailto:nni@genebee.msu.ru)

**Плескова Светлана Николаевна**  
*Нижегородский государственный  
университет им. Н.П. Лобачевского*  
[pleskova@mail.ru](mailto:pleskova@mail.ru)

**Protopopova Anna Dmitrievna**  
*University of Pennsylvania, Philadelphia,  
Department of Cell and Developmental  
Biology*  
[ann.protopopova@gmail.com](mailto:ann.protopopova@gmail.com)

**Рухля Екатерина Геннадьевна**  
*Химический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова*  
[katrin310@yandex.ru](mailto:katrin310@yandex.ru)

**Сагитова Алсу Вакифовна**  
*Физический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова*  
[sagitova@polly.phys.msu.ru](mailto:sagitova@polly.phys.msu.ru)

**Синицына Ольга Валентиновна**  
*Химический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова*  
[sinitsyna@gmail.com](mailto:sinitsyna@gmail.com)

**Сосновский Илья Владимирович**

*Московский Педагогический  
Государственный Университет  
[sosnovskii777@gmail.com](mailto:sosnovskii777@gmail.com)*

**Трофимчук Елена Сергеевна**

*Химический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова  
[elena\\_trofimchuk@mail.ru](mailto:elena_trofimchuk@mail.ru)*

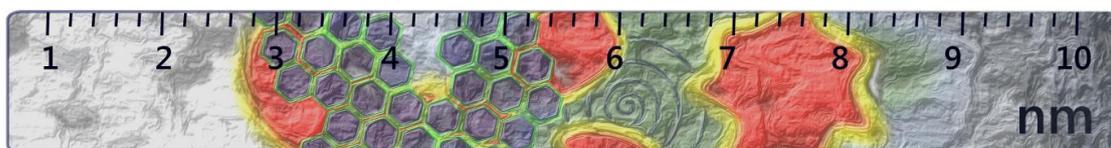
**Яминский Игорь Владимирович**

*Физический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова  
[yaminsky@nanoscopy.ru](mailto:yaminsky@nanoscopy.ru)*

**Ярышева Алена Юрьевна**

*Химический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова  
[alyonusha@gmail.com](mailto:alyonusha@gmail.com)*

# Современные достижения бионаноскопии



Сборник тезисов восьмой международной конференции  
"Современные достижения бионаноскопии". 15–17 июня 2016  
года, Москва, физический факультет МГУ имени  
М.В.Ломоносова — 32 с.

Спонсор:  
ООО НПП «Центр перспективных технологий»

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