современные достижения БИОНАНОСКОПИИ 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 nm nm

ПЕРВАЯ ВСЕРОССИЙСКАЯ ШКОЛА-СЕМИНАР

«СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ БИОНАНОСКОПИИ»

11-17 июня, Москва, Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

Школа посвящена современным методам микроскопии высокого разрешения, достижениям сканирующей зондовой микроскопии и сопутствующим физико-химическим методам исследования биологических объектов.

В программу школы входят лекции по бионаноскопии, практические занятия по атомно-силовой микроскопии и сессия стендовых докладов.

Цель школы — повышение уровня подготовки научно-педагогических кадров, привлечение молодых исследователей к участию в научной работе по перспективным направлениям современной микроскопии и биотехнологии, повышение уровня кооперации молодых ученых.

Организационный комитет:

- 1. И.В. Яминский председатель,
- 2. Д.В. Багров,
- 3. П.В. Горелкин,
- 4. Е.В. Дубровин,
- 5. Д.В. Колесов,
- 6. Г.А. Киселев,
- 7. Е.А. Меньшиков,
- 8. Г.Б. Мешков,
- 9. Е.А. Образцова,
- 10.А.Д. Сушко,
- 11.О.В. Синицына,
- 12.Н.В. Темкина.

Программный комитет школы:

- 1. В.И. Панов, д.ф.-м.н., профессор, физический факультет МГУ председатель,
- 2. А.В. Большакова, к.ф.-м.н., химический факультет МГУ,
- 3. Е.В. Дубровин, к.ф.-м.н., физический факультет МГУ,
- 4. Ю.Ф. Дрыгин, д.х.н., профессор, НИИФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ,
- 5. Д.В. Клинов, к.ф.-м.н., ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
- 6. И.В. Яминский, д.ф.-м.н., профессор, физический факультет МГУ.

Ученый секретарь школы:

Е.В. Дубровин, к.ф.-м.н., физический факультет МГУ.



ПРОГРАММА ПЕРВОЙ ВСЕРОССИЙСКОЙ ШКОЛЫ-СЕМИНАРА

«СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ БИОНАНОСКОПИИ»

1-й день (понедельник, 11 июня 2007 года)

17.00 – 19.00 Регистрация участников.

2-й день (вторник, 12 июня 2007 года)

 $10.00 - 11.00 \,\Gamma$.Б. Мешков: «Сканирующая резистивная микроскопия»

11.00 — 11.45 Л.В. Кухаренко «Визуализация процессов адгезии и агрегации тромбоцитов методами АСМ»

12.05-13.00 Г.А. Киселев: «Микромеханические биосенсоры на основе атомно-силовой микроскопии»

14.30 – 15.50 О.В. Синицына: «Сканирующая туннельная микроскопия»

16.00 – 17.20 А.С. Филонов: «Обработка изображений в зондовой микроскопии»

3-й день (среда, 13 июня 2007 года)

10.00 – 11.20 И.В. Яминский: «Новые возможности зондовой микроскопии»

11.40 – 12.40 Д.В. Клинов; «Зондовая микроскопия ДНК и ДНК-белковых комплексов»

12.40 – 13.00 Joan Horwitz: «Agilent and worldwide marketing of AFM to researchers»

14.30 – 15.40 А.В. Большакова: «Сканирующая зондовая микроскопия бактериальных клеток»

15.50 – 16.20 Т.Г. Кузнецова «АСМ-эластография клеток»

16.20 — 17.20 Е.В. Дубровин «Использование атомно-силовой микроскопии для исследования вирусов»

4-й день (четверг, 14 июня 2007 года)

10.00 — 11.20 В.И. Панов, А.А. Ежов: «Локализованные состояния и эффекты локализации электромагнитного поля в сканирующей зондовой микроскопии»

11.40 – 13.00 Постерная сессия

 $14.30-17.20\,$ А.В. Большакова, Е.В. Дубровин, Д.В. Багров, Г.Б. Мешков «Исследование биологических объектов с помощью АСМ», практическое занятие.ё

5-й день (пятница, 15 июня 2007 года)

10.00 — 11.20 П.К. Кашкаров, В.Ю. Тимошенко: «Полупроводниковые нанокристаллы как доноры энергии для биомедицинских применений»

11.40 – 13.00 А.Р. Хохлов, М.О. Галлямов: «Физические подходы к исследованию полимеров»

14.30 – 15.50 И.Г. Атабеков, О.В. Карпова: «Вирусы растений и субвирусные инфекционные агенты»

16.00 – 17.20 «Перспективы развития био-СЗМ» Круглый стол. Предсеатель – И.В. Яминский

6-й день (суббота, 16 июня 2007 года)

10.00 — 13.00 А.В. Большакова, Е.В. Дубровин, Д.В. Багров, Г.Б. Мешков: «Исследование биологических объектов с помощью АСМ», практическое занятие.

14.30 — 17.20 А.В. Большакова, Е.В. Дубровин, Д.В. Багров, Г.Б. Мешков: «Исследование биологических объектов с помощью АСМ», практическое занятие.

7-й день (воскресенье, 17 июня 2007 года)

Отъезд участников.

СОДЕРЖАНИЕ

СКАНИРУЮЩАЯ ЗОНДОВАЯ МИКРОСКОПИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК7 А.В. Большакова
ФИЗИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЮ ПОЛИМЕРОВ
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВИРУСОВ9
Е.В. Дубровин, Ю.Ф. Дрыгин, В.К. Новиков, И.В. Яминский
ВИРУСЫ РАСТЕНИЙ И СУБВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИОННЫЕ АГЕНТЫ10 О.В. Карпова, И.Г. Атабеков
МИКРОМЕХАНИЧЕСКИЕ БИОСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ
ЗОНДОВАЯ МИКРОСКОПИЯ ДНК И ДНК-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ12 Д.В. Клинов
ПОЛУПРОВОДНИКОВЫЕ НАНОКРИСТАЛЛЫ КАК ДОНОРЫ ЭНЕРГИИ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ
СКАНИРУЮЩАЯ РЕЗИСТИВНАЯ МИКРОСКОПИЯ
ЛОКАЛИЗОВАННЫЕ СОСТОЯНИЯ И ЭФФЕКТЫ ЛОКАЛИЗАЦИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ В СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ. 15 В.И. Панов, А.А. Ежов
СКАНИРУЮЩАЯ ТУННЕЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ
ОБРАБОТКА ИЗОБРАЖЕНИЙ В ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ
НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ
ИССЛЕДОВАНИЕ АДГЕЗИИ В ПОЛУКОНТАКТНОМ РЕЖИМЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ
ЗАКОНОМЕРНОСТИ РОСТА КРИСТАЛЛОВ ПОВАРЕННОЙ СОЛИ НА ПОВЕРХНОСТИ СЛЮДЫ
ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ АЛМАЗА ДЛЯ БИОСЕНСОРНЫХ ПРИМЕНЕНИЙ

НОВЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МОРФОЛОГИИ НАНОСЛОЕВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ДНК-БИОСЕНСОРОВ	22
Д.З. Галимуллин, М.Э. Сибгатуллин, О.А. Коновалова, М.Х. Салахов	22
АНАЛИЗ ПОРОВОГО СОСТАВА ГРАНУЛ ИОНООБМЕННИКА МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ	23
ТРЕХМЕРНЫЙ ЦВЕТНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ МИКРОСКОП С РАЗРЕШЕНИЕМ ЛУЧШЕ 20 НМ ДЛЯ ОБЪЕКТОВ В ТВЕРДЫХ И ВЛАЖНЫХ СРЕДАХА.А. Климов, Д.А. Климов	
ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО ЭЛЕКТРОНОННОГО ПУЧКА РЕЛАКСОР ЦТСЛ 8/65/35 С ПОМОЩЬЮ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ В.В. Ефимов, Ю.С. Ковалёв, Б.Н. Маврин, В.В. Сиколенко, С.И. Тютюнников, А.Р. Штернберг	
КАНТИЛЕВЕРЫ ДЛЯ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИД.В. Колесов	26
ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ ПО БИОНАНОСКОПИИ	27
ИССЛЕДОВАНИЕ СЕНСОРНЫХ ПЛЕНОК МЕТОДОМ АСМО.А. Коновалова, Д.И. Нурмухаметова, М.В. Матвеева, М.Х. Салахов	28
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ НА БАКТЕРИИ С ПОМОЩЬЮ АСМ С.В. Краевский, А. Волошин, Е.В. Дубровин, С.Г. Игнатов, Т. Игнаток, И.В. Яминск	
ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ПРОЦЕССОВ АДГЕЗИИ И АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ МЕТОДАМИ АСМ	30
ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ АТОМНО СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ К ИЗУЧЕНИЮ КЛЕТОК ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСАМИ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА И НЕКОТОРЫМИ ДРУГИМИ	
ИЗМЕРЕНИЕ РАЗМЕРОВ ЧАСТИЦ В ЖИДКОЙ СРЕДЕ МЕТОДОМ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ. С.В. Литвинов	32
ИССЛЕДОВАНИЕ АВТОЭМИССИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КРЕМНИЕВЫХ КАНТИЛЕВЕРОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ПОКРЫТИЯМИ	33
ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ СКАНИРУЮЩИХ ЗОНДОВЫХ МИКРОСКОПОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ В.Е. Мезрин	35
МЕТОДИКА ИЗУЧЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ И БИОПОЛИМЕРОВ Е.А. Меньшиков, А.В. Большакова	36

ОБРАЗОВАНИЕ НИТЕВИДНЫХ СТРУКТУР ЖЕЛАТИНА НА СЛЮДЕ В ПРИСУТСТВИИ СОЛИ AgNO ₃
ИЗМЕРЕНИЕ ПЕРСИСТЕНТНЫХ ДЛИН МОЛЕКУЛ ДНК МЕТОДАМИ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ
ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ МИТОХОНДРИЙ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ НЕЙТРОНОВ
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДНК-ГИДРОЛИЗУЮЩИХ АНТИТЕЛ С НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ
ИССЛЕДОВАНИЕ САМООРГАНИЗАЦИИ НАНОРАЗМЕРНЫХ КРЕМНИЕВЫХ НАНОКРИСТАЛЛИТОВ В НЕУПОРЯДОЧЕННЫХ СТРУКТУРАХ С РАЗЛИЧНОЙ ЭНЕРГИЕЙ СВЯЗИ НА МЕЖФАЗНОЙ ГРАНИЦЕ, С ПОМОЩЬЮ АТМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ
ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИИ ПОВЕРХНОСТИ ТОНКИХ ПЛЕНОК Fe/SiO ₂ /Si(100) И Fe/Si(111) МЕТОДАМИ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ44 Ю.В. Никулин
ИССЛЕДОВАНИЕ ОДНО- И ДВУХСЛОЙНОГО ГРАФЕНА МЕТОДАМИ ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ И МИКРОСКОПИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ 46 Е.А. Образцова, Е.Д. Образцова, И.В. Яминский, С. Лефран, Г. Луарн
ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАКРОМОЛЕКУЛ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ47 М.Н. Савватеев
ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСА ГРИППА С АНАЛОГОМ КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРАБЕЛКОМ ФЕТУИНОМ С ПОМОЩЬЮ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ
А.С. Сальников, В.Н. Заицев, А.В. Тыжиков ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АНТИТЕЛ С ВИРУСАМИ РАСТЕНИЙ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРЫ
И.В. Сафенкова, А.В. Жердев, А.Н. Влинцов, С.Н. Чирков ДЕФЕКТЫ НА ПОВЕРХНОСТИ ГРАФИТА – ОСНОВНОЙ ПОДЛОЖКИ В БИОНАНОСКОПИИ
ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ФОТОЛИЗА ЗРИТЕЛЬНОГО ПИГМЕНТА РОДОПСИНА В ФЕМТОСЕКУНДНОМ ДИАПАЗОНЕ ВРЕМЕН ПРИ ВОЗБУЖДЕНИИ БЕЛКА ИМПУЛЬСАМИ 500 И 560 НМ 53 О.А. Смитиенко, И.В. Шелаев, Ф.Е. Гостев, Т.Б. Фельдман, В.А. Надточенко, О.М. Саркисов, акад. М.А. Островский

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМНО-СИЛОВОИ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУР ПОВЕРХНОСТНЫХ СЛОЕВ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА	. 54
ИЗМЕРЕНИЕ ПЕРСИСТЕНТНОЙ ДЛИНЫ ДНК ПО АСМ–ИЗОБРАЖЕНИЯМ Е.В. Дубровин, А.Д. Сушко, А.С. Филонов	. 55
СИЛОВАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ МАКРОМОЛЕКУЛ Н.В. Темкина, А.С. Филонов, И.В. Яминский	. 56
СКАНИРУЮЩАЯ ТУННЕЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ УГЛЕРОДНЫХ НАНОКЛАСТЕРНЫХ ПЛЕНОК И.Г. Торгашов	. 57
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПІ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ М.В. Трушин, В.М. Чернов, О.А. Чернова	ИИ . 58
АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ, ПОЗВОЛЯЮЩИЙ ВИЗУАЛИЗИРОВАТЬ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ДНК, ВОЗНИКАЮЩИЕ ВСЛЕДСТВИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ЧАСТОТЫ 4-100 кГц НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫОВ. Трушина	. 59
ИССЛЕДОВАНИЯ ПОВЕРХНОСТНОЙ МОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ МЕТОДАМ АСМ ПРИ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ	
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ИММОБИЛИЗАЦИИ МОЛЕКУЛ ДНК НА СЛЮДЕ С ПОМОЩЬЮ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ Т.И. Шарипов, Р.З. Бахтизин, Р.Р. Гарафутдинов	. 61
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЦИТОТОКСИНОВ ИЗ ЯДА КОБР И АЛЬФА- СПИРАЛЬНЫХАНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ НА ЦИТОСКЕЛЕТ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК Г.В. Шаронов, О.В. Воронцова, А.В. Феофанов, М.П. Кирпичников	. 63
АНАЛИЗ РАСТВОРИМОГО КОФЕ МЕТОДАМИ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ	. 64
ИСКАЖЕНИЯ ИЗОБРАЖЕНИЙ ПОВЕРХНОСТИ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ИХ ВЫЯВЛЕНИЯВ.Д.Кочаков, Н.Д.Новиков, Е.А.Ярусов, Д.В.Егоров	. 65
ЛИНЕЙНО-ЦЕПОЧЕЧНЫЙ УГЛЕРОДВ.Д. Кочаков, Н.Д. Новиков, Е.А. Ярусов, Д.В Егоров	. 66

СКАНИРУЮЩАЯ ЗОНДОВАЯ МИКРОСКОПИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

А.В. Большакова

Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова bolshakova@genebee.msu.ru

Сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) – быстроразвивающийся аналитический метод, который может быть применен для нужд медицины, биологии и косметологии. In vitro исследования бактериальных клеток данным методом можно проводить в самых различных условиях, в том числе в питательной среде или в буферном растворе. Полученные трехмерные изображения клеток и уникальные данные о физических свойствах оболочки, могут быть использованы для нужд бактериологии. Исследование реакции бактерий на различные вещества, непосредственно вводимые в жидкостную ячейку прибора, может быть использовано в клинической практике для ранней диагностики бактериальных инфекций и развития эффективной методики лечения заболеваний.

В докладе будут рассмотрены основные возможности метода сканирующей зондовой микроскопии применительно к исследованию бактериальных клеток, в том числе преимущества и недостатки по сравнению с другими микроскопическими методиками.

Также будут изложены особенности приготовления образцов для исследования клеток на воздухе и в жидкой среде. При изучении клеток в условиях, приближенных к нативным (в питательной среде), существует проблема закрепления клетки на поверхности подложки. Поэтому необходима дополнительная неразрушающая фиксация клетки к стандартной подложке (слюда, стекло) или применение новых материалов в качестве подложки (к примеру, миллипоровские фильтры), чтобы предотвратить смещение бактерии сканирующей иглой.

Будет рассказано о разнице в отображении (с помощью метода СЗМ) грамположительных и грамотрицательных бактерий в жидкой среде. Это различие связано, прежде всего, с наличием у грамотрицательных бактерий липополисахаридного слоя.

На примере генетически модифицированных штаммов бактерии $E.\ coli$ будет продемонстрирована простота и наглядность метода СЗМ для контроля полученных для нужд медицины живых векторных вакцин.

На примере почвенных бактерий Arthro-bacter будут показаны возможности метода СЗМ для определения физических параметров оболочки клетки. Изучение локальных физических свойств оболочек клеток можно проводить, используя такие методики СЗМ как режим модуляции силы или запись силовых кривых. Из данных силовых кривых определяют локальный модуль упругости оболочки и адгезию между зондом и поверхностью клетки. Теоретически, модифицировав зонд биоспецифическими реагентами, можно проводить исследования по идентификации того или иного штамма.

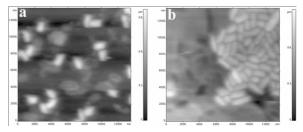


Рис. 1. Проращивание бактериальных спор бактерии *Bacillus sp*.:

- (a) споры, контрольное изображение, снятое на воздухе (t=0)
- (b) вегетативные клетки в питательной среде, (t=4ч 45 мин).

Будет рассказано об интересных экспериментах по исследованию бактериальных клеток в жидкой среде: проращивание вегетативных клеток из спор (рис.1), влияние лизоцима на бактерии и прочее.

- 1. Bolshakova A.V., Kiselyova O.I., Yaminsky I.V., Biotechnology progress, 20, 6, 1615-1622 (2004)
- 2. Bolshakova A.V. et al, Ultramicroscopy, 86 (1-2), 121-128 (2001)
- 3. A-Hassan, E. et al, Biophys. J., 74, 1564-1578 (1998)
- 4. Arnoldi, M. et al, Appl. Phys. A, 66, S613-S618 (1997)
- 5. Dufrene, Y. F. et al, J. Bacteriol., 181, 5350-5354 (1999).
- 6. Braga, P. C.; Ricci, D. Antimicrob. Agents Chemother., 42, 18-22 (1998)

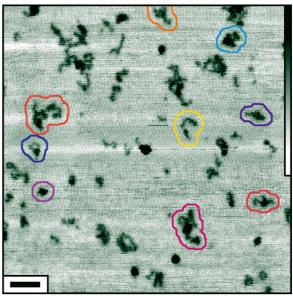
ФИЗИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЮ ПОЛИМЕРОВ

М.О. Галлямов, А.Р. Хохлов

Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова glm@spm.phys.msu.ru, khokhlov@polly.phys.msu.ru

Важным достоинством сканирующей силовой микроскопии (ССМ) применительно к исследованиям полимерных объектов является возможность прямой визуализации динамики отклика полимерной системы на внешнее воздействие в режиме реального времени. Причем таким внешним воздействием, вызывающим детектируемый отклик восприимчивой системы, может являться либо изменение температуры образца, либо смена его окружения (жидкого растворителя или паровой фазы), либо воздействие излучением. Это открывает перспективы исследования в реальном времени на уровне индивидуальных молекул таких процессов, как, например, взаимодействие и комплексообразование биополимеров с различными лигандами, самоорганизация органических структур, изменения морфологии тонких пленок (набухание, растекание / коллапс, плавление / кристаллизация и т.п.), индуцированные конформационные переходы отдельных полимерных цепей и т.п.

В качестве примера в докладе будут продемонстрированы наблюдения за поведением индивидуальных полимерных молекул, адсорбированных на подложке, при их экспозиции в парах различной природы [1]. Будет показано, что соадсорбция молекул из паровой фазы воздействует на конформацию адсорбированных полимерных цепей. Оказывается возможным, проводя экспозицию в парах, например, спиртов или иных амфифильных растворителей, переводить макромолекулы в компактное состояние. Напротив, экспозиция, например, в парах воды или иных веществ с высоким поверхностным натяжением, переводит амфифильные полимерные цепи на подложке в расправленное состояние, см. рис. 1. Наблюдаемые закономерности обсуждаются с позиции вариации коэффициента растекания адсорбированных полимерных объектов в присутствие соадсорбированных молекул паровой фазы [2]. Будет уделено внимание анализу влияния поверхностной анизотропии подложки на направленность индуцированных смещений макромолекул [3].



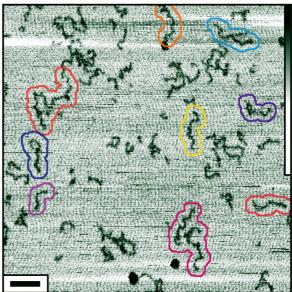


Рис.1 Индивидуальные макромолекулы поли-2-винилпиридина, изображение ССМ. Вверху: после осаждения из раствора в хлороформе на подложку из слюды. Внизу: после экспозиции в парах воды в течение 4 часов. Размер реперной черты 100 нм. Отдельные макромолекулы выделены цветом.

- 1. Gallyamov M.O. et al. // J. Polym. Sci. B: Polym. Phys., in press (2007).
- 2. Gallyamov M.O. et al. // Chem. Europ. J., v. 10, pp 4599-4605 (2004).
- 3. Gallyamov M.O. et al. // Phys. Chem. Chem. Phys., v. 9, pp. 346-352 (2007).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВИРУСОВ

Е.В. Дубровин¹, Ю.Ф. Дрыгин², В.К. Новиков³, И.В. Яминский¹

¹Физический факультет МГУ им М.В. Ломоносова

²НИИФХБ им. А.Н.Белозерского МГУ им М.В. Ломоносова

³Биологический факультет МГУ им М.В. Ломоносова

dubrovin@polly.phys.msu.ru

Использование атомно-силовой микроскопии (ACM) значительно расширило круг задач, решаемых в биологических и медицинских исследованиях. Наиболее важная особенность ACM — высокое разрешение на мягких и живых объектах — позволяет исследовать единичные вирусные частицы.

Атомно-силовая микроскопия открывает новые перспективы на пути создания новых методов экспресс-анализа. Одной из проблем при решении этой важной задачи является создание библиотеки АСМ-изображений вирусов. В качестве примера мы представляем здесь АСМ-изображения нескольких растительных вирусов (рис. 1): вируса табачной мозаики (TMV), бромовируса мозаики костра (BMV), полувалентного вируса мятлика (PSLV), вируса штриховатой мозаики ячменя (BSMV), вируса мозаики люцерны (AMV).

Различные формы и размеры вирусов позволяют отличать различные виды вирусов друг от друга на АСМ-изображениях. В качестве примера на рис. 2 приведено распределение длин вирусов ТМV и BSMV. Максимумы распределения приходятся на 300 нм для ТМV и на 135 для BSMV. Присутствие вирусных частиц, чья длина меньше наиболее вероятной, означает частичное разрушение вирусов, а наличие более длинных частиц говорит о возможности вирионов состыковываться «торец в торец».

Интересно, что, как правило, вирусы имеют фиксированные размеры, которые остаются неизменными для всех частиц (в отличие, например, от бактерий). В этой связи вирусы могут использоваться как биологические наношаблоны для калибровки [1]. Длина, высота и диаметр вирусных частиц могут служить их идентификационными параметрами.

Топографические черты являются главным, но не единственным критерием для идентификации вирусов с помощью АСМ. Их можно также различать по их специфическим свойствам, таким как сила и степень

адгезии на поверхность подложки, эластичные и вязкие свойства внешних поверхностей и взаимодействием вирусных частиц друг с другом.

Создание библиотеки АСМ-изображений вирусов совместно с исследованием их свойств на нанометровой шкале является важным шагом для их дальнейшей АСМ-идентификации.

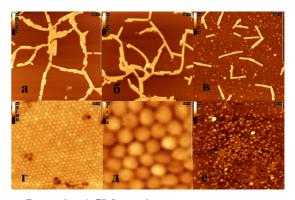


Рис. 1. АСМ-изображения: а — полувалентного вируса мятлика (PSLV), б — вируса штриховатой мозаики ячменя, в — вируса табачной мозаики (TMV), г-д — бромовируса мозаики костра (BMV), е — вируса мозаики люцерны (AMV).

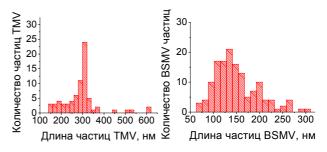


Рис. 2. Распределение по длинам вирусных частиц TMV и BSMV, построенное из ACM-изображений.

Список литературы:

1. Дубровин Е.В., Кирикова М.Н., Новиков В.К., Дрыгин Ю.Ф., Яминский И.В. Коллоидный журнал, 66 750-755 (2004).

ВИРУСЫ РАСТЕНИЙ И СУБВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИОННЫЕ АГЕНТЫ

О.В. Карпова, И.Г. Атабеков

Биологический факультет MГУ имени M.B. Ломоносова, кафедра вирусологии. okar@genebee.msu.su

Вирусы растений могут иметь в качестве генетической информации двуцепочечную РНК (вирус раневой опухоли), одноцепочечную ДНК (геминивирусы) и двуцепочечную ДНК (вирус мозаики цветной капусты), однако у большинства фитовирусов геном — это одноцепочечная РНК. По форме большинство частиц фитовирусов являются либо палочкообоазными (rod-shaped), либо икосаэдрическими.

Наиболее изученным и излюбленным объектом растительной вирусологии является вирус табачной мозаики (ВТМ), палочковидный вирус со спиральной симметрией (длина 300 нм, диаметр 18 нм). Геном ВТМ — это одноцепочечная +РНК, кодирующая четыре вирусспецифических белка, в том числе белок оболочки вируса.

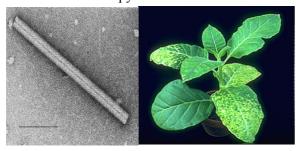


Рис. 1. Вирус табачной мозаики. Электронная микрофотография вирусной частицы и растение табака, зараженное BTM.

Многие растительные вирусы – ВТМ, Хвирус картофеля и некоторые другие, при заражении растения размножаются в больших количествах, а уровень продукции белка оболочки вирусов, например, у ВТМ достигает 70 % суммарного количества растворимых белков, продуцируемых инфицированной растительной клеткой. Если заменить ген структурного белка геном целевого белка, то при репликации такого вируса-вектора в растении будет продуцироваться целевой белок. Предлагаемый подход позволяет разработать новый метод суперпродукции в растениях рекомбинантных белков медицинского назначения. Уровень продукции целевого белка при использовании данной технологии может составлять более 1 г белка на 1 кг растительной биомассы

В настоящее время известно, что, по крайней мере, 15 заболеваний растений вызываются вироидами. Вироиды представляют собой маленькие (240-400 нуклеотидов) кольцевые РНК, с выраженной вторичной структурой, не кодирующие белки и реплицирующиеся самостоятельно. Первый вироид был открыт в 1971 году. Под электронным микроскопом вироиды выглядят как палочки, поскольку 70% нуклеотидной последовательности вовлечено в сложную вторичную структуру, которая устойчива к рибонуклеазам. К настоящему времени определена нуклеотидная последовательность 27 вироидов, которые разделены на два семейства. Наиболее известным и хорошо изученным является вироид веретеновидности клубней картофеля, относящийся к семейству Pospiviroidae. Выделены два вироида. не вызывающие четких симптомов (латентные формы). Возможно, вокруг нас существует множество еще неизвестных науке вироидов.

Сателлитные нуклеиновые кислоты (от 400 нт до 1500 нт) – субвирусные агенты, неспособные заражать хозяйские клетки без вируса-помощника. Нуклеотидная последовательность сателлитов (одноцепочечная линейная ДНК, двуцепочечная или одноцепочечная линейная РНК и кольцевая одноцепочечная РНК) значительно отличается от таковой вируса-помощника. Классические сателлиты являются конкурентами вирусапомощника и могут нивелировать проявление его симптомов путем конкуренции за РНК-полимеразу.

Сателлитные одноцепочеченые кольцевые рибонуклеиновые кислоты называют вирусоидами (вирусоид кратковременной штриховатости люцерны). Вирусоиды были открыты в Австралии в начале 80-х годов и большинство из них обнаружены в Океании, Канаде и Африке. Вирусоиды не нужны вирусу-помощнику, одеваются в его белок, передаются вегетативным путем, семенами или путем прямой инокуляции (насекомые, человек).

МИКРОМЕХАНИЧЕСКИЕ БИОСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Г.А. Киселев

Институт физической химии и электрохимии РАН, А.Н. Фрумкина OOO «Академия биосенсоров» kiselev@biosensoracademy.com

За последнее десятилетие произошел критический прорыв в разработке микромеханических сенсорных систем, обладающих рекордными показателями чувствительности по массе или количеству связавшегося вещества [1]. Данные системы используют принципиально новый метод преобразования биохимических реакций в аналитический сигнал через статические деформации, возникающие в результате тепловых, стерических электростатических, и множества других эффектов рецептного слоя сенсора.

Такими системами являются микрокантилеверы. Имея широкий спектр операционных режимов: статический, динамический, контроль добротности и амплитуды аналитического сигнала, кантилеверы служат полноценным дополнением их хорошо известных аналогов: электрохимических, оптических и акустических датчиков.

Появление кантилеверов во многом обусловлено интенсивным развитием атомносиловой микроскопии. Устройства с микромеханическими преобразователями зарекоменловали себя в качестве полноценного научного инструмента, применяемого в исследованиях межмолекулярных взаимодействий в монослойных пленках низкомолекулярных веществ, биополимерных объектов, а также в областях химии поверхностных реакций, биологии и медицине. Существенной особенностью кантилевера, не имеющей альтернативных аналогов, является способность прямого измерения натяжения в пленках, помещенных на одну из его сторон. Благодаря этому информация о состоянии исследуемых объектов, получаемая с помощью микромеханических систем, оказывается уникальной и, вообще говоря, отличается от той, которую дают распространенные методы анализа массы, а также оптических, и электрических свойств пленок. Уникальность информации состоит в том, что она непосредственно характеризует энергию межмолекулярных взаимодействий внутри пленки, преобразующуюся в статический изгиб кантилевера (энергию аналитического сигнала).

Комбинации различных схем регистрации аналитического сигнала в микроэлектромеханических системах (МЭМС) позволяют оптимизировать их для работы практически в любой среде; вакууме, газовых и жидких фазах вещества. Микроскопические размеры механических датчиков позволяют понизить предел их чувствительности до размеров отдельных бактерий и даже вирусных частиц, а также осуществлять измерение интенсивности экзотермических (эндотермических) поверхностных реакций с высоким разрешением. МЭМС, совмещенные с интегральными микросхемами в одном чипе по своим размерам не превосходят 1 мм, такие размеры сенсорных единиц позволяют интегрировать их в 1D и 2D массивы высокопроизводительных селективных датчиков (рис. 1),

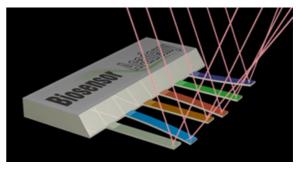


Рис.1 Линейный массив микрокантилеверных датчиков с лазерной системой контроля их наноперемещений [2]

функционирующих по принципу электронного носа, потребность в которых неуклонно возрастает.

Авторы статьи выражают благодарность Фонду содействия развитию малых предприятий в научно-технической сфере (проект №4994) за финансовую поддержку.

- 1. I. Yaminsky, P. Gorelkin, G. Kiselev. Japanese Journal of Applied Physics, 45, (3B), 2316 (2006).
- 2. http://www.biosensoracademy.com

ЗОНДОВАЯ МИКРОСКОПИЯ ДНК И ДНК-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ

Д.В. Клинов

Институт Биоорганической Химии им. Шемякина и Овчинникова РАН klinov@ibch.ru

Структурная организация ДНК имеет важнейшее значение для реализации генетической информации и регуляции основных клеточных процессов. Мощным инструментом в исследованиях ДНК, ДНК-белковых комплексов является сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ).

Уникальность СЗМ состоит в том, что она позволяет видеть индивидуальные молекулы ДНК и локализовать участки специфического связывания в составе протяженных молекул ДНК длиной до нескольких сотен тысяч пар оснований. Тем самым становится возможным получение уникальной информации о структуре ДНК в комплексе с белками или олигонуклеотидами (рис. 1).

Нами была разработана методологическая база для изучения структуры ДНК и комплексов ДНК с различными лигандами при помощи СЗМ. Одним из важнейших результатов наших исследований стала разработка высокоточного картирования молекул ДНК методами сканирующей зондовой микроскопии.

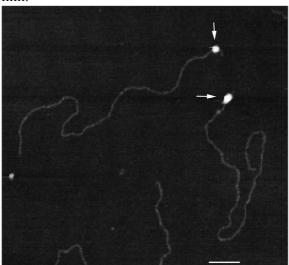


Рис. 1. СЗМ-изображение ДНК-белковых комплексов.

Недавно нами были изобретены сверхострые СЗМ-зонды (с радиусом острия 1 нм, рис. 2), позволяющие значительно повысить разрешение этого метода. Так, впервые, при исследовании одиночных молекул ДНК при помощи сверхострых СЗМ-зондов было получено разрешение периода двойной спирали

(рис. 3). В ближайшем будущем мы надеемся существенно повысить точность картирования ДНК с использованием таких зондов.

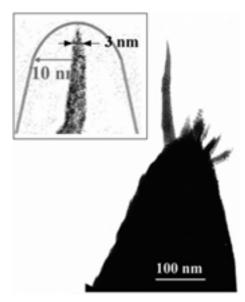


Рис. 2. ЭМ-изображение сверхострого зонда

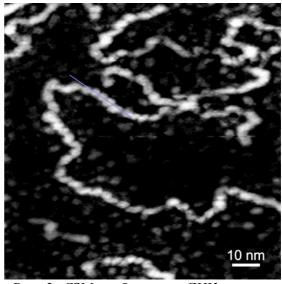


Рис. 3. СЗМ-изображение ДНК высокого разрешения (виден спиральный период ДНК)

- 1. D.V.Klinov, I.V.Lagutina, V.V.Prokhorov, T.Neretina, P.P.Khil, Y.B.Lebedev, D.I.Cherny, V.V.Demin and E.D.Sverdlov, Nucleic Acids Research, Vol.26, № 20, 4603-4610 (1998);
- 2. D. Klinov and S. Magonov, Applied physics letters, 84 (14), 2697-2699 (2004)

ПОЛУПРОВОДНИКОВЫЕ НАНОКРИСТАЛЛЫ КАК ДОНОРЫ ЭНЕРГИИ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

П. К. Кашкаров, В. Ю. Тимошенко

Физический факультет MГУ им. М.В. Ломоносова timoshen@phys.msu.ruy

Важнейшей тенденцией развития нанотехнологий является ориентация на решение социально значимых задач в сфере экологии и биомедицины. В этой связи актуальной является задача исследования нанокристаллов кремния (nc-Si) и полупроводниковых соединений, которые могут быть использованы в медицине и, в частности, при диагностике и лечении онкологических заболеваний. Особый интерес при этом представляет случай фотовозбуждения nc-Si в окружении молекул кислорода, в результате чего возможна эффективная фотосенсибилизация генерации активного (синглетного) кислорода. Эффект действия синглетного кислорода на биологические объекты заключается в его исключительно высокой окислительной способности, которая более чем в 1000 раз превосходит аналогичные значения для обычного (триплетного) кислорода. Это свойство используется в самых прогрессивных методах фотодинамической терапии опухолей [1].

С использованием методов электрохимического и химического травления монокристаллических пластин кремния и микрокристаллических кремниевых порошков были изготовлены порошки и водные суспензии, содержащие кремниевые nc-Si с характерными минимальными размерами 1-5 нм. Эксперименты показали, что фотовозбужденные nc-Si обладали свойством фотосенсибилизации процесса генерации синглетного кислорода. Спектры ФЛ водных суспензий nc-Si представлены на рис.1. Спектры представляли собой широкие полосы с максимумом в области 1.5-1.6 эВ, которые типичны для пс-Si с характерными средними размерами 2-4 нм [2]. Наблюдаемая ФЛ обычно связывается с излучательной рекомбинацией экситонов в nc-Si. После насыщения суспензий кислородом происходило гашение ФЛ, степень которого монотонно увеличивалась с ростом давления О2. Спектральная зависимость степени гашения ФЛ, определяемая как отношение интенсивности ФЛ суспензии без растворенного газа к аналогичному значению после ее насыщения О2, приведена на врезке рис.1. Видно, что максимум подавления ФЛ nc-Si располагается в области 1.6 эВ, что близко к энергии перехода $^3\Sigma \rightarrow ^1\Sigma$ в молекуле O_2 [1]. Анализ разности интегральных по спектру интенсивностей ФЛ пс-Si в суспензиях с растворенным кислородом и после его откачки свидетельствует о том, что на возбуждение молекул O_2 передается около 40% энергии экситонов. *In vitro* эксперименты на раковых клетках фибробластов мыши продемонстрировали значительное (до 80%) уменьшение их числа при контакте с фотовозбужденными nc-Si [3].

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования nc-Si в биомедицинских целях, в частности для фотодинамической терапии рака.

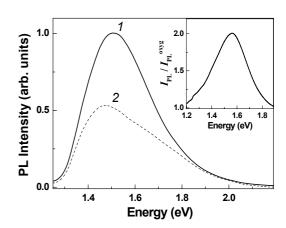


Рис. 1. Спектры ФЛ суспензий пс-Si в воде без растворенного кислорода (кривая 1) и после ее насыщения кислородом при давлении 760 Торр (кривая 2). Врезка показывает степень гашения ФЛ после насыщения суспензии кислородом.

- 1. Moser J.G. Photodinamic Tumor Therapy: 2nd and 3rd Generation. Harwood Academic Publ., Amsterdam (1998).
- 2. Kovalev D., Gross E., Künzner N., Koch F., Timoshenko V.Yu., Fujii M. Phys. Rev. Lett. 89, 137401 (2002).
- 3. Тимошенко В.Ю., Кудрявцев А.А., Осминкина Л.А., Воронцов А.С., Рябчиков Ю.В., Белогорохов И.А., Ковалев Д., Кашкаров П.К. Письма ЖЭТФ 83, 492 (2006).

СКАНИРУЮЩАЯ РЕЗИСТИВНАЯ МИКРОСКОПИЯ

Г.Б. Мешков, Е.А. Образцова, И.В. Яминский

Физический факультет MГУ им. М.В.Ломоносова meshkov@polly.phys.msu.ru

Исследование структуры биополимеров, таких как белковые молекулы, РНК и ДНК, является одной из основных задач молекулярной биологии и представляет интерес для различных прикладных задач. Иногда зондовая микроскопия является единственным методом изучения структуры объектов не разрушающим или модифицирующим исследуемый материал, например измерения на нанометровых масштабах при размерах частиц, не регистрируемых другими методами, к примеру, светорассеянием.

Изучение проводящих свойств белковых молекул и молекул ДНК открывает возможность их использования в качестве чувствительных элементов для различных сенсоров и датчиков. В связи с этим перспективным также является изучение люминесцентных свойств, а также изменение проводимости отдельных молекул биополимеров под действием внешнего излучения.

Для ДНК и РНК актуальной является задача быстрого секвенирования, наличие связи проводящих свойств со структурой молекулы позволила бы определять её код с помощью туннельной или резистивной микроскопии.

Все методы сканирующей зондовой микроскопии исследуют свойства объектов, находящихся на поверхности, поэтому важной частью образца является подложка, в некоторых случаях правильный выбор подложки оказывает решающее влияние на результат эксперимента. В частности, для исследования свойств отдельных молекул требуется атомно-гладкая подложка, а для измерения проводящих свойств она должна быть к тому же и равномерно проводящей, то есть собственные изменения проводимости по поверхности должны быть много меньше значений, соответствующих нанесенным образцам.

Основной подложкой для туннельной микроскопии и различных методик, изучающих проводящие свойства объектов, является графит. Он обладает рядом преимуществ: он является достаточно дешевым — на одном образце можно провести до нескольких сот измерений, на нем легко получить участки поверхности атомной гладкости размерами до 10х10 мкм².

Однако при использовании графита встречается ряд трудностей: гидрофобность поверхности мешает равномерному нанесению биополимеров, обычно адсорбируемых из водного раствора, присутствие собственного контраста проводимости, иногда перекрывающего вклад от нанесенных объектов.

Обычно нанесенные биополимеры обладают низкой проводимостью по сравнению с графитом, что требует приложения высоких напряжений для регистрации тока. При таких напряжениях может происходить модификация чистой поверхности графита рядом с нанесенными объектами, а иногда протекающего при таких условиях тока достаточно даже для разрушения зонда.

Ниже на рис. 1 приведено распределение проводимости в пленке RC-белка, нанесенного на поверхность графита. Огромная разница между проводящими свойствами белка и графита мешает детальному изучению особенностей проводимости белка.

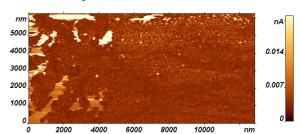


Рис. 1. Изображение поверхности пленки RC-белка, нанесенного на свежий скол поверхности графита. Приведено распределение тока, протекающего через пленку. Равномерно светлые области соответствуют поверхности графита, ток в этих местах превышал значения в 1 нА.

В докладе представлены различные особенности проводимости поверхности графита. Рассмотрен вопрос использования графита в качестве подложки для измерения проводящих свойств биополимеров, обсуждаются возможности графита как подложки для нанесения биополимеров из водных растворов. Приводятся экспериментальные данные о проводящих свойствах поверхностей различных полимерных, биополимерных и неорганических материалов.

ЛОКАЛИЗОВАННЫЕ СОСТОЯНИЯ И ЭФФЕКТЫ ЛОКАЛИЗАЦИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ В СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

В.И. Панов, А.А. Ежов

Физический факультет MГУ им. М.В. Ломоносова panov@spmlab.phys.msu.ru

В последние годы основное направление работ в сканирующей зондовой микроскопии перенесено в область изучения фундаментальных процессов в молекулярных объектах, наноструктурах и системах пониженной размерности, которые определяют локальный отклик системы на внешнее воздействие. Особое внимание в этих исследованиях уделяется учету влияния локализованных состояний и эффектов локализации электромагнитного поля на анализируемые параметры изучаемых наносистем. Вызвано это несколькими причинами. В теории интенсивно развиваются методы, которые дают возможность адекватно описывать локальные процессы, происходящие в рассматриваемых системах при наличии внешнего (в том числе сильного) воздействия. В эксперименте это вызвано дальнейшим развитием различных локальных методов диагностики поверхности и наноструктур таких, как сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ), включающая сканирующую туннельную (СТМ), атомную силовую (АСМ), магнитную силовую (МСМ) микроскопии, оптическую линейную и нелинейную микроскопию ближнего (СОМБП) и др., что позволило осуществлять локальные исследования объектов с пространственным разрешением вплоть до атомного. С другой стороны, уменьшение размеров или размерности изучаемых структур, а также проявление в них новых эффектов требует изучения процессов, которые часто не укладываются в рамки известных представлений о фундаментальных физических свойствах наносистем и локального отклика среды на внешнее воздействие. К такого рода процессам можно отнести, например: туннелирование в наноструктурах с локализованными состояниями при наличии сильных корреляционных эффектов, изменение локальной плотности состояний многоуровневых центров и молекулярных систем на поверхности твердого тела, а также проявление особенностей локального отклика наносистем при воздействии внешнего электромагнитного поля и др. На решение этих проблем направлены современные усилия ведущих научных коллективов, которые специализи-

руются в области физики наносистем. Вместе с тем к настоящему времени многие из этих задач недостаточно изучены как из-за трудностей применения существующих методик экспериментальных исследований, так и в силу недостаточно развитого теоретического описания наблюдаемых эффектов и процессов.

В настоящем сообщении рассматриваются влияние локализованных состояний и их взаимодействие на СТМ изображения и спектры туннельной проводимости поверхностных наносистем и молекулярных структур (в сканирующей туннельной микроскопии), а также влияние локализации электромагнитного поля на формирование изображения наностуктур с различным типом симметрии в ближней оптической зоне (для сканирующей оптической микроскопии и поляриметрии ближнего поля). В СТМ особую роль играют резонансные эффекты и изменение энергии уровней локализованных состояний при изменении приложенного потенциала. Такие изменения могут приводить к искажениям СТМ изображений и локальной плотности состояний по сравнению с параметрами невозмущенной туннельным током системы (например, молекулярных систем и биологических объектов).

Кроме этого, рассматриваются примеры локализации электромагнитного поля оптической частоты, возникающие при взаимодействии оптического излучения с нанообъектами. С одной стороны, подобная локализация дает возможность исследовать взаимодействие образца с оптическим излучением на масштабах, значительно меньших, чем длина волны света, что представляется весьма важным при изучении, в частности, биологических объектов. С другой стороны, детальное изучение особенностей локальных характеристик электромагнитного поля оптической частоты вблизи микро- и нанообъектов позволит создавать новые материалы с оптическими свойствами, отличающимися от свойств традиционных оптических материалов. Это открывает новые возможности при изучении молекулярных и биологических систем и объектов

СКАНИРУЮЩАЯ ТУННЕЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ

О.В. Синицына

Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН sinitsyna@gmail.com

Сканирующий туннельный микроскоп (СТМ) был изобретён в 1981 году Гердом Биннигом и Генрихом Рорером, сотрудниками швейцарского отделения фирмы ІВМ. С помощью нового микроскопа учёными было продемонстрировано атомное разрешение на поверхности золота и кремния. Многочисленные изображения частично разупорядоченных областей подтверждали локальность метода [1]. В 1986 году изобретателям СТМ была присуждена Нобелевская премия по физике.

На сегодняшний день СТМ наряду с другими зондовыми микроскопами является мощным инструментом исследования физики и химии поверхности, а также различных микро- и нанометровых объектов, которые могут быть размещены на проводящей подложке.

В настоящем докладе освещены принципы работы, конструкционные особенности и режимы сканирования СТМ. Значительная часть доклада посвящена вопросам интерпретации СТМ-изображений.

В основе работы СТМ лежит явление вакуумного туннелирования электронов между кончиком иглы и образцом. При приближении острия к поверхности туннельный ток экспоненциально возрастает: уменьшение вакуумного зазора на 1 Å приводит к увеличению тока в несколько раз.

При сканировании значение туннельного тока поддерживается постоянным с помощью системы обратной связи, для этого игла перемещается по вертикали, сохраняя величину вакуумного зазора. Перемещения зонда по вертикали в каждой точке поверхности записываются в двухмерную матрицу. Так создаётся СТМ-изображение топографии образца.

Уже в первые годы после изобретения СТМ было отмечено, что в ряде случаев данные СТМ не согласуются с результатами, полученными другими методами. Например, на СТМ-изображении поверхности графита виден только каждый второй атом углерода [2]. Наблюдаемые расхождения связаны с тем, что туннельный ток зависит от локальной плотности состояний, которая может варьироваться вдоль изучаемой поверхности. С одной стороны, такая зависимость приводит к затруднениям в интерпретации СТМ-

изображений. С другой стороны, появляется новая возможность исследования электронных свойств образца. Например, на поверхности графита с помощью СТМ могут наблюдаться муары, возникающие при разориентации графитовых слоёв, различные дислокационные структуры, лежащие в базисной плоскости.

На процесс туннелирования влияют и другие факторы: особенности строения острия, наличие адсорбата на поверхности иглы и образца, механическое воздействие зонда на поверхность.

Дополнительная информация об изучаемом объекте может быть получена при снятии зависимостей тока от расстояния и вольтамперных характеристик (туннельных спектров) в различных точках образца.

Для неоднородных образцов по зависимостям тока от расстояний рассчитывают работу выхода на разных участках поверхности. Исследование локальных туннельных спектров позволяет определить положение краёв зоны проводимости и валентной зоны, примесные состояния внутри запрещённой зоны полупроводников [3].

СТМ зарекомендовал себя не только как инструмент для визуализации поверхности и исследования её электронных свойств. С помощью СТМ возможна модификация поверхности, в том числе манипулирование отдельными атомами [4]. При подаче больших напряжений возможно протекание процессов локального окисления образца, разрушения связей между атомами на поверхности, а также миграция атомов с острия иглы. Эти процессы лежат в основе СТМ-литографии.

После обсуждения принципов работы СТМ и основных возможностей данного метода, в конце доклада рассматривается вопрос о применении СТМ в бионаноскопии.

- 1. Бинниг Г., Рорер Г., Успехи физических наук, 154, 261-278 (1988).
- 2. Синицына О.В., Яминский И.В., Успехи химии, 75, 27 35 (2006).
- 3. Миронов В.Л., Основы сканирующей зондовой микроскопии, Москва, Техносфера, 2004.
- 4. Неволин В.К., Зондовые технологии в наноэлектронике, Москва, Техносфера (2006).

ОБРАБОТКА ИЗОБРАЖЕНИЙ В ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

А.С. Филонов

Химический факультет MГУ им. М.В. Ломоносова filonov@nanoscopy.org

Доклад посвящен функциям обработки изображений, реализованным в программе ФемтоСкан Онлайн.

Первая версия программного обеспечения ФемтоСкан Онлайн увидела свет в 1999 году. С тех пор произошло множество изменений в структуре программы, ее интерфейсе, реализованы новые функции и алгоритмы.

В докладе описываются последние нововведения в программе, многие из которых появились буквально в последние дни, и не известны пользователям программного обеспечения. В частности, это функции определения шероховатости поверхности, функции анализа силовых кривых.

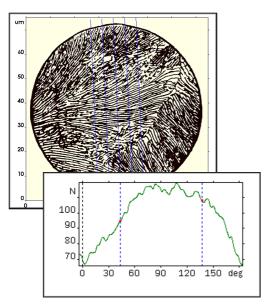


Рис. 1. Определение шероховатости поверхности. Поверхность с набором сечений и угловая диаграмма количества пересечений со средней линией.

Определение параметров шероховатости поверхности – один из основных методов характеризации поверхности в материаловедении. Проблема состоит в том, что стандарты, определяющие методологию вычисления этих параметров, разрабатывались многие годы, даже десятилетия назад, и значительно устарели. Зондовая микроскопия предоставляет гораздо больше информации, чем могут «переварить» старые ГОСТы. Нами была произведена адаптация методов определения шероховатости различных поверхностей, в частности, пластинчатых перлитов.

Были проанализированы балльные эталоны ГОСТа 8233, и на его базе сформированы таблицы соответствия баллов и основных параметров шероховатости, определяемых программой ФемтоСкан. Разработанная методика позволяет с высокой достоверностью в автоматическом режиме определять балльные характеристики поверхности.

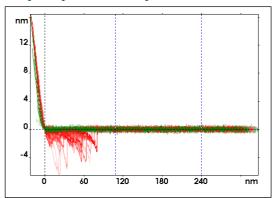


Рис. 2. Обработка силовых кривых. Выравнивание областей контакта.

Для обработки массивов силовых кривых реализован новый метод открытия файлов — со слиянием. При использовании этого метода, кривые из разных файлов объединяются в одном изображении, что позволяет удобно отсортировать их, выровнять положение нуля и области наклона (рис. 2), и провести дальнейший анализ — выделение участков отрыва кантилевера (событий), построение гистограммы распределения частоты событий, поиск параметров персистентной модели.

Так же в докладе идет речь о других новых (и неизвестных старых) возможностях программы – точная настройка цветовой палитры, выделение сложных областей обработки, использование различных режимов выделения для выравнивания поверхности, использование арифметических операций для удаления неровностей фона сложных изображений.

Непрерывное совершенствование приборной базы влечет за собой адекватные изменения в программном обеспечении. В современных реалиях чтобы быть впереди, нужно предвосхищать события, чтобы к моменту появления новых элементов незамедлительно начать их использовать в полной мере. Программное обеспечение ФемтоСкан Онлайн целиком удовлетворяет этой парадигме.

новые возможности зондовой микроскопии

И.В. Яминский

Физический факультет MГУ им. М.В. Ломоносова yaminsky@nanoscopy.net

Хотя сканирующей зондовой микроскопии уже исполнилось 26 лет, она продолжает успешно и быстро развиваться. Современная зондовая микроскопия включает в себя многообразие методов, и практически все эти методы с большой эффективностью используются в биологических исследованиях.

В последнее время наблюдаются две тенденции в приборостроении - увеличение скорости сканирования и получение кадров высокого разрешения. И первое, и второе весьма важно для наблюдения процессов в биологических системах. Снятие десятков кадров в секунду вполне подходит для записи видеофильмов, а объем одного изображения в сотню МБ позволяет получить детальную информацию об объекте. В реальных экспериментах приходится достигать компромисса между скоростью и разрешением: чем больше скорость, тем меньше разрешение и наоборот. В целом потоки информации в зондовой микроскопии возросли в десятки раз за последнее десятилетие.

В связи с увеличением объема информации возросла роль программного обеспечения и в особенности интеллектуальных методов анализа изображений. Так, благодаря применению новых методов анализа импульс развития получили силовое картирование поверхности и силовая спектроскопия биомакромолекул.

Техника зондовой микроскопии успешно применяется для разработки и создания высокочувствительных и избирательных сенсорных методов. Например, с помощью микрокантилеверов достигнут абсолютный рекорд по измерению массы в вакууме на уровне 10^{-23} г и в жидкости – 10^{-18} г. [1]. Использование массивов микрокантилеверов открывает новые возможности в создании биохимических анализаторов, которые по чувствительности и избирательности близки к обонянию и вкусу человека и животных.

Сканирующая резистивная микроскопия дает информацию как о профиле поверхности, так и об электрическом сопротивлении поверхности. Наиболее интересные достижения в резистивной микроскопии, по всей вероятности, будут достигнуты при исследованиях в жидкостях, но на этом пути имеются

проблемы, которые требуют технического решения. В частности, отсутствуют коммерческие кантилеверы для резистивной микроскопии в жилкости.

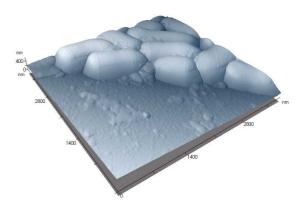


Рис. 1. Изображение бактериальной клетки Helicobacter pillory.

Приведен обзор результатов, достигнутых в области визуализации биологических объектов. Особое внимание уделено наблюдению бактериальных клеток различных таксономических групп.

Современная бионаноскопия развивается в направлении всестороннего совмещения методов сканирующей зондовой микроскопии с различными видами оптической микроскопии, в том числе флуоресцентной микроскопии, лазерной конфокальной микроскопии и рамановской спектроскопии. Приведен обзор ведущих производителей, активно работающих в этой области. Представлены основные тенденции и направления новейших разработок в области биологической сканирующей зондовой микроскопии.

Подробно изложены достижения в развитии коммуникационных средств зондовой микроскопии по управлению приборами через Интернет, организации открытых центров коллективного пользования наноскопии и проведению Интернет-практикумов сканирующей зондовой микроскопии для студентов высших учебных.

Список литературы:

1. Burg T. P., Godin M., Knudsen S. M., et al., Nature, 446, 1066 (2007).

ИССЛЕДОВАНИЕ АДГЕЗИИ В ПОЛУКОНТАКТНОМ РЕЖИМЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

<u>Н.В Аратов</u>, М.С.Вакштейн

Московский Физико-Технический Институт, г. Долгопрудный ФГУП "НИИ Прикладной Акустики", г. Дубна nikita.aratov@niipa.ru

Атомно-силовая микроскопия (ACM) – инструмент, позволяющий с высокой точностью определять размеры наночастиц, нанесённых на подложку. При работе в контактном режиме АСМ наночастицы испытывают воздействие со стороны зонда в боковом направлении, что может привести к их деформации или даже смещению. Поэтому при исследовании биологических объектов и частиц, слабозакреплённых на подложке, предпочтительно использовать полуконтактный режим АСМ. При определении размеров нанообъектов в АСМ используют значение отображаемой высоты, так как отображаемый латеральный размер завышен.

В полуконтактном АСМ движение зонда имеет колебательный характер, что сильно усложняет интерпретацию результатов измерений, так как настройка приборных параметров (начальная амплитуда раскачки, рабочая амплитуда (SetPoint), частота раскачки) существенно влияет на динамику зонда. Помимо этого, важным фактором в определении размеров наночастиц является степень гидрофобизции (или гидрофилизации) поверхности подложки и исследуемого нанообъекта, поскольку это влияет на величину капиллярной силы между зондом и плёнкой жидкости, всегда присутствующей при исследовании в воздушной среде.

В данной работе нами экспериментально показано, что взаимодействие зонда с поверхностью разное в зависимости от того, находится зонд над подложкой или над наночастицей. Это приводит к искажению отображаемой высоты нанообъекта. В качестве объектов для исследования были выбраны коллоидные квантовые точки (КТ), которые наносились на подложки из слюды и графита. Изучаемые КТ представляют собой полупроводниковые нанокристаллы (2-7 нм) теллурида кадмия, покрытые гидрофильной оболочкой (меркаптокарбоновая кислота).

Добавление сильного электролита (NaCl) уравнивает взаимодействие зонд – подложка и зонд – КТ, что позволяет избежать занижения высоты КТ. Это обусловлено экранированием сильным электролитом поверхности

образца и уменьшением силы взаимодействия в целом (между образцом и зондом).

В результате, нанесение КТ в солевом растворе на слюду приводит к увеличению отображаемой высоты наночастиц на 2-3 нм относительно высоты изображения КТ, высаженных из раствора без соли. Получаемое значение высоты существенно ближе к истинным размерам КТ.

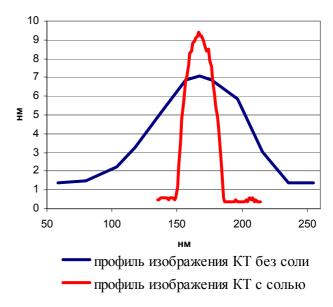


Рис. 1. Изображения КТ.

В то же время на графите наночастицы закрепляются недостаточно прочно, что не позволяет проводить точные измерения размеров КТ.

Таким образом, нами показано, что взаимодействия зонда с поверхностью могут существенно повлиять на отображаемую в АСМ высоту коллоидных КТ. Пробподготовкой образца можно уменьшить влияние капиллярных или адгезионных сил и, таким образом, более точно определить размер КТ.

- 1. Liwei C., Chin L. C., Nanoletters, 4(9), 1725-1731 (2004).
- 2. Ebenstein Y., Banin U., Nanoletters, 2(9), 945-950 (2002).
- 3. Garcia R., San Paulo A., Phys. Rev. B, 61(20), 13381-13384 (1999).

ЗАКОНОМЕРНОСТИ РОСТА КРИСТАЛЛОВ ПОВАРЕННОЙ СОЛИ НА ПОВЕРХНОСТИ СЛЮДЫ

Д.В.Багров, И.В. Яминский

Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова bagrov@polly.phys.msu.ru

Поваренная соль является важным компонентом многих биологических жидкостей. Данная работа посвящена изучению роста кристаллов поваренной соли на поверхности слюды методами атомно-силовой микроскопии (АСМ) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Были исследованы два способа нанесения: непосредственно из капли раствора при испарении воды и из раствора, переведенного в состояние высокодисперсного аэрозоля. При втором способе нанесения в поток аэрозоля с диаметром капель менее 2 мкм вносилась пластина свежесколотой слюды [1]. Высушивание образца осуществлялось на воздухе без нагрева.

Было показано, что на поверхности могут формироваться крупные кристаллы сложной формы, а также упорядоченные серии линий, пересекающихся под различными углами: 25°, 60° и 90° (рис. 1-2).

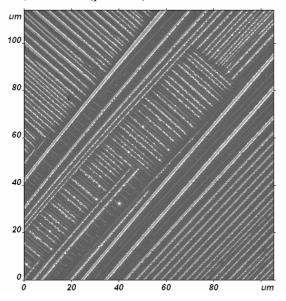


Рис. 1. Упорядоченные структуры, формирующиеся при нанесении соли из аэрозоля.

Было показано, что при нанесении образцов из аэрозоля формирование линий происходит на большей площади (до 0,75 площади образца), чем при нанесении непосредственно из капли раствора (~ 0,3 площади образца). Обнаружено, что локальная упорядоченность сохраняется на масштабах 10-50 мкм.

Была исследована зависимость типов структур, возникающих на поверхности, от времени нанесения аэрозоля, полученного из

0,75М раствора. При малых временах нанесения (1 с) соль кристаллизуется в виде отдельных кристаллов размером ~10 мкм, напоминающих по форме снежинки (рис. 3). Обнаружено, что при некотором времени нанесения (~6 с) доля площади образца, занимаемая упорядоченными линиями, максимальна.

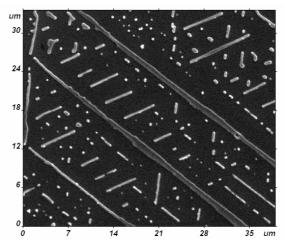


Рис. 2. Упорядоченные структуры, формирующиеся при нанесении соли из капли раствора.

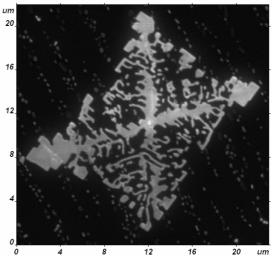


Рис. 3. Микрокристалл соли.

Список литературы:

1. Lomonosov A.M., Meshkov G.B., Yaminsky I.V., AFM study of NaCl nanocrystals deposited from highly-disperse aerosol Proceedings of International Workshop "Scanning Probe Microscopy – 2004", Nizhny Novgorod, May 2-6, 187-188 (2004)

ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ АЛМАЗА ДЛЯ БИОСЕНСОРНЫХ ПРИМЕНЕНИЙ

О.П. Будник

Институт прикладной оптики НАН Украины oksinfo@i.com.ua

Благодаря хорошей биосовместимости, алмаз является прекрасным материалом для разработки биосенсоров для детектирования оптических и электрических сигналов от живых клеток [1]. С этой целью поверхность кристалла функционализируется, приобретая способность присоединять и удерживать органические молекулы.

Появление технологий нанесения тонкопленочных алмазов и улучшения легированием, позволило получать нанокристаллические алмазы (НКА) большой площади [2]. Последние имеют такие же преимущества, как и монокристаллический алмаз — биосовместимость, химическую инертность и хорошие электрохимические свойства.

HKA обычно получают химическим осаждением из газовой фазы смеси CH_4/H_2 на кремниевую подложку [3]. В зависимости от технологии синтеза, можно получить образцы с различной ориентацией кристаллической оси и уровнем легирования.

Такие характеристики алмаза, как низкий обратный ток, наличие электрического потенциального окна при использовании в качестве электрода открывают возможность реализации концепции алмаза как активной подложки, взаимодействующей с биомолекулами, иммоблизированными на ней [4].

После покрытия атомарным водородом поверхность алмаза приобретает проводимость р-типа порядка 10^{-4} - 10^{-5} Ом⁻¹ при комнатной температуре [5]. Эта поверхностная проводимость уникальна для полупроводников, однако исчезает при удалении водорода или оксидации поверхности. Выяснение условий возникновения слоя дырочной проводимости показало, что акцепторы поступают от молекул, поглощенных из атмосферы [6].

С помощью фотолитографии можно разделить поверхность алмаза на области с разной проводимостью, а полученную геометрию проконтролировать с помощью атомносиловой и кельвиновской силовой микроскопии. Вторая техника позволяет получить картину распределения поверхностных потенциалов.

Биофункциализация поверхности алмаза проводиться фотохимическим способом, со-

гласно разработанным процедурам [7]. Примером может служить процесс присоединения ненасыщенного амина, защищенного трифторацетамидом (ТФА) [8]. Он включает несколько этапов: фотохимическое присоединение группы ТФА-амин к поверхности алмаза, отрыв защитной группы с помощью гидроксида тетраметиламмония с последующим прикреплением карбоксильной группы. Последняя выступает в качестве интерфейса для образования связи с энзимами и протеинами. Качество функционалазицации контролируется рентгеноструктурным анализом и спектроскопией комбинационного рассеяния. Техника циклической вольтаметрии позволяет построить вольт-амперные характеристики систем на их основе.

Одной из перспективных областей применения фунционализированного алмаза является нейрология. Так, имеется сообщение [9] о положительном опыте селективного поверхностного выращивания биологических клеток на алмазе с помощью микроконтактной печати ламинина.

Уникальные особенности алмаза открывают широкое поле применения его в медицине как в качестве детектора, так и устройства сопряжения традиционной кремниевой электроники и биологических систем.

- 1. Collings A.F., Caruso F, Rep. Prog. Phys., 60, 1397-1445 (1997).
- 2. Hupert M. et al., Diam. Rel. Mater., 12, 1940-1949 (2003)
- 3. Maier F. et al., Phys. Rev. Lett., 85, 3472-3475 (2000)
- 4. Pleskov Y.U. et al., J. Electroanal. Chem., 228, 19-27 (1987)
- 5. Ristein J. et al., Diamond Rel. Mater., 10, 416-422 (2000)
- 6. Hayashi K. et al., J. Appl. Phys., 81, 744-753 (1997)
- 7. Strother T. et al., Langmuir, 18, 968-971 (2002)
- 8. Hartl A. et al. Nature, 3, 736-742 (2004)
- 9. Specht C.G. et al. Biomaterials, 25, 4073-4078 (2004)

НОВЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МОРФОЛОГИИ НАНОСЛОЕВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ДНК-БИОСЕНСОРОВ

<u>Д.З. Галимуллин,</u> М.Э. Сибгатуллин, О.А. Коновалова, М.Х. Салахов Казанский государственный университет им. В.И.Ульянова-Ленина galimullin d.z@mail.ru

Одним из перспективных направлений в развитии нанотехнологий является создание наносенсоров для диагностики наследственных и инфекционных заболеваний человека, животных и растений, определения и мониторинга широкого круга продуктов в окружающей среде, контроля чистоты и качества фармацевтических препаратов, пищевых продуктов, установления соответствия в судебной практике. Наносенсоры [1] относятся к аналитическим устройствам нового поколения, которые характеризуются высокой избирательностью, чувствительностью и экспрессивностью.

Важной задачей является количественный физических и морфологических свойств ДНК-содержащей пленки. Это позволяет контролировать качество структуры формирующихся на мембране нанослоев, строить важные диагностические признаки. Свойства пленки (толщина, тип, морфология поверхности, природа вещества, упругие характеристики) вносят вклад в эффективную толщину кристалла и тем самым приводят к сдвигу резонансной частоты кварцевого резонатора. Даже в том случае, когда в биосенсоре воплощается реальная стандартная методика, предполагающая взаимодействие в гомогенных условиях, строгая специфичность связывания на поверхности пьезокварцевого резонатора отнюдь не гарантирована. Эти причины могут приводить к неоднородному распределению специфически связанных нуклеиновых кислот и антител в поверхностном слое датчика, что приводит к возбуждению в пьезокварцевой пластине набора дополнительных резонансных мод. Не имея методики оценки топографических свойств поверхности и ее геометрических характеристик, адекватно отражающей реальные процессы формирования поверхностного рельефа, невозможно с удовлетворительной достоверностью предсказать поведение в процессе эксплуатации такого сенсора.

Необходим подход, позволяющий описать структуру нанослоев, что дает возможность оценки однородности распределения нуклеиновых кислот, исследования свойств образующихся кластеров.

В данной работе предложено использовать теорию фракталов [2] для разработки новых подходов в оценке шероховатости и морфологии наноструктур, образованных иммобилизованными на полилизиновом нанослое молекулами ДНК, способными специфически взаимодействовать с соответствующими антителами. В качестве оценочного количественного параметра была использована размерность Хаусдорфа-Безиковича и другие размерности [3, 4]. Существование фрактальных областей для разных сечений обработанных поверхностей подтверждает возможность кластерного механизма формирования поверхности. Шероховатость поверхности и поверхностный рельеф можно рассматривать как единую фрактальную структуру, что позволяет провести классификацию различных нанослоев, образующих ДНК-биосенсор.

Данная работа поддержана грантом "Фундаментальные исследования и высшее образование" ("Basic Research and Higher Education (BRHE), REC-007") выполнена на оборудовании Федерального центра коллективного пользования "Физико-химические исследования веществ и материалов".

- 1. Фахруллин Р.Ф., Коновалова О.А., Салахов М.Х. и др., IX Международная Научная Молодежная Школа "Когерентная оптика и оптическая спектроскопия", сб. статей, 183-187 (2005).
- 2. Потапов А.А., Булавин В.В., Герман В.А., Вячеславова О.Ф., Журнал технической физики, 75, 5, 28-45 (2005).
- 3. Sadana A., Biosensors & Bioelectronics, 14, 515-531 (1999).
- 4. Sun X., Fu Z., Wu Z., Materials Characterization, 48, 169-175 (2002).

АНАЛИЗ ПОРОВОГО СОСТАВА ГРАНУЛ ИОНООБМЕННИКА МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Ю.А. Жиброва, А.Н. Зяблов, В.Ф. Селеменев

Воронежский государственный университет uzhnaya sanosil@mail.ru

Ионообменники — это пористые материалы, причем соотношение макро-, мезо- и микропор в каждом ионообменном материале разное. Использование ионитов в химическом и микробиологическом производстве зачастую сводится к сорбции биологически активных веществ на них. При подборе ионообменника для данного типа производства следует учитывать его физико-химические свойства и, что не мало важно, количественное соотношение всех типов пор.

В исследованиях применяли сканирующий силовой микроскоп, реализованный на установке ФемтоСкан-001.

Для получения пространственного изображения поверхности ионообменников, исследуемые гранулы закрепляли в держателе, установленном на предметном столике прибора, что позволило избежать дрейфа образца во время сканирования. Эксперименты проводили на воздухе при температуре 25°C±1°. Сканирование осуществляли зондом фирмы MikroMasch модели CSC-12 длиной 300±5 ит, жесткостью 0.05 Н/м. Зонд подводили в крайнюю верхнюю точку гранул ионообмен-Размер площадки ников. сканирования 3000×3000 нм.

Обработку изображений проводили с помощью базовой компьютерной программы микроскопа ФемтоСкан-001.

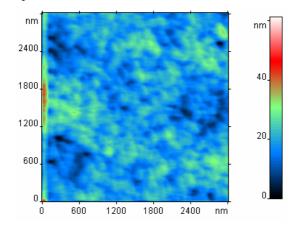


Рис. 1. Анионообменник АН-31 в основной форме.

С учетом выбранных условий радиусом кривизны гранулы можно пренебречь.

Как видно из рис. 1 и 2 ионообменник имеет неоднородную структуру. Он содержит мезо- и макропоры. Красным цветом на рисунках выделены глобулы, агрегаты на поверхности гранулы. Они могут быть образованы минимальными элементами структуры сетки полимера или сорбированными молекулами.

Для анионообменника АН-31 при переходе от ОН-формы к аминокислотной происходит уменьшение пор и, следовательно, увеличивается количество и размер глобул. Из полученных изображений видно, что происходит перестройка структуры анионообменника.

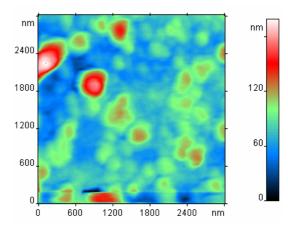


Рис. 2. Анионообменник АН-31 в аминокислотной форме.

В основе многих методов исследования лежит модель цилиндрических пор. Однако реальные системы значительно отличаются от идеальных моделей. Для расчета радиусов пор нами была создана программа, в основе которой лежат три алгоритма расчета радиуса пор произвольной формы:

алгоритм, основанный на определении понятия радиуса для круга.

- 1. алгоритм, основанный на равенстве площадей множеств.
- 2. алгоритм, основанный на понятиях диаметра и компактности множества.

Для учета всех погрешностей требуются дальнейшие исследования и сопоставления полученных результатов с результатами методов, измеряющих пористый состав образцов, например, порометрии.

ТРЕХМЕРНЫЙ ЦВЕТНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ МИКРОСКОП С РАЗРЕШЕНИЕМ ЛУЧШЕ 20 НМ ДЛЯ ОБЪЕКТОВ В ТВЕРДЫХ И ВЛАЖНЫХ СРЕДАХ

А.А. Климов, Д.А. Климов

Институт Общей Генетики РАН nanoscop@gmail.com

Разработан новый метод микроскопии, позволяющий получить трехмерные цветные изображения c разрешением лучше [1,2,3] на видимом свете. Результат достигается 38 счет использования красителей (caged dye) [4], «запертых» становятся флуоресцирующими которые только после активации, например, после ультрафиолетом. облучения Объект, биологический или наноструктурный, прокрашивается «запертыми» красителями и облучается короткой вспышкой ультрафиолетового света, активирующей лишь небольшое число молекул красителя. Длительность и интенсивность вспышки подбираются так, чтобы количество активированных молекул не превышало 1-2 тысячи, и молекулы были видны раздельно.

c помощью микроскопа установленной на нем высокочувствительной EMCCD-камеры, получается кадр изображением отдельных молекул, представляющим собой разбросанные по кадру пятна. Диаметр пятен в силу волновых свойств света таков, что кажущийся размер источника примерно равен длине волны света ($d\sim1,22\lambda/A$, $A\sim1,2-1,4$) [5]. Однако положение центра пятна, соответствующее флуоресцентной молекулы, положению определяется с точностью намного лучшей, чем диаметр пятна, поскольку она растет с количеством зарегистрированных фотонов [6] (~2 000 штук на молекулу красителя до ее обеспвечивания). Когда активированный «выгорает» происходит краситель [7], активация новой порции «запертых» молекул и запись нового кадра. В результате, после съемки нескольких тысяч кадров, полученная информация построить позволяет изображение объекта с разрешением порядка 20 нм и лучше – пропорционально корню из числа кадров.

Используя две камеры, возможно построить трехмерное изображение объекта с разрешением по глубине порядка 50 нм и

лучше. Можно также построить цветное изображение объекта для раздельного представления белков, жиров, нуклеиновых кислот внутри клеток, зондов к рецепторам на поверхности клеток (иммунологические методы) а также к мембранам (липидам, фосфолипидам и т.п.), зондов к ДНК, для получения подробного изображения вирусов, бактерий, рибосом на полисомальных РНК и других изображений.

Метод запатентован нами в РФ [1], а спустя 5 дней он запатентован в США [8]. Авторы второго патента опубликовали статью [9], вошедшую в 10 важнейших достижений 2006 года по рейтингу редакции Science.

- 1. Заявка на патент на изобретение РФ 2005115052, от 18 мая 2005г.
- 2. «Международный патент» PCT/WO 2006/123967
- 3. http://online.stack.net/~klimov/Nanoscop.htm
 - 4. Фирма Molecular Probes (Invitrogen)
- 5. Сивухин Д.В., Общий курс физики., IV., 356.
- 6. Michael K. Cheezum, William F. Walker, and William H. Guilford Quantitative Comparison of Algorithms for Tracking Single Fluorescent Particles. Biophysical Journal, 81 2378–2388 (2001).
- 7. Brian Herman, Components of the Fluorescence Microscope. Current Protocols in Cell Biology
- 8. PCT Publication number: WO2006127692, http://v3.espacenet.com/textdoc?DB=EPODOC &IDX=WO2006127692&F=0
- 9. Betzig E, Patterson GH, Sougrat R, Lindwasser OW, Olenych S, Bonifacino JS, Davidson MW, Lippincott-Schwartz J, Hess HF, Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution.; Science, 313(5793), 1642-1645 (2006).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО ЭЛЕКТРОНОННОГО ПУЧКА НА РЕЛАКСОР ЦТСЛ 8/65/35 С ПОМОЩЬЮ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ

В.В. Ефимов 1 , <u>Ю.С. Ковалёв</u> 1 , Б.Н. Маврин 2 , В.В. Сиколенко 1 , С.И. Тютюнников 1 , А.Р. Штернберг 3

¹Объединённый институт ядерных исследований, г. Дубна ²Институт спектроскопии РАН, Московская обл., г. Троицк ³Институт физики твердого тела, Латвия, г. Рига humba@msu.dubna.ru

Приводятся результаты измерения спектров комбинационного рассеяния на $\lambda=441,6$ нм и $\lambda=1060$ нм линиях возбуждения релаксорной сегнетокерамики из цирконата, титаната свинца, модифицированного лантаном (Pb(1-x)Lax)(Zr0,65Ti0,35)1-x/4O3 с молярным содержанием лантана x=8% при её облучении на линейном индукционном ускорителе сильноточным импульсным пучком электронов с энергией Ee=800 кэB, током Ie=200 A, длительностью $\tau=200$ нсек.

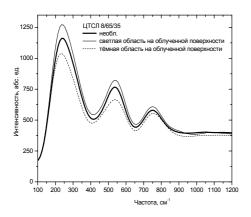


Рис. 1. Рамановские спектры в различных частях образца.

Получены трехмерные изображения необлученной и облученной частей образца на Raman-активной моде ν TO2 = 210 см⁻¹. В облученном образце обнаружены пространственные области с аномально высокой интенсивностью A2(TO2) моды.

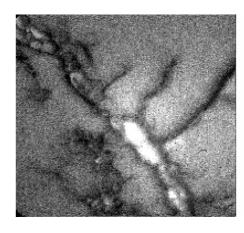


Рис. 2 Изображение облученной поверхности образца размером 100x100 мкм в рамановкой моде $210~{\rm cm}^{-1}$.

Эти области находятся вблизи фигур Лихтенберга, которые, очевидно, соответствуют искровому пробою, за счет накопленного при облучении пространственного заряда ($\sim 10\text{-}5$ Кулон) внутри сегнетоэлектрика. Их размер составляет в плоскости XY около 20 мкм, по глубине $\Delta z \leq 20$ мкм. Рассматриваются возможные механизмы эффекта сильноточного импульсного электронного облучения на релаксор ЦТСЛ 8/65/35.

- 1. Dimza., J. Phys.: Condens. Matter, 8, 2887-2903 (1996).
- 2. Gross B., Phys.Rev., 107.,368 (1957).
- 3. Dellis J-L., Daelennest J., Carpentier J-L., J.Phys. Condensed Matter, 6, 5164–5168 (1994).
- 4. G.Kitaeva, et.al., Phys.Rev.B, 65, 054304-1 (2002).

КАНТИЛЕВЕРЫ ДЛЯ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Д.В. Колесов

Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва kolesov@polly.phys.msu.ru

Для получения хороших изображений при помощи сканирующего зондового микроскопа важной задачей является выбор наиболее подходящего к условиям сканирования кантилевера. При исследовании таких образцов, как биологические объекты это представляется особенно значимым. Чтобы решить проблему выбора необходимо знать параметры кантилевера.

Первое, с чем необходимо определиться – это выбрать режим сканирования. Для биологических или других легкоразрушающихся образцов часто используют полуконтактный режим (tapping). Консоли кантилеверов для него имеют меньшую длину от 125 до 225 мкм и большую толщину от 2 до 7 мкм. Однозначно связаны с геометрическими размерами жёсткость и резонансная частота. Для режима tapping они составляют обычно от 40 до 48 Н/м и 170-525 Кгц соответственно. Для контактного режима кантилеверы более длинные и мягкие. Их длинна имеет значения от 225 до 450 мкм, толщина – от 0,16 для кантилеверов из нитрида кремния до 4 мкм, жёсткость – от 0,006 (нитрид кремния) до 0,9 Н/м, резонансная частота – 12-48 Кгц.

Помимо размеров консоли важными параметрами являются геометрические размеры зонда. Они определяют в первую очередь разрешение и качество получаемого изображения. Также их выбор осуществляется исходя из предполагаемого профиля сканируемой поверхности. По форме зонд может быть конусом, симметричной или несимметричной пирамидой или произвольной формы. Зонд характеризуется следующими геометрическими параметрами: высота иглы, радиус закругления острия иглы, aspect ratio, углы при вершине и некоторые другие. Радиус закругления является мерой остроты зонда. Чем он меньше, тем острее зонд и тем выше разрешение. Размер отдельных объектов, которые может отображать кантилевер, сопоставим с радиусом закругления его. Помимо остроты зонда имеется такая его характеристика, как aspect ratio. Оно выражает отношение длины зонда к его диаметру. Эта характеристика показывает насколько узкие и глубокие впадины в рельефе кантилевер может правильно

отображать. С aspect ratio связаны углы при вершине зонда.

Важным момент, который определяет свойства кантилевера – это материал, из которого он сделан. Материал зонда и консоли обычно одинаковый, однако бывают и исключения. Наиболее общим материалом для производства кантилеверов служит кремний. Из него получаются достаточно острые кантилеверы, которые подходят для сканирования большинства поверхностей. Другим, чуть менее часто используемым, материалом для кантилеверов служит нитрид кремния. Он более инертен и гидрофобен, чем кремний, что может оказаться важным для исследования биологических объектов в специфических средах, например в жидкостях. К тому же из него можно получить более тонкие и мягкие консоли, т.е. такие кантилеверы производят меньшее разрушающее воздействие на образец. Это тоже может иметь значение для легкоразрушаемых биологических объектов. Однако кантилеверы из нитрида кремния получаются более тупыми и, следовательно, дают худшее разрешение.

Указанные материалы являются наиболее распространёнными, но кантилеверы могут изготавливаться и из других материалов. Это металлы, полимеры, углеродные нанотрубки, а также кантилеверы с нанесёнными на зонл дополнительными остриями из вольфрама или алмазоподобного углерода. Последние являются лидерами в области получаемого разрешения. Радиус кривизны таких зондов достигает 1 нм! Однако большинство кантилеверов из нестандартных материалов выпускаются недавно или даже ещё не начали выпускаться на коммерческой основе. Поэтому рано говорить об их применимости для сканирования различных образцов, в том числе и биологических.

Для некоторых приложений, кантилеверы покрывают дополнительными слоями. Это могут быть отражающие слои, магнитные или проводящие покрытия. Однако для исследования биологических объектов магнитная и электростатическая микроскопия используется редко.

ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ ПО БИОНАНОСКОПИИ

А.А. Кондратьев

OOO «Старт Инноваций» atomican(a)yandex.ru

В настоящее время наблюдается бум нанотехнологий, также большое развитие получает такое направление науки, как бионаноскопия

Происходит постоянное обновление уже имеющихся тематических ресурсов и появление новых сайтов в сети Интернет, где можно найти в свободном доступе много обширной и полной информации по бионаноскопии.

Очень интересной представляется возможность просмотреть, не отходя от своего компьютера, изображения биологических объектов (бактерии, вирусы, ДНК, РНК и т.д.), полученных на сканирующих зондовых микроскопах. Такие галереи имеются на многих сайтах:

http://www.nanoscopy.net/

http://www.nanoscopy.org/

http://www.spm.genebee.msu.su/

http://www.ntmdt.ru/

http://www.nanoscience.com/

http://www.if.pw.edu.pl/

http://www.nanotech-now.com/

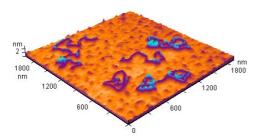


Рис. 1. Молекулы ДНК.

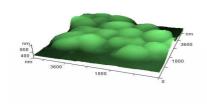


Рис. 2. Бактерия Klebsiella.

Посетив такие галереи, обычный человек может увидеть, как выглядят те или иные биологические нанообъекты, что представляется невозможным большинству простых людей.

Фактически популярность нанотехнологий сейчас такова, что потребность людей в

новостях диктует администрации интернетресурсов быстрое и оперативное обновление и добавление новостей. Свежие новости науки очень быстро оказываются доступными для всех пользователей Интернет. Существует множество сайтов, посвящённых новостной тематике нанотехнологий и бионаноскопии. Вот лишь некоторые из них:

http://www.microbot.ru/ http://www.nanonewsnet.ru/ http://www.nanonewsnet.com/ http://www.nanogallery.info/ http://physicsweb.org/



Рис. 3. Вид популярного новостного сайта.

Также на этих сайтах пользователи Интернет могут найти интересные статьи по бионаноскопии, версии публикаций в уважаемых научных журналах, а также большое количество учебно-познавательного и научно-методического материала по нанотехнологиям.

Всё более и более популярной становится возможность общения людей, интересующихся бионаноскопией и наукой вообще, на специализированных форумах. Здесь ведётся обсуждение насущных проблем, интересующих абсолютно разных людей: на форумах можно увидеть и докторов наук и простых зевак.

Развитие науки сейчас идёт с огромной скоростью, и успеть за ней могут только те люди, которые черпают информацию не в одном определённом месте, а используют много источников. Бесспорно, в сети Интернет можно найти полную информацию практически по любому вопросу бионаноскопии.

ИССЛЕДОВАНИЕ СЕНСОРНЫХ ПЛЕНОК МЕТОДОМ АСМ

О.А. Коновалова, Д.И. Нурмухаметова, М.В. Матвеева, М.Х. Салахов Казанский государственный университет им. В.И.Ульянова-Ленина Olga.Konovalova@ksul.ru

Последнее десятилетие характеризуется интенсивным развитием сенсорных нанотехнологий. Они ориентированы на создание аналитических устройств, позволяющих получать информацию о свойствах различных сред (объектов) в форме электрического сигнала. Наибольшее развитие и практическое применение получили аналитические устройства – биосенсеры, использующие в качестве селектирующего элемента биомакромолекулы. Принципиальным моментом в создании любого биосенсора является иммобилизация биологически активных слоев (нуклеиновые кислоты, антигены и т.д.) на его поверхности. При конструировании пьезоэлектрического биосенсора вопросы иммобилизации приобретают важнейшее значение, так как определение искомого объекта происходит за счет присоединения его к поверхности электрода. Для иммобилизации любого биологического реагента (в частности, ДНК) необходимо предварительное формирование слоевпредшественников (биологических структур), задача которых связать селективный слой с электродом. Для исследования пропессов сорбции этих слоевпредшественников в настоящее время используются множество нано- и биотехнологий, в том числе, методы атомно-силовой микроскопии.

Целью работы являлось изучение и анализ биочувствительных пленок с помощью атомно-силовой микроскопии в процессе изготовления ДНК-наносенсора.

С использованием метода послойной адсорбции нами создается новый класс молекулярных пленочных систем, в состав которых входят поочередно расположенные слои поликатиона и нуклеиновой кислоты. Пленка формируется на поверхности золотого электрода пьезокварцевого резонатора.

Иммобилизация нуклеиновой кислоты в пленке достигается за счет электростатического взаимодействия ее с поликатионом. Этим разрабатываемые сенсоры принципиально отличаются от существующих в настоящее время, в которых иммобилизация

происходит в результате образования ковалентной сшивки между нуклеиновой кислотой и поверхностью трансдьюсера за счет образования связи металл-сера-нуклеотид. Ковалентная связь, как известно, существенно нарушает как структуру ДНК в области сшивки, так и структуру поверхности подложки. Визуализацию проводили на воздухе при комнатной температуре на ACM Solver Рго (Москва, ЗАО «НТ-МДТ»), сканер 3 мкм. Использованы кремниевые кантилеверы NSG11 (ЗАО «НТ-МДТ»), типичный радиус кривизны острия которых был менее 10 нм. Сканирование проводили полуконтактным методом в трех режимах: при постоянной амплитуде (топография), в режиме фазового контраста и сигнала рассогласования с разрешением 1024×1024 точек.

В качестве рецепторного чувствительного слоя биосенсора использовался поликатион полилизин, на который иммобилизовался слой ДНК. В качестве подложек использовались атомарно-ровные поверхности слюды (отрицательно заряженная, гидрофильная поверхность) и пирографита (нейтральная, гидрофобная поверхность), а также непосредственно поверхность золота, напыленного на полированный кварцевый резонатор, который применяется в наногравиметрическом анализе в качестве физического трансдьюсера.

При анализе АСМ-изображений и феноменологических параметров наблюдалась зависимость наноструктуры слоя полилизина от молекулярной массы (МW= 4000; 20000÷30000; 412410), рН раствора 11.6 и 7.4, адсорбционных поверхностей. Особое внимание уделяется послойному АСМ-анализу рецепторной пленки на золотой поверхности, обсуждаются пути оптимизации ее для дальнейшего использования сенсора при диагностике антител к ДНК в сыворотке крови больных аутоиммунными заболеваниями.

Данная работа выполнена на оборудовании Федерального Центра коллективного пользования "Физико-химические исследования веществ и материалов", г. Казань.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ НА БАКТЕРИИ С ПОМОЩЬЮ АСМ

<u>С.В. Краевский ¹</u>, А. Волошин ², Е.В. Дубровин ³, С.Г. Игнатов ², Т.Е. Игнатюк ¹, И.В. Яминский ³

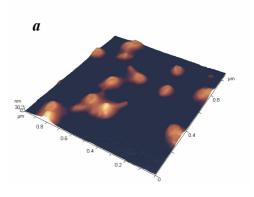
 1 ФГУП ГНЦ РФ ИТЭФ Росатом, г. Москва, 2 ФГУН ГНЦ ПМБ Федеральной службы Роспотребнадзора, п. Оболенск, 3 Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова skraevsky@mail.ru

За прошедшие годы применение атомносиловой микроскопии (АСМ) позволило достичь уникальных научных результатов в различных областях физики, химии и биологии. Наиболее яркой демонстрацией возможностей этого экспериментального направления при исследовании биологических объектов является возможность визуализации в естественных условиях бактериальных и вирусных объектов в нанометровом диапазоне.

Целью данной работы являлась прямая визуализация с помощью ACM взаимодействия бактериофагов с бактериями.

Прежде всего, нами был разработан протокол приготовления образцов для визуализации взаимодействия бактерий с бактериофагами. В качестве основных объектов исследования использовались клетки *Escherichia coli* (штамм 57) и бактериофаги v18/A157 к ним. Для осуществления перекрестного контроля также изучались клетки *Salmonella enteritidis* (штамм 89) с бактериофагами 39/s.е. к ним. Согласно разработанному протоколу, клетки смешивались со своими (или с чужими – для контроля) бактериофагами, после чего полученная смесь помещалась в термостат при температуре 37°C.

Для осуществления мониторинга взаимодействия бактериальных клеток с бактериофагами каждые 10 минут из взаимодействующей смеси извлекали 5-10 мкл и исследовали с помощью атомно-силовой микроскопии. В качестве подложек для АСМ использовались свежесколотые поверхности слюды и высокоориентированного пиролитического графита, а также поверхности с напыленным золотом. После нанесения исследуемого объекта на подложку ее помещали во влажную атмосферу на 5 минут для адсорбции, после чего промывали дистиллированной водой и высушивали в струе азота. На рис. 1 проиллюстрирован один из полученных результатов: АСМ-изображения бактериофага (рис. 1а) и клеток *Escherichia coli*, инкубированных с бактериофагом v18/A157 при 37 °C в течении 30 минут (рис. 1б). При времени инкубации от 60 минут наблюдалось сильное нарушение целостности поверхности клетки. Похожие АСМ-изображения получились также при исследовании другой пары «бактериофаг»-«клетка»: бактериофаги 39/s.е. с *Salmonella enteritidis*. При перекрестной же инкубации изменения поверхностей клеток не обнаруживалось.



б

Рис. 1. АСМ-изображение бактериофагов v18/A157 к *Escherichia coli* (a), и клеток *Escherichia coli*, инкубированных с бактериофагом v18/A157 при 37 0 C в течении 30 минут на слюде.

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ПРОЦЕССОВ АДГЕЗИИ И АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ МЕТОДАМИ АСМ

<u>Л.В. Кухаренко¹,</u> Л.Г. Гелис², И.В. Лазарева², В.Г. Лещенко¹ ¹Белорусский государственный медицинский университет, ²Республиканский научно-практический центр Кардиология lvk@europe.com

Цель данной работы состояла в исследовании морфологии поверхности тромбоцитов при их адгезии и агрегации с помощью ACM (DimensionTM 3000 и Nanoscope IIIa).

На начальной стадии адгезии тромбоцитов к чужеродной поверхности визуализируется изменение их дисковидной формы сферическую с образованием коротких длинных узких филоподий. Длина филоподий тромбоцитов варьирует от 0.5 до 3.0 мкм, а толщина – от 0.05 до 0.30 мкм. При дальнейшем процесса адгезии развитии филоподии тромбоцита расширяются и превращаются в ламеллоподии толщиной до 70 нм, в строме которых формируются густые сложные сети из микрофиламентов.

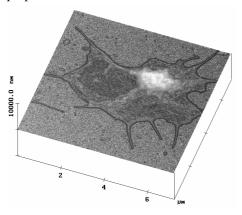


Рис. 1. АСМ изображение тромбоцита на промежуточной стадии адгезии.

При ЭТОМ периферическое кольцо микротрубочек перемещается центр тромбоцита, увлекая за собой крупные а-И концентрируя их гранулы форме "псевдоядра" (рис.1). От 5 до 20 гранул размером от 250 до 400 нм визуализируется на АСМ изображениях тромбоцитов на этой стадии адгезии. На заключительном этапе адгезии происходит дегрануляция содержимого гранул тромбоцитов под действием тромбоксана А2. При этом гранулы сливаются с наружной мембраной тромбоцита, формируя "кратеры" на ламеллоподиях диаметром 290 нм и глубиной 16 нм (рис. 2).

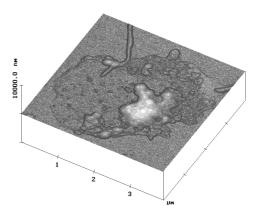


Рис. 2. ACM изображение тромбоцита на последней стадии адгезии.

Дегрануляция содержимого грануломера тромбоцита стимулирует дальнейший этап агрегации тромбоцитов и формирование пластинчатого конгломерата. АСМ-изображение активированных тромбоцитов, взаимодействующих с эритроцитом в процессе образования красного тромба показано на рис.3.

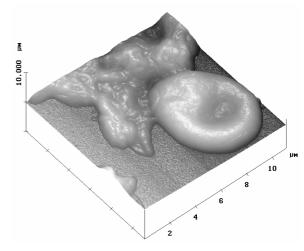


Рис.3. ACM изображение активированных тромбоцитов, взаимодействующих с эритроцитом в процессе образования красного тромба.

Авторы выражают благодарность профессору Университета г. Мюнстера Х.Фуксу за помощь в проведении АСМ эксперимента и за содержательные и плодотворные дискуссии.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ АТОМНО СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ К ИЗУЧЕНИЮ КЛЕТОК, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСАМИ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА И НЕКОТОРЫМИ ДРУГИМИ

<u>Ф.В. Лисицын</u>¹, В.А. Яковлева², А.А. Маныкин¹, В.А. Науменко¹ *ГУ НИИ Вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН Московской обл.* $^{2}MC4 № 170. \ z. \ Kopoлев Московской обл.$ fedorlisi@mail.ru, an manykin@mail.ru

Настоящее исследование посвящено применению метода атомно-силовой микроскопии к изучению поверхности клеток (МТ-4, фибробластов, клеток плоского эпителия), инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), альфавирусами и папилломавирусами. Клетки, вырашенные на прелметном стекле или осажденные на стекло из суспензионной смеси, фиксировали 2%глютаральдегидом и исследовали с помощью атомно-силового микроскопа Solver 47 Bio (резонансной моде). Предполагалось, что АСМ-метод позволит четко дифференцировать инфицированные вирусом клетки от контрольных по признакам изменения поверхности. Как показывают наши данные, изменение поверхности клеток сильно зависит от принадлежности вируса к тому или иному семейству: так, при инфицировании фибробластов альфавирусами происходит резкое уплощение цитоплазмы, появление большого числа цитоплазматических вакуолей концентрирующихся вокруг ядра и проявляющихся на внешней поверхности клетки. В случае папилломавирусной инфекции клеток плоского эпителия -наблюдаются обширные углубления в центральной части с небольшой по площади выпуклостью (ядерная зона) и высокий, уплотненный гребень по периферии цитоплазмы клетки. Эти данные хорошо коррелируют с цитологическими наблюдениями таких образцов (коилоциты). Клетки МТ-4 инфицируются ВИЧ в суспензионном состоянии и анализируются после того, как прикрепляются к поверхности стекла с помощью цитоцентрифуги. Контрольные МТ-4 клетки, представляют собой сферические объекты, несколько уплощающиеся при осаждении на стекло, в которых невозможно различить ядерную от цитоплазматической зоны (см. рис. 1). Клетки, инфицированные вирусом, проявляют склонность к значительному уплощению, с резким выделением уплотненной околоядерной зоны (см. рис 2). При этом образуются зоны слияния нескольких клеток.

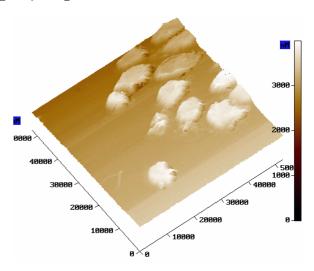


Рис. 1. Контрольные клетки МТ-4.

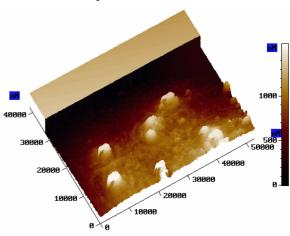


Рис. 2. Клетки МТ-4 инфицированные вирусом иммунодефицита.

Таким образом, можно сделать предварительное заключение, что атомно-силовая микроскопия улавливает характерные признаки изменения поверхности клеток, отражающие специфику проявления последствий инфицирования различными вирусми.

ИЗМЕРЕНИЕ РАЗМЕРОВ ЧАСТИЦ В ЖИДКОЙ СРЕДЕ МЕТОДОМ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ.

С.В. Литвинов

Московский физико-технический институт (государственный университет)
Litvinov@dgap.mipt.ru

Конечная цель данной работы – посредством анализа спектра рассеянного излучения на крупных частицах, находящихся в жидкой среде, изучить влияние внешнего электромагнитного поля на процесс образования и роста крупных частиц (50-1000 нм) внутри раствора. Размеры частиц предполагается определять по спектрам рассеянного света, методами корреляционной спектроскопии.

Рассеяние лазерного пучка (He-Ne лазер мощностью 10 мВт) происходит на флуктуациях концентрации частиц одного из компонент раствора.

Рассеянное излучение наблюдается под разными углами по отношению к падающему излучению. Для этого используется ФЭУ, работающий в режиме счета фотонов.

Анализ полученного сигнала производится с использованием однобитового цифрового коррелятора K7023 «Malvern Instruments» и программного пакета PhotoCor 4.3.

Объектами исследований были трехком-понентные растворы:

- 1. вазелиновое масло, вода, АОТ;
- 2. трансформаторное масло, вода, АОТ.

Как известно, если среда однородная, то рассеяние происходит лишь в одном направлении — в направлении падающего луча. Для того чтобы возникло рассеяние в других направлениях, необходимо чтобы в среде имелись неоднородности (флуктуации).

Согласно теории рассеяния модулирующая функция $\Phi_c(t)$ флуктуаций концентрации подчиняется уравнению теплопроводности.

$$\dot{\Phi}_c - D\nabla^2 \Phi_c = 0$$

$$\Phi_{cq}(t) = \Phi_{0cq}(t)e^{-\delta_C t},$$

Где δ_c – полуширина на полувысоте

спектра рассеянного света, q — волновой вектор рассеяния, D — коэффициент взаимной диффузии.

$$\delta_c = q^2 D$$
, $D = \frac{kT}{6r\pi n}$, $\overrightarrow{q} = \overrightarrow{k}_S - \overrightarrow{k}_0$,

r — радиус молекулы, η — коэффициент вязкости, \vec{k}_0 — возбуждающий, \vec{k}_S — рассеянный свет.

Пренебрегая небольшими изменениями длины волнового вектора при когерентном рассеянии и полагая $|\vec{k}_s| \approx |\vec{k}_0|$, получим:

$$\left| \vec{q} \right| = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2}$$

где θ — угол рассеяния, n — показатель преломления.

Электрическое поле рассеянного света:

$$E_{sc}(t) = E_0 \Phi_{0C}(t) e^{i(\omega_C t - \overline{k_S} r) - \delta_C t},$$

где ω_s — частота рассеянного света.

Рассеяние на флуктуациях концентрации приводит к появлению несмещенной линии с частотой ω_{C} в максимуме. Спектр рассеянного света представляет собой лоренциан с полушириной на полувысоте, равной δ_{C} :

$$\delta_C = Dq^2 = \frac{kT}{6r\pi\eta} \left(\frac{4\pi n}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \right)^2$$

Таким образом, зная сдвиговую вязкость, коэффициент преломления жидкости и δ_{C} , мы можем определить радиус частиц воды входящих в раствор.

- 1. Чайков Л.Л., Труды Физического имени Н.П. Лебедева, том 207, 84-115 (1991).
- 2. Фабелинский И.Л., Молекулярное рассеяние света, Москва, «Наука» (1965).

ИССЛЕДОВАНИЕ АВТОЭМИССИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КРЕМНИЕВЫХ КАНТИЛЕВЕРОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ПОКРЫТИЯМИ

Н.А. Дюжев, <u>М.А. Махиборода</u>, С.А. Гудкова ФГУП «НИИ Физических Проблем им. Ф.В. Лукина» E-mail: makhiboroda@maryno.net

Бурное развитие нанотехнологий последние годы требует использования все инструментов исследования новых оперирования микро- и нанообъектами. В данной работе описан пример применения кантилеверов для СЗМ в качестве источников электронных пучков высокой плотности. Это открывает новые возможности многочисленные области применения зондовой микроскопии.

Ранее нами сообщалось о моделировании и экспериментальном исследовании автоэлектронной эмиссии из кремниевых микроавтокатодов [1-3]. В настоящей работе мы излагаем результаты экспериментальных исследований полевой эмиссии, в которых в качестве эмиттеров применялись кремниевые кантилеверы для СЗМ.

В экспериментах использовались кантилеверы со следующими параметрами:

Длина кристалла, мм3.6=	± 0,01
Ширина кристалла, мм1.6±	= 0,01
Высота кристалла, мм0,35	-0,45
Длина консоли, мкм(100-30	$0) \pm 5$
Ширина консоли, мкм	.35± 3
Толщина консоли, мкм(0,7-2,3)	<u> 15%</u>
Высота иглы, мкм	0-14
Диаметр основания иглы, мкм	.≤8
Радиус скругления острия, нм	.≤ 10

Помимо кремниевых использовались также кантилеверы с покрытиями Au, Pt, TiN, W_2C , CoNi и алмазоподобными пленками ($A\Pi\Pi$).

Исследования автоэмиссионных характеристик производились с использованием специально разработанной оснастки. Исследовались диодный и триодный режимы включения катода. Измерения производились при техническом вакууме с давлением остаточных газов 10^{-6} мм. рт. ст.

В диодном режиме к кристаллу кантилевера, установленному на проводящей подставке, подводился металлический анод, закрепленный на подвижном зонде. Расстояние между вершиной иглы кантилевера и анодом составляло 200–300 мкм. На рис. 1 представлена типичная ВАХ

эмиссионного тока, полученная в диодном режиме. Пороговое напряжение (по уровню регистрируемого тока \sim 10 нA) составляло $1\div1,5$ кВ при первом включении и снижалось после непродолжительной тренировки до напряжений менее 1 кВ. Электрическое поле на вершине катода $E=\beta U$ при напряжениях $U\sim$ 1÷5 кВ учетом геометрического фактора

$$\beta \sim \frac{1}{H} \left(\frac{h}{\rho}\right)^{1-\nu}$$

где $v=0.5 \ln^{-1}(2/\theta)$, достигает по оценке порядка $10\div50$ МВ/см в согласии с имеющимися литературными данными (см., например, [4]). При этом наблюдаемые значения тока с единичного катода составляют более 5 мкА, что соответствует плотности тока около $10^6 \, \text{A/cm}^2$. Зависимость тока от напряжения имеет типичный экспоненциальный характер.

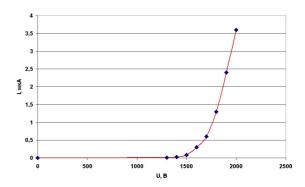


Рис.1. Вольтамперная зависимость катодного тока.

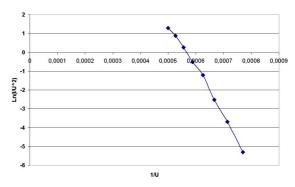


Рис.2. ВАХ в координатах Фаулера-Нордгейма.

Как подтверждение автоэмиссионной природы исследуемого тока на рис. 2

представлена вольтамперная зависимость, построенная в координатах Фаулера-Нордгейма.

Изучались также долговременные эмиссионные характеристики кантилевера. При токе на уровне ~1 мкА наблюдалась стабильная эмиссия в течение нескольких часов. Флуктуационные колебания тока не превышали 30 нА. Типичная временная зависимость катодного тока представлена на рис. 3.

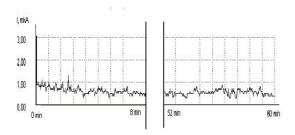


Рис. 3. Долговременная зависимость эмиссионного тока.

Также были проведены исследования кантилеверов до и после получения эмиссии на растровом электронном микроскопе. РЭМ-анализ исследуемых образцов выявил характерную деградацию вершины иглы кантилевера в процессе отбора эмиссионного тока. На рис. 4 приведены соответствующие РЭМ-изображения.

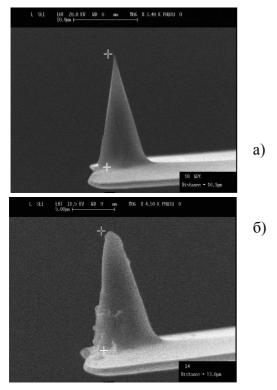


Рис. 4. РЭМ-изображение иглы кантилевера до (а) и после (б) эмиссии.

Экспериментально было установлено, что деградация иглы в процессе эмиссии уменьшается при использовании кантилеверов с тугоплавким покрытием. Так наибольшую стабильность эмиссионного тока и наименьшую степень деградации показали кантилеверы с покрытием из TiN и АПП

Мы склонны считать, что наблюдаемая деградация иглы кантилевера обусловлена совокупностью факторов, приводящих к разогреву эмиттера при прохождении эмиссионного тока и его бомбардировке Присутствие заряженными частипами. многих из данных факторов определяется электрических напряжений, величинами используемых в данных опытах. В связи с этим, в настоящее время мы проводим опыты исследованию низковольтной автоэлектронной миссии на сверхмалых зазорах, контролируемых при помощи пьезосканеров АСМ.

Таким образом, нами была получена автоэлектронная эмиссия со стандартных кантилеверов для СЗМ. Были исследованы разнообразные эмиссионные характеристики и установлена возможность получения высоких плотностей токов с одиночных эмиттеров. Иглы кантилеверов продемонстрировали высокую эмиссионную эффективность и достаточную стабильность эмиссионного тока.

- Н.А. Дюжев, С.А. Гудкова, М.А. 1. Махиборода, В. А. Федирко, Исследование эмиссионных свойств кремниевых катодов различной геометрии, в сб.: Вакуумная наука материалы техника, XII научнотехнической конференции участием зарубежных специалистов (ред. B.A. Быкова), МИЭМ, Москва., 221-224 (2005).
- 2. V. A. Fedirko, S. V. Polyakov and N. A. Djuzhev, Numerical simulation of field emission from a semiconductor wedge nanotip, Technical Digest of the 18th International Vacuum Nanoelectronics Conference (10-14 July 2005, Oxford, UK) IEEE, 93-94, ISBN 0-7803-8397-4 (2005).
- 3. Дюжев Н. А., Тишин Ю. И., Федирко В. А., Электронная промышленность: наука, технология, изделия, № 3, 55-58 (2004).
- 4. Papers from the 14th Intern. Vacuum Microelectronic Conf. Journ. of Vacuum Sciennce and Technology, JVST B 21, № 1, 337-630 (2003).

ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ СКАНИРУЮЩИХ ЗОНДОВЫХ МИКРО-СКОПОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

В.Е. Мезрин

OOO «Старт инноваций» mezrinv@rambler.ru

Начало сканирующей зондовой микроскопии положили Бининг и Рорер, создав в начале 80-х годов прошлого столетия первый сканирующий туннельный микроскоп.

Приборы оказались очень востребованными в науке, а потому последние 25 лет были отмечены быстрым развитием техники для сканирующей зондовой микроскопии. За это время произошел переход от кустарно сделанных микроскопов к приборам, выпускаемым серийно. На данный момент лидерами в этой отрасли являются такие компании, как Veeco (США), JPK (Германия), HT-МДТ (Россия), NanoSurf (Швейцария), Agilent (США). Компании производят различные микроскопы, но лучшие микроскопы для целей биологии и медицины производят компании JPK, Veeco и HT-МДТ. Рассмотрим производимые ими приборы.

Прибор NanoWizard II компании JPK был детально проработан для проведения длительного эксперимента. Наличие или отсутствие этой возможности зачастую оказывается критично. Необходимо отметить, что для проведения длительных экспериментов доработана лишь аппаратная часть микроскопа, отвечающая непосредственно за сканирование образца. При этом прибор не может помочь исследователю при контроле и изменении среды, в которой находится образец.



Рис. 1. Прибор компании ЈРК.

Приборы BioScope SZ и BioScope II компании Veeco примечательны тем, что способны сканировать большие области поверхности образца. Эта возможность является необходимой для применения микроскопа в биологии и медицине, так как размеры био-

логических объектов зачастую достигают значительных размеров.





Рис. 2. Приборы компании Veeco.

Прибор ИНТЕГРА ВИТА компании НТ-МДТ является качественным микроскопом, построенным на базе сканирующей зондовой лаборатории ИНТЕГРА по модульному принципу. Благодаря этому прибор может быть легко доработан и в результате полностью соответствовать нуждам исследователя.



Рис. 3. Прибор компании НТ-МДТ.

Перечисленные выше приборы являются хорошими сканирующими зондовыми микроскопами, но, как показывают опросы исследователей, особенности проведения экспериментов в биологии и медицине создают необходимость в приборах, отличных от этих по ряду параметров. Необходимо создать прибор, который будет способен без вмешательства человека на протяжении длительного времени контролировать ход эксперимента, а также необходимо создавать приборы с более открытой архитектурой. Последняя особенность особенно критична для научных исслелований.

МЕТОДИКА ИЗУЧЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ И БИОПОЛИМЕРОВ

Е.А. Меньшиков, А.В. Большакова

Физический факультет MГУ им. М.В. Ломоносова emenshikov@gmail.com

Изучение биополимеров на данный момент является одной из актуальных задач науки. Наиболее важные биополимеры — ДНК и белки — являются сополимерами, молекулы которых содержат звенья мономеров различного химического состава. Для того, чтобы понять механизмы процессов, происходящих в биополимерах необходимо детально изучить свойства синтетических сополимеров.

Целью данной работы было создание методики, позволяющей наиболее полно изучить процессы микрофазового расслоения в пленках блок-сополимеров: полистирол-полибутадиен-полистирол (СБС) и полистирол-полиметилакрилат-полистирол (СМАС), на основе анализа данных, полученных методами атомно-силовой (АСМ) и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ).

Исследованы пленки СБС блоксополимера с массовым содержанием полистирола 85%, 50%, 30%, а также СМАС блоксополимера с массовым содержанием полистирола 50%, 33%, приготовленные методом прямой адсорбции на слюде, кремнии и графите.

Сканирование пленок СБС блоксополимеров проводили в контактном режиме. Ввиду того что использование контактного режима приводит к изменению морфологии поверхности пленок СМАС блоксополимера, сканирование проводили в резонансном режиме АСМ. Для обоих режимов АСМ получены оптимальные параметры сканирования, обеспечивающие максимальное контрастирование фаз, обусловленное различием их механических характеристик.

Для количественного описания влияния природы подложек на эффект микрофазового расслоения разработаны и реализованы алгоритмы расчета среднего размера доменов и периода ламеллярной структуры. Использование фурье-анализа позволило устранить макрорельеф поверхности пленок блоксополимеров на полученных АСМ изображениях и достичь универсальности применения разработанных алгоритмов.

Таким образом, разработана комплексная методика, позволяющая качественно и коли-

чественно изучить механизмы микрофазового расслоения.

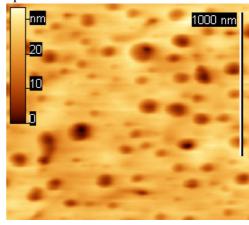


Рис. 1. Изображение доменной структуры пленки СБС (ПС 85%)

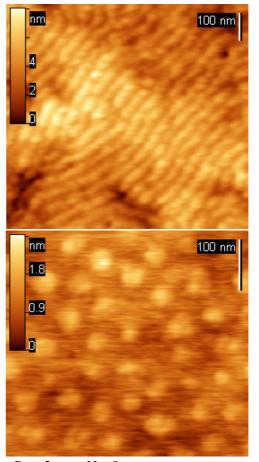


Рис. 2. Изображения ламеллярной ([ПС]:[ПМА]=1:1) и доменной ([ПС]:[ПМА]=1:2) структуры пленки СМАС.

ОБРАЗОВАНИЕ НИТЕВИДНЫХ СТРУКТУР ЖЕЛАТИНА НА СЛЮДЕ В ПРИСУТСТВИИ СОЛИ AgNO₃

<u>Г.Б. Мешков</u>², Л.В. Сотникова¹, И.В. Яминский 2 1 Кемеровский государственный университет 2 Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова meshkov@polly.phys.msu.ru

Использование желатина в различных сферах человеческой деятельности насчитывает более чем двухсот летнюю историю. С середины XIX века желатин применяют для создания капсул для упаковки лекарств, а также для получения фотоэмульсий, фоточувствительных слоев и фотоматериалов. Желатин представляет собой результат денатурации животного белка коллагена при нагревании в водной среде.

Коллаген является одним из основных элементов соединительной ткани в организме животных. На долю коллагена приходится почти 30% всей массы белков во взрослом организме у млекопитающих. Молекула коллагена обычно имеет молекулярную массу около 300 тыс., длину 300 нм, и ширину 1.5 нм, и состоит из трех цепей скрученных в спираль. Цепи между собой связаны в основном электростатическими и гидрофобными связями. Поэтому при нагревании в водных растворах коллаген распадается на отдельные цепи с образованием желатина. При этом происходит гидролиз некоторых ковалентных связей, поэтому раствор желатина представляет собой раствор свободно плавающих цепей, составных частей коллагена.

Основная биологическая роль коллагена — это образование фибрилл, которые выполняют основные опорно-механические функции в различных типах соединительной ткани. Коллаген также является основой органического матрикса костных тканей. Исследуют коллаген обычно или на молекулярном уровне, то есть отдельные белковые молекулы, или его упаковку и структуру в составе соединительной, костной и других типов тканей.

Получаемый из коллагена желатин широко используют в различных областях промышленности, например, для изготовления фотоматериалов, а также в фармацевтической и пищевой промышленности, где он используется в составе различных продуктов питания в качестве желирующего агента. В пищевой промышленности возможно исследовать взаимосвязь микроструктуры различных типов желатина и вкусовых характеристик получаемого продукта.

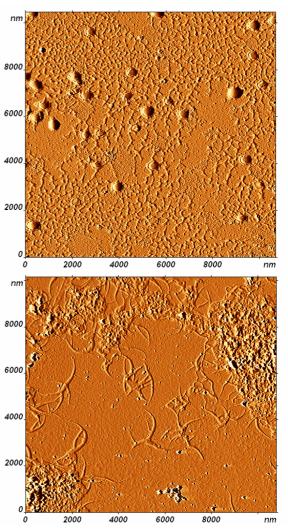


Рис. 1. Изображение фотографически инертного желатина, нанесенного на поверхность слюды из водного раствора концентрацией 10^{-4} М (сверху) и из водного раствора концентрацией 10^{-4} М с добавлением 0.1 М раствора $AgNO_3$. Изображение получено в резонансном режиме сканирования ACM, применен фильтр боковой подсветки.

В фармацевтике желатин широко применяют в качестве оболочки капсул для лекарственных препаратов. Различные модификация желатиновой оболочки обеспечивают возможность доставки лекарственных препаратов в определенные части организма. Совсем недавно был предложен способ доставки терапевтических генов с помощью наночастиц желатина по кровеносной системе до

раковой опухоли. Такой метод является менее токсичным по сравнению с доставкой генов при помощи молекул ДНК.

При изготовлении фотоматериалов основным используемым свойством желатина является его способность к образованию равномерных пленок, поэтому влияние окружающего желатина на рост и форму светочувствительных микрокристаллов. Однако необходимо учитывать влияние окружения на форму вырастающих микрокристаллов, с целью подбора условий для повышения их светочувствительности.

На рис. 1 приведены изображения фотографически инертного желатина, нанесенного на поверхность слюды из водного раствора (сверху), и из водного раствора с добавлением AgNO₃ (снизу). Видно, что в первом случае желатин образует достаточно равномерную при используемой концентрации пленку, тогда как при добавлении соли происходит изменение структуры желатина с образованием нитевидных объектов, которые по высоте не превышают 2 нм. Мы полагаем, что получающиеся объекты состоят из желатина, поскольку могут быть легко разрушены кантилевером.

Одной из основных задач при разработке фотоматериалов является повышение светочувствительности выращиваемых микрокристаллов. Перспективными в этом направлении являются простая химическая модификация получающихся кристаллов, а также повышение чувствительности за счет введения красителей, которые образуют Ј-агрегаты на поверхности микрокристаллов. При модификации поверхности микрокристаллов с помощью красителей светочувствительность получающихся фотослоев повышается в несколько десятков раз. Для эффективной модификации фоточувствительных слоев таким способом необходимо научиться контролировать процесс образования Ј-агрегатов различных красителей на поверхности микрокристаллов. На наш взгляд здесь достаточно эффективными представляются методы сканирующей зондовой микроскопии.

В докладе представлены различные особенности структуры нанесенных из водных растворов на поверхность слюды тонких пленок желатина. Рассмотрен вопрос влияния на получаемые пленки различных солей, в том числе, AgNO₃, а также комплексных ионов Ag в KBr.

На рис. 2 приведено увеличенное изображение структур, получаемых при нанесении

желатина из водного раствора на слюду с добавлением AgNO₃. На верхнем кадре приведена топография поверхности. Наблюдаемые нитевидные структуры равномерны по высоте и не превышают 2 нм. На нижнем кадре приведена фазовая картина, несущая в себе информацию об адгезионных свойствах поверхности. Видно, что вокруг интересующих нас структур присутствует материал, обладающий иными адгезионными свойствами, но не выделяющийся по высоте на фоне общего рельефа основной части поверхности.

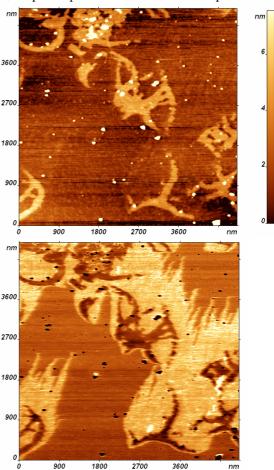


Рис. 2. Изображение фотографически инертного желатина, нанесенного на поверхность слюды из водного раствора с добавлением AgNO3. Изображение получено в резонансном режиме сканирования ACM, сверху – топография, снизу – фазовая картина.

Все измерения проводились на сканирующем зондовом микроскопе ФемтоСкан (ООО НПП «Центр перспективных технологий», Россия). Использовались резонансные кантилеверы марки fpN11S (НИИФП, Россия).

Работа выполнена при поддержке Российской академии наук и Федерального агентства по науке и инновациям.

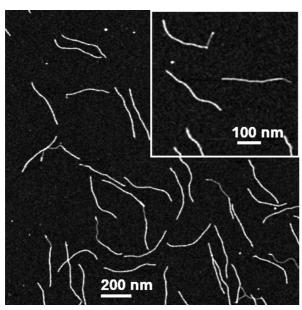
ИЗМЕРЕНИЕ ПЕРСИСТЕНТНЫХ ДЛИН МОЛЕКУЛ ДНК МЕТОДАМИ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

<u>А.Г. Михайлов</u>, В.В. Дёмин, В.В. Прохоров, Д.В. Клинов Институт биоорганической химии им. М.М Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН andrian@list.ru

ДНК является носителем генетической информации. Сейчас активно ведутся исследования этих молекул с помощью электронной и сканирующей зондовой микроскопии. Последний метод наиболее удобен, так как является более быстрым и простым.

Одна из важнейших задач — определение физических свойств молекулы, таких как жёсткость или связанная с ней персистентная длина.

Нами были исследованы структурные параметры молекул ДНК. Было выяснено, что триплексы при нанесении на поверхность более стабильны, в то время как двуцепочечная ДНК заметно сжимается.



Puc.1. Триплексы (PolyG-PolyG-PolyC) на поверхности слюды.

Персистентная длина — это параметр полимерной молекулы, характеризующий её жёсткость. Ранее было показано [1], что этот параметр в растворе составляет \sim 50 нм, в то время как на поверхности слюды он \sim 30 нм (вследствие взаимодействия с поверхностью) [2].

Нами были проведены измерения на молекулах двухцепочечной ДНК и триплексов при разных условиях нанесения и на разных подложках — на слюде и на графите. Был обнаружен интересный эффект: молекула имеет общую персистентную длину, но при этом на малых длинах молекула имеет изгибы, соответствующие персистентной длине ~7 нм. Этот эффект сильно зависит от типа используемой для нанесения молекул поверхности. На поверхности слюды он также проявляется, но в меньшей степени.

Возможно, ранее этот эффект не был замечен из-за низкого разрешения. Нами были получены изображения с высоким разрешением (1 нм) благодаря специальным зондам, созданным в нашей лаборатории. Радиус кривизны острия таких зондов соответствует приблизительно 1 нм.

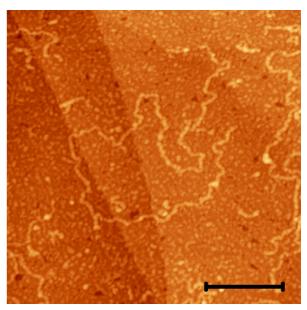


Рис.2. Молекула двухцепочечной ДНК на поверхности графита (HOPG). Масштаб соответствует 100 нм.

В дальнейшем планируется изучить подробнее этот эффект и набрать статистику на разных полимерных молекулах.

- 1. Paul A. Wiggins, Thijn Van Der Heijden, Fernando Monero-Herrero, Andrew Spakowitz, Rob Phillips, Jonathan Widom, Cees Dekker and Philip C. Nelson. Hight flexibility of DNA on short length scales probed by atomic force microscopy. Nature Nanotechnology, vol 1, 137-141 (2006).
- 2. А.Ю. Гросберг, А.Р. Хохлов, Статистическая физика макромолекул, Москва, «Наука» (1989).

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ МИТОХОНДРИЙ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ НЕЙТРОНОВ

Т.Н. Муругова¹, В.И. Горделий^{1,2,3}, А.И. Куклин¹, А.И. Иваньков¹, И.М. Солодовникова⁴, В.И. Юрков⁴, Л.С. Ягужинский⁴

¹ Лаборатория нейтронной физики им. И.М. Франка, ОИЯИ, г. Дубна

² IBI-2, Forschungszentrum Juelich 52425, IBI-2 Germany

³ Центр биофизики и физической химии надмолекулярных структур, МФТИ

⁴ Институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, МГУ им. М.В.Ломоносова

tatiana.murugova@mail.ru

Известно, что набухание клеток, органелл, бактерий вызывает специфические структурные и функциональные перестройки в их мультиферментных системах.

Такую перестройку называют механизмом объемной регуляции. Объемная регуляция была обнаружена в митохондриях. В частности, обнаружено, что изменение объема матрикса регулирует окисление жирных кислот и других субстратов [1, 2]. Низкоамплитудное набухание матрикса вызывает повышение скорости транспорта электрона по электрон-транспортной цепи, а также изменения в рН-регуляции транспорта калия и кинетических параметров окислительного фосфорилирования [3-6]. Подобные функциональные изменения сопровождаются перестройкой внутренней митохондриальной мембраны и образованием так называемых "сухих крист" с малым зазором между мембранами, образующими кристу [3].

Ранее с помощью электронной микроскопии было показано, что при набухании митохондрий в условиях гипоксии внутренняя митохондриальная мембрана формирует трехмерные гексагональные структуры [7]. Электронная микроскопия не всегда дает однозначный результат, так как образец может быть изменен в процессе фиксации, и наблюдаемая картина зависит от метода фиксации [8]. Поэтому для получения ясной информации мы использовали метод малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН), который позволяет изучать нативные митохондрии.

Эксперименты по малоугловому рассеянию нейтронов на функционирующих митохондриях крысы были проведены на спектрометре ЮМО, расположенном на импульсном реакторе ИБР-2 (Объединенный институт ядерных исследований, Дубна) [9]. Митохондрии помещались в изотоническую и гипотоническую среды, рН = 7.5. С помощью термостата в кюветах поддерживалась температура 15°С. После МУРН экспериментов была проверена дыхательная активность митохондрий. Проверка показала, что после

облучения нейтронами митохондрии сохраняют дыхательную активность и способность создавать мембранный потенциал [10].

МУРН эксперименты с митохондриями печени крысы показали структурный переход внутренней мембраны от неупорядоченной в изотонических условиях к упорядоченной ламеллярной в гипотонических условиях ("сухие кристы") упаковке. С помощью МУРН было определено расстояние между центрами мембран, образующих "сухую кристу". Оно составило 190 Å [10].

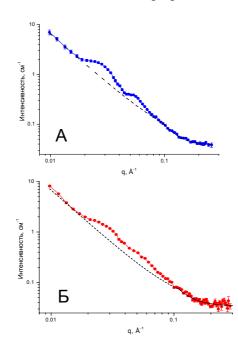


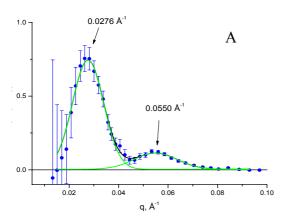
Рис. 1. Зависимость интенсивности рассеяния нейтронов от вектора рассеяния q для митохондрий сердца крысы, помещенных в изотоническую (A) и гипотоническую (Б) среды. Пунктирной линией показана монотонная составляющая интенсивности.

МУРН эксперименты с митохондриями сердца крысы показали переход внутренней мембраны от упорядоченной ламеллярной (в изотонических условиях) к упорядоченной неламеллярной (в гипотонических условиях) структуре [11]. Некоторые кривые малоуглового рассеяния для митохондрий сердца

представлены на рис.1. Монотонная составляющая интенсивности представлена нами в виде степенной функции аq°+b. На рисунке она изображена пунктирной линией. Пики были выделены из общей интенсивности рассеяния путем вычитания монотонной составляющей из экспериментальной интенсивности. Выделенные пики представлены на рис.2. Пики были аппроксимированы следующей функцией:

$$y_0 + \frac{A}{w \cdot \sqrt{\pi/2}} e^{-\frac{2(q-q_m)^2}{w^2}},$$

где y_0 и A – константы, w – ширина пика, а q_m – положение максимума пика.



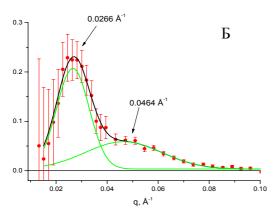


Рис. 2. Пики, выделенные из малоугловых кривых рассеяния для митохондрий сердца крысы, помещенных в изотоническую (А) и гипотоническую (Б) среды. Пики получены путем вычитания их экспериментальной интенсивности рассеяния монотонной составляющей интенсивности.

В случае изотонической среды малоугловая кривая имеет пики с соотношением позиций максимумов 1:2:3, что указывает на упорядоченную ламеллярную структуру. В случае гипотонической среды пики имеют соотношение позиций ~1:1.7. Такие пики могут

наблюдаться при рассеянии на гексагональной фазе (которая дает пики с соотношением $1:3^{1/2}:2$) или на кубической фазе Ia3d $(1:2^{1/2}:3^{1/2})$ [12, 13]. Имеющиеся данные электронной микроскопии говорят в пользу образования гексагональной фазы [7].

Таким образом, эксперименты по малоугловому рассеянию нейтронов показали, что при низкоамплитудном набухании матрикса имеют место качественные изменения в упаковке внутренней митохондриальной мембраны. Эти изменения коррелируют с функциональными перестройками. Упорядоченная ламеллярная структура крист обеспечивает более высокую эффективность работы системы окислительного фосфорилирования.

Этот тип структуры появляется в митохондриях печени крысы при стрессе (гипотонические условия). В сердечных митохондриях в случае стресса внутренняя мембрана формирует неламеллярную структуру (предположительно гексагональную).

- 1. Halestrap A.P., Dunlop J.L., Biochem J., 239, 559 565 (1986).
- 2. Halestrap A.P., Biochem J., 244, 159 164 (1987).
- 3. Красинская И.П., Литвинов И.С., Захаров С.Д., Бакеева Л.Е., Ягужинский Л.С., Биохимия, 54, 1550 1556 (1989).
- 4. Krasinskaya I.P., Marshansky V.N., Dragunova S.F., Yaguzhinsky L.S., FEBS Letters, 167, 176 180 (1984).
- 5. Garlid K.D., Biochem. and Biophys. Res. Communs., 83, 1450 1455 (1978).
- 6. Brierley G.P., Jurkowitz M.S., Farooqui T., Jung D.W., J.Biol. Chem., 259, 14672 14678 (1984).
- 7. Сапрунова В.Б., Бакеева Л.Е., Ягужинский Л.С., Цитология, 45, 1073 1083 (2003).
- 8. Hall J., Crane F., J. Cell. Biol., 48, 420 425 (1971).
- 9. Kuklin A.I., Islamov A.Kh., Gordeliy V.I., Neutron News, 16, 16 18 (2005).
- 10. Муругова Т.Н., Горделий В.И., Куклин А.И., Ковалев Ю.С., Юрков В.И., Нюренберг А., Исламов А.Х., Ягужинский Л.С., Биофизика, 51, 1001 1006 (2006).
- 11. Муругова Т.Н., Горделий В.И., Куклин А.И., Солодовникова И.М., Ягужинский Л.С., Кристаллография, 52, 568 571 (2007).
- 12. Seddon J.M., Biochim. Biophys. Acta, 1031, 1 69 (1990).
- 13. Lindblom G., Rilfors L., Biochim. Biophys. Acta, 988, 221 256 (1989)

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДНК-ГИДРОЛИЗУЮЩИХ АНТИТЕЛ С НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

<u>Т.А. Невзорова</u>, О.А. Коновалова, Е.С. Городничева, Д.С. Налимов, М.Х. Салахов

Казанский государственный университет им. В.И.Ульянова-Ленина Tatyana.Nevzorova@ksu.ru

Известно, что некоторые антитела (АТ) способны проявлять ферментативную активность. Такие АТ получили название абзимы, или каталитические АТ. Природные абзимы были обнаружены в сыворотке крови больных аутоиммунными заболеваниями. Вопрос о происхождении, биологической роли, механизме катализа абзимами пока остается открытым. Среди природных каталитических АТ особый интерес представляют АТ к ДНК с ДНК-гидролизующей активностью, так как они могут принимают самое непосредственное участие в патогенезе этих заболеваний.

Для изучения механизма действия ДНКгидролизующих АТ используются различные методы, однако они позволяют определять только конечные продукты реакции гидролиза ДНК абзимами и не дают возможности получать информацию о кинетике взаимодействия макромолекул.

Целью данной работы явилось изучение методом атомно-силовой микроскопии взаимодействия абзимов к ДНК класса IgG с одно- и двуцепочечными нуклеиновыми кислотами при одном из широко распространенных аутоиммунных заболеваний человека неизвестной этиологии — системной красной волчанке.

В работе использовали ДНКгидролизующие AT к ДНК класса IgG, выделенные из сыворотки крови больных системной красной волчанкой. В качестве субстрата использовали двуцепочечную суперскрученную плазмидную ДНК pBR-322 и ДНК эритроцитов цыплят, а также одноцепочечную РНК дрожжей. Исследуемые образцы нуклеиновых кислот инкубировали с антителами при +37°C в течение 9-48 ч. Визуализацию нуклеиновых кислот и АТ на слюде или пиролитическом графите проводили в полуконтактном режиме на воздухе при комнатной температуре на ACM Solver P47H, сканер 50 мкм, или Solver Pro, сканер 3 мкм, и кремниевыми кантилеверами NSG11 (3AO "HT-МДТ", Россия).

Показано, что АТ к ДНК являются эндонуклеазами и производят однонитевые разрывы в молекулах ДНК. Методом АСМ зарегистрировано образование стабильного иммунного комплекса АТ-ДНК, размеры которого превышают размеры отдельных макромолекул ДНК и АТ. Показано, что ДНКазная активность АТ к ДНК отличается от обычных ДНКаз непроцессивным характером действия и при взаимодействии абзимов с ДНК сначала происходит взаимодействие по механизмам, характерным для образования иммунных комплексов антиген-АТ, а в дальнейшем проявляются ферментативные свойства АТ. Однако, в отличие от обычных ДНКаз, после гидролиза фосфодиэфирной связи не происходит освобождения АТ от молекулы ДНК. Таким образом, применение АСМ позволило получить трехмерные изображения комплексов ДНК-антитело с нанометровым разрешением и дало возможность установить механизм действия абзимов к ДНК на ДНК и доказать непроцессивный характер действия АТ.

При использовании в качестве антигена одноцепочечной РНК, исходя из результатов флюоресцентной спектрофотометрии, было сделано предположение, что АТ к ДНК из сыворотки крови больных СКВ на стадии ремиссии, частично гидролизуя РНК, способствуют образованию двуспиральных структур в субстрате. Методом АСМ было обнаружено, что на поверхности подложкипирографита закрепились не только одноцепочечные молекулы РНК, но и более широкие структуры, образованные РНК и АТ.

Полученные результаты могут служить основой для исследований нуклеиновых кислот методом АСМ и проблем ферментативной активности АТ при аутоиммунных заболеваниях человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке и на оборудовании Федерального центра коллективного пользования "Физикохимические исследования веществ и материалов" (г. Казань).

ИССЛЕДОВАНИЕ САМООРГАНИЗАЦИИ НАНОРАЗМЕРНЫХ КРЕМНИЕВЫХ НАНОКРИСТАЛЛИТОВ В НЕУПОРЯДОЧЕННЫХ СТРУКТУРАХ С РАЗЛИЧНОЙ ЭНЕРГИЕЙ СВЯЗИ НА МЕЖФАЗНОЙ ГРАНИЦЕ С ПОМОЩЬЮ АТМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Д.В. Нефедов

Cаратовский филиал Института радиотехники и электроники PAH nefedov_dv@rambler.ru

С помощью атомно-силовой микроскопии были исследованы условия формирования наноразмерных кристаллитов кремния (квантовых точек) в плазме СВЧ газового разряда низкого давления на некристаллических подложках с различными типами взаимодействия на межфазной границе. Показано влияние параметров режима осаждения, материала подложки и упругих напряжений на межфазной границе на кинетику самоорганизации нанокристаллитов и возможность управления их размерами и поверхностной концентрацией.

Измерения проводились на атомносиловом микроскопе производства NT-MDT. Режимы сканирования:

площадь скана: 7×7 мкм²;

- 1. шаг сканирования: 200 Å;
- 2. скорость сканирования: 6000 Å/с;
- 3. исследуемые материалы: наноразмерные кремниевые включения на поверхности стекла.

Получение кремниевых наноразмерных кристаллитов осуществлялось на различных некристаллических подложках методом разложения моносилана в плазме СВЧ газового разряда низкого давления в магнитном поле в установке, описанной в работе [1]. СВЧ мощность, вводимая в источник плазмы, составляла 250 W. Толщину осажденных кремниевых пленок определяли с использованием эллипсометрического лазерного и интерференционного микроскопов. Микротопография поверхности изучалась с помощью сканирующего атомно-силового микроскопа (АСМ). Исследованы зависимости размеров и поверхностной концентрации кремниевых наноостровков от параметров режима осаждения: температуры подложки, потенциала на подложкодержателе, давления плазмообразующего газа и времени осаждения.

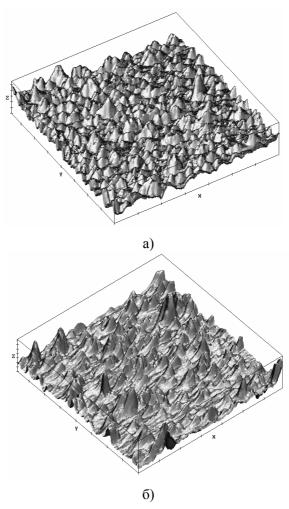


Рис. 1. Типичные ACM — изображения микротопографии наноразмерных кристаллитов кремния, осажденных при давлении моносилана 1 Па в течении 20 и 30 с, приведены на рис. 1а), 1б), соответственно.

Список литературы:

1. Былинкина Н.Н., Муштакова С.П., Олейник В.А. и др. Письма в ЖТФ 22, С. 43-46 (1996).

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИИ ПОВЕРХНОСТИ ТОНКИХ ПЛЕНОК Fe/SiO₂/Si(100) И Fe/Si(111) МЕТОДАМИ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Ю.В. Никулин

Capamoвский филиал ИРЭ PAH, г. Capamoв juretz@rambler.ru

Тонкие пленки железа на полупроводниковых подложках активно исследуются в связи с фундаментальными проблемами магнетизма в системах пониженной размерности, а также в связи с возможным применением таких объектов в устройствах наноэлектроники, в частности спинтроники.

На сегодняшний день со стороны исследователей много внимания уделялось изучению электронной и кристаллической структуры интерфейса систем Fe/Si(111) и Fe/Si(100)[1-7], а также созданию и исследованию свойств силицидных структур, в частности островковых силицидов железа[8], полученных при напылении на горячую подложку или в результате отжига.

Несмотря на активное изучение системы железо-кремний, исследования морфологии поверхности тонких пленок Fe методом атомносиловой микроскопией практически не выполнялись. Целью данной работы стало исследование методом атомно-силовой микроскопии морфологии поверхности ультратонких пленок железа в диапазоне толщин от 2 до 12 нм, полученных осаждением из молекулярного пучка в сверхвысоком вакууме.

После извлечения из вакуумной камеры проводилось исследование морфологии поверхности выращенных пленок методом атомносиловой микроскопии (Solver P47). Измерения проводились в полуконтактной моде при скорости сканирования 270·103Å/с. Размер сканов для математической обработки выбирался размером 1 мкм². Параметры шероховатости определялись с использованием встроенного математического обеспечения атомно-силового микроскопа. Далее через PtP обозначается параметр шероховатости пленки, равный перепаду высот поверхности максимум-минимум, через RMS - среднеквадратичную шероховатость, а под Lkorr - некоторый характерный размер неоднородности поверхности пленки, определенный по положению первого минимума автокорреляционной функции поверхности. Исследования показывают, что в диапазоне толщин 20-50 Å величина RMS составляет около 2 Å как для пленок Fe/SiO2/Si(100), так и для Fe/Si(111). Перепад высот PtP на площади 1 мкм² составляет около 20 Å в обоих случаях. Отдельные зерна, составляющие пленку, слабо различимы (рис.1) и их размер составляет приблизительно 20–30 нм.

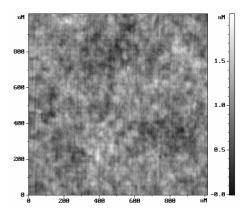


Рис. 1. Типичное изображение поверхности пленки $Fe/SiO_2/Si(100)$ и Fe/Si(111) в диапазоне толщин 20-40 Å.

При увеличении толщины (до 60-70 Å) происходит резкое увеличение величин PtP и RMS для пленок Fe/Si(111) и довольно плавное увеличение этих величин для Fe/SiO $_2$ /Si(100). Для системы Fe/Si(111) в районе 65 Å происходит качественное изменение структуры поверхности, сопровождающееся скачком шероховатости приблизительно в 4 раза для PtP и в 8 раз для RMS.

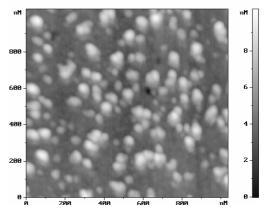


Рис. 2. Изображение поверхности пленки Fe/Si(111) толщиной 70 Å.

Структура поверхности при этом меняется от ровной и однородной к шероховатой — островковообразной (рис. 2). Для системы Fe/SiO2/Si(100) в районе 50-70 Å

происходит плавное изменение структуры поверхности, сопровождающееся увеличением шероховатости приблизительно в 1,5 раза для перепада высот максимум-минимум (PtP) и в 3 раза для среднеквадратичной шероховатости (RMS). Структура поверхности пленки плавно изменяется от ровной и однородной к шероховатой (рис. 3), но никакого подобия островковой структуры для системы Fe/SiO2/Si(100) не наблюдается.

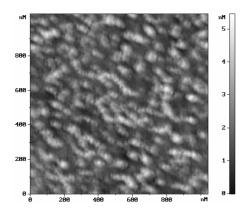


Рис. 3. Изображение поверхности пленки ${\rm Fe/SiO_2/Si(100)}$ толщиной 70 Å.

Подводя итог сказанному, можно сделать вывод, что шероховатость поверхности пленок Fe/Si(111) и Fe/SiO₂/Si(100) с ростом толщины в целом немонотонно увеличивается. Пленки Fe/Si(111) при выбранной скорости роста 1 А/мин демонстрируют трехмерный способ роста и обладают рельефом поверхности в виде кластеров со средними латеральными размерами от 20 нм до 120 нм и высотой до нескольких нанометров. Кластеры формируются не с начальных этапов образования пленки, а после образования покрытия толщиной 60 Å. Расчет характерных размеров неоднородностей, образующих поверхность пленки, показывает, что в случае роста пленки на аморфной подложке SiO₂/Si(100) изменение размера зерна в интервале толщин 20-120 Å в среднем практически не происходит (рис.4). Разброс размеров неоднородностей составляет от 20 до 50 нм. В то время как для пленок Fe/Si(111) происходит резкое, практически линейное, увеличение размеров неоднородности от 20 нм до 120 нм. Значительное изменение зерна происходит размеров ДЛЯ Fe/Si(111) после образование покрытия толщиной 50 Å.

Методом атомно-силовой микроскопии проведено исследование морфологии поверхности пленок и определены параметры шероховатости поверхности – перепад высот

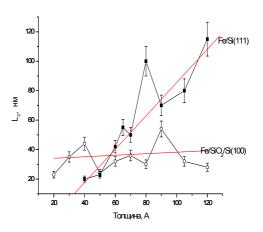


Рис. 4. Зависимость среднего размера неоднороднисти поверхности пленки от толщины.

максимум-минимум, среднеквадратичная шероховатость и средний размер зерна на поверхности пленки. Показано, что пленки Fe/SiO₂/Si(100) в целом обладают меньшими значениями шероховатости и размеров зерен, составляющих пленку. Для системы Fe/Si(111) обнаружено скачкообразное увеличение параметров шероховатости при толщине пленки около 60Å.

Работа поддержана грантом РФФИ 06-07-89341.

- 1. Alvarez J., Hinarejos J.J., Physical review B., V. 45, p. 14042-14051 (1992).
- 2. Gallego J. M., Garsia J.M., Alvarez J., Miranda R., Physical. Rew. B, V. 46, p. 13339-13344 (1992).
- 3. Wang M.H., Chen L. J., Appl. Phys. Lett., V. 62, P.1603-1605 (1993).
- 4. Kläsges R., Carbone C., W. Eberhardt, C. Campuch, O. Rader, T. Kachel, Phys. Rev. B., Vol. 56, p. 10801-10808 (1997).
- 5. Гомоюнова М. В., Малыгин Д. Е., Пронин И. И., Физика твердого тела, том 48, стр. 1898-1902 (2006).
- 6. Von Känel H., Mäder K. A., Müller E. et al., Phys. Rev. B., V. 45, p.13807-13810 (1992).
- 7. Zhu Qi-G., Iwasaki H., Williams E.D., Park R.L. J.Appl. Phys., V. 60, p. 2629-2631 (1986).
- 8. Molnar G., Dozsa L., Peto G., Vertesy Z., Koos A.A, Horvath Z.E, Zsold E., Thin solid films, V. 459, P. 48-52 (2004).

ИССЛЕДОВАНИЕ ОДНО- И ДВУХСЛОЙНОГО ГРАФЕНА МЕТОДАМИ ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ И МИКРОСКОПИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

E.A. Образцова², Е.Д. Образцова², И.В. Яминский¹, С. Лефран³, Г. Луарн³

1 – Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

2 – Институт общей физики РАН им. А.М. Прохорова

3 - Institut des Matériaux Jean Rouxel kobr@polly.phys.msu.ru

Углерод и его модификации играют особую роль в живой природе. В бионаноскопии графит является одной из основных подложек для нанесения образцов.

После того как был предложен способ [1] получения одиночных слоев графита — графена — этот материал является объектом все возрастающего интереса. Графен является двумерной структурой, состоящей из атомов углерода, на основе которой формируются все другие графитоподобные материалы: 0-мерные фуллерены, 1-мерные нанотрубки и 3х-мерный графит. В настоящее время сразу несколько научных групп проводят экспериментальное исследование квантовых, электронных, оптических и т.д. свойств графена [2, 3, 4, 5].

В данной работе представлены результаты исследования одно- и двухслойного графена методами комбинационного рассеяния света (КРС) и сканирующей электронной микроскопии. В экспериментах использовался графен, произведенный Graphene Industries. Данные результаты были получены на участках образца, охарактеризованных производителем как однослойные. Однако, исследование образца методом сканирующей электронной микроскопии показало (Рис.1), что даже эти области не являются однородным по толщине



Рис. 1. СЭМ изображение хлопьев графена, нанесенных на кремниевую подложку.

На рис.2 представлены характерные спектры КРС одно-, двухслойного графена а также высоко-ориентированного пиролитического графита (ВОПГ). В спектрах наблюда-

ются две характерные полосы: ~1580 см⁻¹, соответствующий G полосе графита и ~2700 см⁻¹, описываемая как удвоенный обертон D полосы. Структурные различия между одно-и многослойным графеном оказывают основное влияние на D' полосу. При увеличении числа слоев эта линия сдвигается в сторону более высоких частот. Кроме того, уже для двухслойного графена происходит уширение и расщепление этой линии.

В результате проведенного исследования можно заключить, что графен является уникальным материалом, изменяющим свою электронную структуру при изменении количества слоев, что может быть зарегистрировано с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния света.

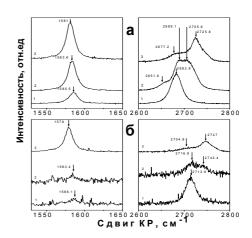


Рис. 2. спектры КР: 1 — однослойный графен; 2 — двухслойные графен; 3 — ВОПГ. Длина волны возбуждения:

a - 514.5 нм, 6 - 457.8нм.

Работа была поддержана Агентством Роснауки, INTAS (грант 05-109-4966) и РФФИ - 07-02-01505.

- 1. Novoselov K. et al., Science, 306, 666(2004).
- 2. Novoselov K. et al., Nature, 438, 197 (2005).
- 3. Graf D. et al., Nano Lett, 7, 238 (2007).
- 4. Gupta A. et al., Nano Lett., 6, 2667 (2006).
- 5. Ferrari A.C. et al., Phys. Rev. Lett., 97(2006) 187401.

ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАКРОМОЛЕКУЛ МЕТОДОМ АТОМНО–СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

М.Н. Савватеев

3AO «HT-MДТ», г. Зеленоград mihail.savvateev@mail.ru

Атомно-силовая микроскопия (ACM) в настоящее время является одним из методов изучения структурных особенностей биологических макромолекул (белков, ДНК), поскольку позволяет получать изображения объектов с высоким пространственным разрешением, сопоставимым с уровнем рентгеноструктурного анализа и просвечивающей электронной микроскопии [1–3]. Одним из преимуществ метода АСМ перед другими методами является возможность проведения исследований молекул в условиях, близких к нативным, поскольку АСМ позволяет исследовать молекулы как в воздушной среде, так и буферных растворах.

Для исследования сухих образов наилучшим образом подходит «полуконтактный» метод. При начальной амплитуде колебаний зонда в диапазоне нескольких нанометров средняя сила воздействия зонда на образец оказывается порядка единиц наноньютонов [4]. Это обеспечивает возможность получения изображений таких деликатных объектов, как молекулы, с пространственным разрешением на уровне нескольких нанометров (рис. 1).

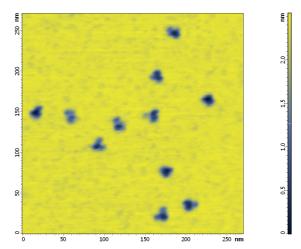


Рис. 1. ACM изображение молекул антител 1RK2 к А-цепи рицина (IgG1), полученное на сухом образце.

При измерениях сухих образцов в воздушной среде существенную роль играет выбор рабочей амплитуды колебаний (рабочей точки) – получаемое изображение зависит от

режима взаимодействия зонда с образцом (рис. 2). Другим важным фактором является острота иглы зонда. Наилучшее разрешение достигается при использовании зондов «нановискерного» типа.

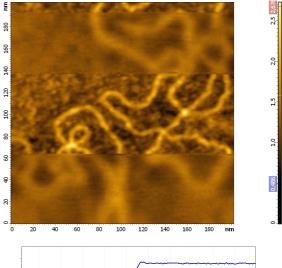




Рис. 2. Изображение молекулы ДНК на слюде, полученное «полуконтактным» методом, и амплитудная зависимость для этого изображения.

На амплитудной зависимости присутствует переход между двумя режимами взаимодействия зонда с поверхностью: область амплитуд до перехода соответствует режиму притяжения, область амплитуд после перехода — режиму отталкивания. Данное изображение иллюстрирует влияние режима взаимодействия на результат: менее четкие участки получены в режиме притяжения, более четкие — в режиме отталкивания.

Исследование макромолекул в жидкой среде представляет собой более сложную за-

дачу. При использовании «полуконтактного» метода с акустическим возбуждением в жидкости резонансные свойства зонда существенно снижены по сравнению с воздухом, и сила, оказываемая зондом АСМ на объект измерения, оказывается на порядок больше [5]. Поэтому для измерений биологических макромолекул в жидкости приходится использовать контактные АСМ-зонды с жесткостью не более 1 Н/м (рис. 3).

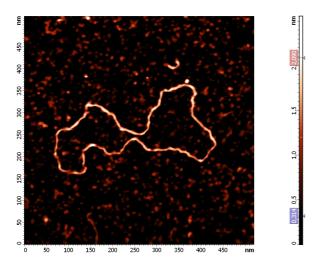


Рис. 3. ACM изображение кольцевой плазмидной ДНК pEGFP, полученное «полуконтактным» методом в буферном растворе. Для закрепления молекулы на поверхности слюды в буфер были добавлены ионы никеля. Использовался зонд из нитрида кремния жесткостью 0.4 Н/м, который раскачивался на частоте 9 КГц.

Различие во взаимодействии колеблющегося зонда с поверхностью на воздухе и в жидкости заключается в том, что на воздухе зонд начинает отклоняться только после полного прекращения колебаний, в то время как в жидкости зонд отклоняется сразу по мере уменьшения амплитуды. Из этого следует, что в жидкости уменьшение рабочей точки приводит к увеличению силы воздействия зонда на образец (рис. 4).

Как показывает практика, при работе полуконтактным методом в жидкости оптимальная начальная амплитуда колебаний зонда оказывается порядка 10 нм, рабочая амплитуда (рабочая точка) — 0.8 - 0.9 от начальной амплитуды. При меньших рабочих точках возникает генерация, а на изображении появляются артефакты.

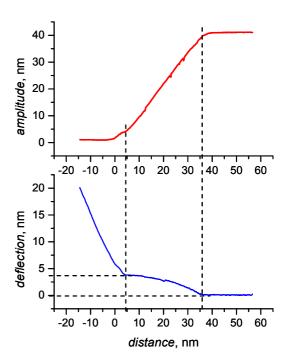


Рис. 4. Зависимости амплитуды колебаний и отклонения зонда от расстояния зонд — поверхность в воде.

Автор благодарит сотрудников НИИ Трансплантологии и Искусственных Органов И.И. Агапова и Е.А. Тоневицкого за предоставленные образцы и информационную поддержку.

- 1. Малюченко Н.В., Тоневицкий А.Г., Савватеев М.Н., Биофизика, т. 48, вып. 5, стр. 830-836 (2003).
- 2. Savvateev M.N., Kozlovskaya N.V., Moisenovich M.M., AIP Conference Proceedings, V. 696, P. 428 (2003).
- 3. Savvateev M.N., application note "AFM study of macromolecules' structure and organization", Интернет сайт компании НТ-МДТ (www.ntmdt.ru).
- 4. Garcia R., Paulo S.A., Phys. Rev. B. V.60. P.4691-4697 (1999).
- 5. Tamayo J., Humphris A. D. L., Owen R. J. and Miles M. J., Biophysical Journal V. 81, P. 526 (2001).

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСА ГРИППА С АНАЛОГОМ КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА БЕЛКОМ ФЕТУИНОМ С ПОМОЩЬЮ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

А.С. Сальников, Б.Н. Зайцев, А.Б. Рыжиков ФГУН ГНЦ ВБ Вектор Роспотребнадзора sas salnikov@mail.ru

Вирус гриппа, ввиду своей изменчивости, ежегодно вызывает вспышки новых заболеваний. Изменчивость вируса гриппа обусловлена, в том числе, и изменениями в оболочечном белке гемагглютинине.

Инфицирование клеток вирусом гриппа начинается с взаимодействия вирусных частиц с клеточными рецепторами с последующим эндоцитозом вируса внутрь клетки.

Различия в оболочечном белке гемагглютинине обуславливают различия во взаимодействии вируса с клеткой.

Одним из параметров, характеризующих взаимодействие вируса с клеткой (клеточными рецепторами), является равновесная константа диссоциации.

Широкое распространение получили работы по изучению взаимодействия вируса с аналогами клеточных рецепторов: как с целью моделирования природных условий взаимодействия, так и для разработки лекарственных препаратов (основанных на ингибировании связывания вируса с клеткой). Одним из таких аналогов клеточных рецепторов, специфичных к вирусу гриппа, является белок фетуин.

Работа посвящена исследованию взаимодействия вируса гриппа с фетуином методом атомно-силовой микроскопии и методом Скэтчарда в условиях равновесия системы «лиганд—рецептор» [1].

Для штаммов вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2) и A/NIB/23/89M (H1N1) были определены равновесные константы диссоциации методом Скэтчарда, оказавшиеся равными, соответственно, $0.64*10^{-10}$ М и $0.56*10^{-10}$ М.

Для исследования взаимодействия вируса гриппа с фетуином вирус гриппа был иммобилизован на поверхности полистирола 96-луночного микропланшета (рис.1), а на кантилевер был иммобилизован фетуин [2].

С помощью атомно-силового микроскопа были определены силы взаимодействия штаммов A/Aichi/2/68 и A/NIB/23/89М вируса гриппа с аналогом клеточного рецептора белком фетуином (рис.2), равные соответственно 240 рN и 264 рN.

Представленные штаммы вируса гриппа имеют близкие значения сил взаимодействия с фетуином и близкие константы диссоциации. В то же время оба параметра, константа диссоциации и сила взаимодействия, показывают, что связь штамма A/Nib 23/89M с фетуином более прочная, чем связь с фетуином штамма A/Aichi/2/68. Это подтверждает корреляцию между силами взаимодействия и равновесными константами [3].

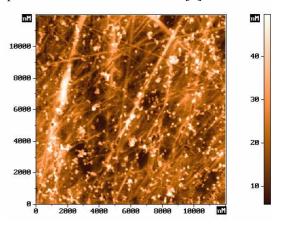


Рис.1 Вирионы вируса гриппа на волокнах полистирола 96-луночного микропланшета.

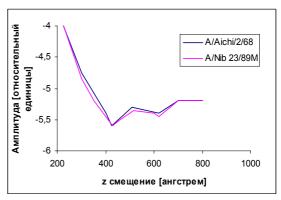


Рис. 2 Силы взаимодействия штаммов вируса гриппа с аналогом клеточного рецептора белком фетуином.

- 1. Gambaryan A.S., Tuzikov A.B., Virology, 232, 345-350 (1997).
- 2. Lilia A. Chtcheglova, George T. Shubeita, Biophysical Journal, 86, 1177–1184 (2004).
- 3. Falk Schwesinger, Robert Ros, PNAS, 97, 9972–9977 (2000).

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АНТИТЕЛ С ВИРУСАМИ РАСТЕНИЙ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРЫ

Целью исследования являлось определение количественных характеристик взаимодействия вирус-антитело с применением методов иммуноферментного анализа и поверхностного плазмонного резонанса.

В работе изучено взаимодействие поликлональных специфических антител с тремя вирусами растений: вирусом крапчатости гвоздики (carnation mottle virus — CarMV), вирусом X картофеля (potato virus X — PVX) и вирусом табачной мозаики (tobacco mosaic virus — TMV).

Иммуноферментный анализ (ИФА) позволяет, используя меченные ферментом соединения, детектировать по каталитической активности метки образование иммунных комплексов и на основании этих данных рассчиколичественные характеристики взаимодействия. В работе был использован подход, предложенный Friguet и соавт. [1] и позволяющий определять равновесную константу реакции антиген - антитело в растворе. Пример получающихся зависимостей оптической плотности продукта ферментативной реакции (ОП 450 нм) от концентрации вируса приведен на рис.1. Предварительно были оптимизированы условия, исключающие сдвиг равновесия в растворе при взаимодействии антител с иммобилизованным антигеном.

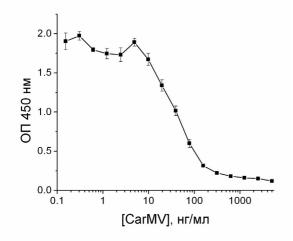


Рис.1 Концентрационная зависимость взаимодействия вируса CarMV с антителами, полученная методом ИФА

Расчет значений Кд (равновесной константа диссоциации) проводили для популя-

ций антител с максимальной аффинностью. Необходимо отметить, что в силу поливалентности вируса как антигена, обусловленной наличием повторяющихся белковых субъединиц в оболочке, Кд следует рассматривать как эффективную величину, характеризующую суммарный вклад во взаимодействие отдельных антигенных детерминант (эпитопов) на поверхности вирусной частицы. В соответствии с этим Кд зависит от количества эпитопов, связанных с антителами в состоянии равновесия.

Рассчитанные по данным иммуноферментного анализа эффективные значения Кд для вирусной частицы как целого антигена составили:

CarMV
$$- (2,7-4,7)x10^{-12}$$
 M;
PVX $- (0,3-1,0)x10^{-12}$ M;
TMV $- (0,2-1,7)x10^{-12}$ M.

Разброс значений отражает разные способы линеаризации данных [2]. Пример линеаризации приведен на рис.2.

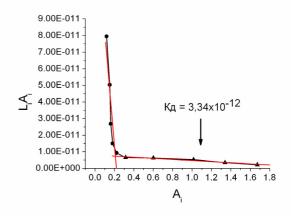


Рис.2 Линеаризация данных для CarMV, полученных методом ИФА, для нахождения Кд по формуле LiAi = Kдх(Ao-Ai), где Li – концентрация антигена (моль/л), Ao – оптическая плотность в отсутствие конкурирующего антигена, Ai – оптическая плотность, когда концентрация конкурирующего антигена равна Li (при этом получаем линейную зависимость с тангенсом угла наклона, равным Кл)

Второй подход к изучению взаимодействия вирус-антитело заключался в прямой регистрации формируемых комплексов методом поверхностного плазмонного резонанса

(ППР). На приборе «ВІАсоге X» в режиме реального времени было исследовано взаимодействие как иммобилизованных антител с вирусами, так и иммобилизованных вирусов с антителами.

В первом случае на поверхность стандартного чипа СМ5 иммобилизовали антивидовые антитела, затем вводили специфические антитела (рис.3) в постоянной концентрации, далее — соответствующий вирус, и через определенное время пропускали регенерирующий раствор, который оставлял на поверхности чипа только антивидовые антитела. Во втором случае на чипе иммобилизовали вирус и регистрировали его взаимодействие с антителами. Для обеих схем оптимизировали скорость потока, время взаимодействия, концентрации вводимых веществ.

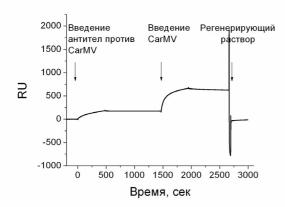


Рис.3 Сенсограмма взаимодействия иммобилизованных на чипе антител с вирусом CarMV

Для трех исследованных вирусов были сняты сенсограммы (рис.4, 5) при одних и тех же концентрациях антител и варьировании концентраций вирусов в диапазоне 10^{-1} - 10^2 мкг/мл.

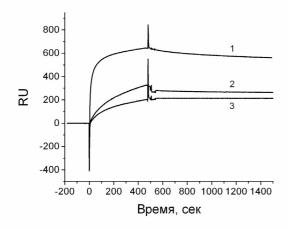


Рис.4 Сенсограммы взаимодействия иммобилизованных антител с вирусами (100 мкг/мл): 1-CarMV, 2-TMV, 3-PVX

Полученные значения Кд, измеренные с помощью ППР, для целой вирусной частицы близки к приведенным выше Кд, измеренным методом ИФА. По данным ППР получены следующие значения Кд:

CarMV – 1,55x10⁻¹² M, χ^2 = 3,76; TMV – 7,31x10⁻¹² M, χ^2 = 2,47.

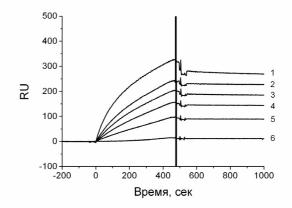


Рис.5 Сенсограммы взаимодействия иммобилизованных антител с TMV в концентрациях: $1-100~\rm mkr/mn$, $2-40~\rm mkr/mn$, $3-30~\rm mkr/mn$, $4-20~\rm mkr/mn$, $5-10~\rm mkr/mn$, $6-1~\rm mkr/mn$

Уточнение физико-химических характеристик взаимодействия вирус-антитело в значительной степени зависит от корректного определения количества эпитопов на поверхности вирусных частиц, способных связываться с антителами. Одним из эффективных подходов для характеристики этой величины может быть визуализация комплекса вирус-антитело современными методами микроскопии, в том числе атомно-силовой микроскопии. Методы атомно-силовой микроскопии были успешно применены для исследования вируса табачной мозаики и вируса Х картофеля в работах [3, 4]., что свидетельствует об эффективности данного подхо-

Исследования поддержаны грантом РФФИ-06-04-08290-офи-а.

- Friguet B., Chafotte A.F., Djavadi-Ohaniance L., Goldberg M.E., J. Immunol. Methods, 77, 305-319 (1985).
- 2. Бобровник С.А., Укр. біохім. журн., 71, 90-102 (1999).
- 3. Kiseleva O.I., Yaminsky I.V., Karger E.M., Frolova O.Yu., Dorokhov Y.L., Atabekov J.G., J. Gen. Virol., 82, 1503-1508 (2001).
- 4. Karpova O.V., Zayakina O.V., Arkhipenko M.V., Sheval E.V., Kiseleva O.I., Poljakov V.Yu., Yaminsky I.V.,Rodionova N.P., Atabekov J.G., J. Gen. Virol., 87, 2731-2740 (2006).

ДЕФЕКТЫ НА ПОВЕРХНОСТИ ГРАФИТА – ОСНОВНОЙ ПОДЛОЖКИ В БИОНАНОСКОПИИ

О.В. Синицына, Г.Б. Мешков, И.В. Яминский

Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова PAH sinitsyna@gmail.com

Одной из заманчивых перспектив использования сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ) является возможность исследования и модификации структуры биологических объектов, таких как молекулы белков и ДНК, на атомном уровне.

Для успешного применения метода изучаемые объекты необходимо фиксировать на поверхности. На сегодняшний день наиболее распространенной гидрофобной подложкой является графит. Он обладает рядом пре-имуществ по сравнению с другими подложками. Во-первых, при его сколе образуются инертные атомно-гладкие поверхности значительной протяженности. Во-вторых, графит является проводящей подложкой. Втретьих, образцы пиролитического графита высокого качества в настоящее время коммерчески доступны.

СЗМ-исследования показали, что на поверхности графита может быть обнаружено большое число видов дефектов [1]. В истории СЗМ есть ряд примеров, когда дефекты на подложке были приняты за биологические объекты. Например, ступени скола были ошибочно интерпретированы как ДНК [2]. На рис. 1 представлено изображение межзеренных границ на поверхности графита, которые одним из авторов данной работы были идентифицированы как нанотрубки.

В докладе представлены результаты исследования поверхности высокоориентированного пиролитического графита (ВОПГ) с мозаичностью 0.4° и 0.8° (образцы предоставлены ООО «Атомграф АГ») методами сканирующей электронной, атомно-силовой и сканирующей туннельной микроскопии.

С помощью сканирующей электронной микроскопии установлены размеры кристаллитов в образцах графита, диаметр которых лежит в диапазоне от 2 до 10 мкм.

Зондовыми методами на поверхности ВОПГ визуализирован ряд дефектов: ступени скола, углеродные волокна, «звезды», муары, винтовые и краевые дислокации. По данным атомно-силовой микроскопии протяженность ступеней скола на единицу площади для графита обеих марок составила (1-3)·10⁻³ нм⁻¹.

С помощью сканирующего туннельного микроскопа обнаружены линейчатые струк-

туры, интерпретированные нами как ряды частичных дислокаций с векторами Бюргерса, параллельными базисной плоскости графита [0001].

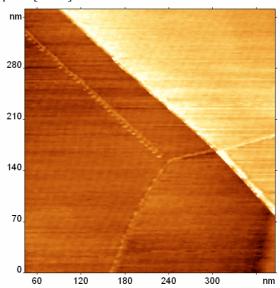


Рис. 1. Межзеренные границы на поверхности графита. Изображение получено с помощью сканирующего туннельного микроскопа.

Проведена аналитическая оценка глубины залегания частичных дислокаций. Показано, что при механическом воздействии иглы данные структуры могут перемещаться вдоль поверхности.

Наблюдаемая высота дислокационного ряда (1-2 Å) зависит от условий сканирования, и при увеличении туннельного напряжения происходит ее уменьшение. При больших значениях туннельного тока (~ 1 нА) для некоторых дислокационных структур наблюдалась инверсия контраста. Эти данные подтверждают предположение о том, что прохождение дислокаций приводит к изменению электронной структуры приповерхностных слоев, но почти не сказывается на топографии поверхности.

Работа выполнена при поддержке программы РАН ОХНМ-4.

- 1. Синицына О.В., Яминский И.В., Успехи химии, 75, 27 35 (2006).
- 2. Clemmer C.R., Beebe T.P., Science, 251, 640 642 (1991).

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ФОТОЛИЗА ЗРИТЕЛЬНОГО ПИГМЕНТА РОДОПСИНА В ФЕМТОСЕКУНДНОМ ДИАПАЗОНЕ ВРЕМЕН ПРИ ВОЗБУЖДЕНИИ БЕЛКА ИМПУЛЬСАМИ 500 И 560 НМ

Первичной реакцией процесса зрительной фототранслукции является 11-шис→транс изомеризация ретиналя, хромофорной группы зрительного пигмента родопсина. Благодаря белковому окружению эта реакция протекает крайне быстро и эффективно по сравнению с аналогичной реакцией растворе. Время образования продукта фотородопсина составляет 200 фс, а квантовый выход реакции $\varphi = 0.65$ [1, 2]. Высокая скорость изомеризации ретиналя, а также наличие осцилляций с частотой 60 см-1 в кинетиках образования фотородопсина и следующего продукта батородопсина [3]. явилось основой гипотезы о протекании реакции через нестационарные результате колебательные состояния В «конического пересечения» S_1 поверхностей потенциальной энергии. В реакции фотоизомеризации участвуют две колебательных группы высокочастотные нереактивные моды и низкочастотные (< 1000 см⁻¹) реактивные моды. Причем в работе [4] было показано, что чем больше длина волны возбуждения заселяются родопсина, тем больше реактивные моды. Целью нашей работы было экспериментально показать влияние длины волны возбуждения родопсина на заселение низкочастотных колебательных мод в ходе реакции.

В настоящей работе была проведена регистрация кинетик фотоиндуцированного поглошения родопсина фемтосекундной абсорбционной лазерной спектроскопии в диапазоне зондирования 420-750 HMпри возбуждении импульсами 500 и 560 нм. Было показано, что увеличение длины волны возбуждения на нм незначительно слвигает появления максимума полосы поглощения фотородопсина $(\Phi o T o_{570})$ И максимума выцветания отрицательной полосы основного состояния родопсина $(P_{500}).$ Фурье-анализ кинетик образования фото- и батородопсина (520-590 нм) показал, что

кроме наблюдаемых в работе [3] осцилляций с частотой 60 см-1 во временном диапазоне до 2 пс присутствуют также менее выраженные осцилляции с частотами 156, 250 и 320 см⁻¹. Близкие колебательные моды были получены исследовании молекулы родопсина спектроскопии малоуглового методом рамановского рассеяния [5]. Интересен тот факт, что амплитуды полученных осцилляций не зависят от длины волны родопсина. Фурье-анализ возбуждения кинетик восстановления основного состояния родопсина (420-520 нм) показал наличие ярко выраженных осцилляций с частотой 136 см-1, которые не наблюдались ранее в экспериментах c фемтосекундным временным разрешением. Амплитуда этих осцилляций сильно зависит от длины волны возбуждения родопсина и уменьшается более чем в два раза при переходе от возбуждения импульсами 560 к 500 нм. Также в работе была продемонстрирована зависимость фазы наблюдаемых осцилляций от длины волны возбуждения родопсина. Полученные колебательные моды 156, 250, 320 см⁻¹ в диапазоне 540-590 нм и 136 см⁻¹ в диапазоне 450-520 НМ дополняют данные. работе [3], представленные в отражая динамику энергии фотовозбуждения на S₁ потенциальной поверхности.

- 1. Schoenlein, R.W., Peteanu, L.A., Mathies, R.A., Shank, C.V., Science, 254, 412-417 (1991).
- 2. Kim J.E., Tauber M.J., Mathies R.A., Biochemistry, 40, 13774–13778 (2001).
- 3. Wang Q., Schoenlein R.W., Peteanu L.A., Mathies R.A., Shank C.V., Science, 266, 422-424 (1994).
- 4. Kim E.J., Tauber M.J., Mathies R.A., Biophysical Journal, 84, 2492-2501 (2003).
- 5. Loppnow G.R., Mathies R.A., Biophys. J., 54, 35-43 (1988).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУР ПОВЕРХНОСТНЫХ СЛОЕВ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

И.А. Никитина, М.Н. Стародубцева, Т. Г. Кузнецова, Н. И. Егоренков

Гомельский государственный медицинский университет marysta@mail.ru

Методы атомно-силовой микроскопии (ACM) предоставляют большие возможности для изучения клеток крови.

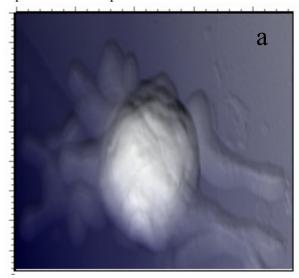
Мы изучали мембранные и подмембранные структуры лимфоцитов человека, фиксированных глутаровым альдегидом, с использованием атомно-силового микроскопа «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь) в контактном режиме сканирования. Особенностями используемого метода фиксации лимфоцитов на стеклянной поверхности являлись относительно непродолжительная адгезия (20 минут) и отсутствие в среде Ca²⁺.

После адгезии лимфоциты изменяют свою форму с шарообразной на куполообразную с явно видимыми структурами размером 0,5-1,5 мкм. Размер средних лимфоцитов в условиях опыта составил $7,80\pm1,10$ мкм (n=107), а малых $-4,15\pm0,34$ мкм (n=8). По результатам профилометрии поверхность средних лимфоцитов оказалась более гладкой по сравнению с поверхностью малых лимфоцитов.

Карта латеральных сил отображает особенности структуры мембранных и подмембранных слоев. Это связано c физикомеханическими взаимодействиями острия зонда АСМ с подмембранными структурами, в первую очередь цитоскелетом, который представлен микрофиламентами, образующими зону сгущения под плазмолеммой, и участвующими в процессах адгезии. На рис.1 представлены топография (а) и карта латеральных сил (б) лимфоцита. Квадратом выделена область, в которой отчетливо различаются структуры, расположенные поперечно направлению роста ламеллоподии.

Оценка фрактальной размерности поверхностных структур лимфоцитов позволяет охарактеризовать степень ее сложности, обусловленную функциональной активностью клеток. Для средних лимфоцитов фрактальная размерность составляет 2,73±0,09 (n=154), для малых – 2,85±0,04 (n=50). Различие фрактальной размерности для средних и малых лимфоцитов статистически достоверно на доверительном уровне 95%. Таким

образом, качественный и количественный анализ карт латеральных сил совместно с топографией разных групп лимфоцитов позволил выявить структурные особенности строения их поверхностных слоев.



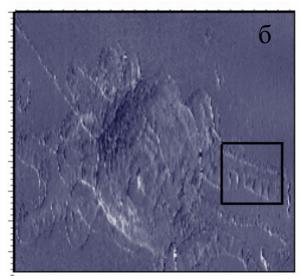


Рис. 1. Особенности структур ламеллоподий лимфоцитов: (а) топография, (б) карта латеральных сил. Размер изображения $8.5 \times 8.5~\mu m^2$.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ (Б07-043).

ИЗМЕРЕНИЕ ПЕРСИСТЕНТНОЙ ДЛИНЫ ДНК ПО АСМ-ИЗОБРАЖЕНИЯМ

Е.В. Дубровин, А.Д. Сушко, А.С. Филонов

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова sushko@polly.phys.msu.ru

В данной работе разработан и реализован алгоритм вычисления персистентной длины молекул по ACM изображениям. Проведен эксперимент по определению пресистентной длины одноцепочечной ДНК (полиаденина).

Персистентная длина — статистическая характеристика полимера, отражающая его выпрямленность. Это средняя контурная длина между двумя частями (звеньями) полимера, направления которых отличаются на 1 рад (57°). Она характеризует жесткость полимера.

Энергия, необходимая для того, чтобы два звена двумерной полимерной молекулы, удаленные друг от друга на расстояние l по цепи, были повернуты на угол θ относительно друг друга:

$$E = \frac{YI\theta^2}{2l}$$
, где Y — модуль Юнга, а

I — момент инерции молекулы [1]. Эти макроскопические механические свойства могут быть связаны с персистентной длиной молекулы P_a при помощи следующего уравнения [1]:

 $YI = k_{\scriptscriptstyle B} T P_{\scriptscriptstyle a}$, где $k_{\scriptscriptstyle B}$ — постоянная Больц- мана, а T — абсолютная температура.

С учетом этого формула для энергии переписывается в виде $E = \frac{k_B T P_a \theta^2}{2l}$.

В соответствии с формулой Больцмана можно записать нормированную функцию распределения углов изгиба молекулы и выражение для второго момента θ^2 по этому распределению имеет вид $\left<\theta^2(l)\right>_{2D} = \frac{l}{P}$.

По последней формуле можно, измерив $\left<\theta^2\right>$ и l, найти персистентную длину по наклону линейного участка графика $\left<\theta^2\right>\!\!(l)$.

Чтобы построить этот график, необходимо определить углы между направлениями сегментов цепи, удаленных друг от друга на определенные расстояния вдоль контура, а затем усреднить квадраты величин этих углов по всей совокупности данных.

В эксперименте исследовались образцы полиаденина (рА) на слюде, модифицированной при помощи APS. Исходный препарат рА имел широкое молекулярно-массовое распределение. Сканирование велось на микроскопе "Nanoscope-3a" (Digital Instruments, Santa Barbara, USA) в режиме прерывистого контакта.

Из полученного АСМ-изображения выделялась отдельная молекула ДНК в виде растровой кривой (т.е. в виде массива из N пар координат точек).

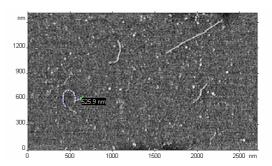


Рис. 1 АСМ-изображение ДНК

Кривая аппроксимировалась ломаной, узлы которой находились на одинаковых контурных расстояниях друг от друга. По подготовленным таким образом данным составлялся массив углов θ^2 для данной кривой, затем набиралась статистика и строился гра-

фик зависимости $\langle \theta^2 \rangle (l)$

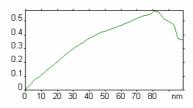


Рис. 2 Типичный вид графика $\langle \theta^2 \rangle (l)$

Вычисленная нами, таким образом, персистентная длина рА составляет 60нм.

Список литературы:

1. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М., Статистическая физика, ч.1, 431–435 (1976)

СИЛОВАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ МАКРОМОЛЕКУЛ

Н.В. Темкина, А.С. Филонов, И.В. Яминский

Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва OOO НПП «Центр Перспективных технологий», г. Москва temkina@polly.phys.msu.ru

Атомно-силовой микроскоп является мощным инструментом при исследовании свойств поверхности с высоким пространственным разрешением. Его широкое применение во многом обусловлено наглядностью получаемых результатов. Однако при использовании атомно-силового микроскопа в качестве сканирующего устройства нельзя получить информацию о силах взаимодействия внутри молекул и их структурных свойствах. Для этих целей был разработан метод силовой спектроскопии, позволяющий делать выводы о свойствах единичных макромолекул при их растяжении.

Суть эксперимента заключается в следующем: кантилевер и поверхность подложки модифицируются так, чтобы при помещении в раствор с исследуемым веществом макромолекулы образовывали устойчивые связи как с поверхностью, так и с кантилевером. После этого снимается зависимость силы взаимодействия между кантилевером и молекулой (F) от перемещения по вертикали пьезосканера (z) при подводе и отводе от поверхности - строится силовая кривая. Локальные минимумы на кривой отвода соответствуют конформационным переходам внутри молекулы, возникающим в результате ее растяжения. Эти действия повторяются в различных точках поверхности, таким образом, мы получаем серию кривых для исследуемых макромолекул при одинаковых условиях.

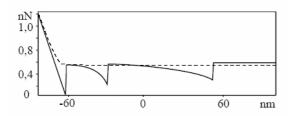


Рис. 1. Зависимость силы, действующей на молекулу со стороны зонда, от ее растяжения.

В сочетании с правильным анализом подобный эксперимент становится незаменимым при изучении структуры и упругих свойств макромолекул и молекулярных комплексов.

В данной работе для анализа результатов была выбрана персистентная модель полимерной цепи, в рамках которой верна следующая интерполяционная формула [1]:

$$f = \frac{k_B T}{L_p} \left(\frac{1}{4(1 - \frac{z}{L})^2} - \frac{1}{4} + \frac{z}{L} \right) ,$$

где персистентная длина молекулы L_p и контурная длина L — параметры, подбирая которые наилучшим образом, можно аппроксимировать каждый из участков монотонного растяжения силовой кривой, и тем самым, вычислить эти величины для данной конформации. Кроме того, непосредственно из кривой можно извлечь информацию о силах взаимодействия в точках конформационных переходов и сделать выводы об энергиях этих переходов.

Для расчета описанных выше величин в программе Фемтоскан Онлайн был разработан специальный модуль, дающий возможность последовательного выполнения необходимых для аппроксимации экспериментальной кривой операций. В первую очередь путем поиска локальных минимумов на силовой кривой производится выделение участков монотонного растяжения, на каждом из них поведение кривой может быть описано персистентной моделью с постоянными параметрами. На выделенных участках осуществляется градиентный поиск минимума функционала путем вариации параметров L_p и L.

Была проведена обработка серии силовых кривых для α -синуклеина, предоставленной медицинским центром университета Небраски. Расчеты дали среднюю величину для персистентной длины около 150 пм.

Разработанный программный модуль может быть эффективно использован при изучении явления перехода к неправильной упаковке белков, вызывающего серьезные неврологические заболевания.

Список литературы:

1. C. Bouchiat, M.D. Wang, J.-F. Allemand, T.Strick, S.M. Block, V. Croquette, Biophysical Journal, 76, 409-413 (1999)

СКАНИРУЮЩАЯ ТУННЕЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ УГЛЕРОДНЫХ НАНОКЛАСТЕРНЫХ ПЛЕНОК

И.Г. Торгашов

Саратовский филиал Института радиотехники и электроники PAH trg@soire.renet.ru

Пленочные углеродные эмиссионные наноструктурные материалы в настоящее время находят широкое применение в различных электронных устройствах [1]. В значительной степени физические, в том числе эмиссионные, свойства этих пленок определяются структурой их поверхности.

В данной работе рассматриваются основные особенности изучения поверхности нового перспективного автоэмиссионного материала — углеродных нанокластерных пленок (УНП). УНП синтезируются методом магнетронного распыления графита в аргоновой плазме. УНП содержат в своем составе значительное количество уникальных объектов — так называемых углеродных нанокластеров, которые, как показали исследования, представляют собой сфероидные агломераты плотно упакованных параллельно друг другу однослойных углеродных нанотруб (рис.1).

Исследования поверхности УНП проводились с помощью безвакуумного туннельного микроскопа модели СММ-2000Т в режиме постоянного тока.

С помощью туннельной микроскопии установлено, что макроскопические автоэмиссионные свойства углеродных нанокластерных пленок напрямую зависят от количества нанокластеров, приходящихся на единицу площади поверхности пленки. Показано, что нанокластерные пленки, обладающие хорошими автоэмиссионными свойствами, имеют на поверхности большое количество нанокластеров. Характерный вид поверхности таких УНП показан на рис. 2.

Кроме того, с помощью туннельной микроскопии установлена зависимость между рельефом УНП и технологическими параметрами их синтеза, такими как ток плазмы при синтезе, давление аргона, температура подложки.

Изучена зависимость морфологии пленки от материала используемой подложки.

Для улучшения эксплуатационных свойств автокатодов на основе углеродных нанокластерных пленок последние при синтезе подвергались легированию элементами IV группы. Как показано в [2], легирование этими элементами углеродных макромолекул, к которым можно отнести углеродные

нанотрубы, входящие в состав УНП, не приводит к изменению структуры макромолекул, но при этом существенно снижается их потенциал ионизации. Экспериментально было показано, что легирование элементами IV группы действительно снижает работу выхода УНП. С помощью туннельной микроскопии было изучено влияние легирования на структуру поверхности и размер нанокластеров УНП.

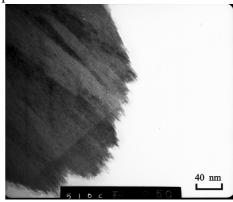


Рис. 1. Фотография с просвечивающего электронного микроскопа фрагмента углеродного нанокластера.

5µmx5µmx200nm

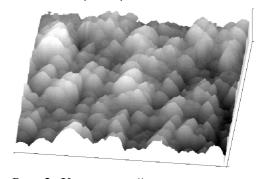


Рис. 2. Характерный вид поверхности углеродной нанокластерной пленки.

- 1. Гуляев Ю. В., Синицын Н. И., Жбанов А. И., Торгашов Г. В., Савельев С. Г., Жбанов И. Г., Волков Ю. В., Инженерная Физика, №1, С. 2-17 (2004).
- 2. Gulyaev Yu. V., Sinitsyn N. I., Glukhova O. E., Mevlyut Sh. T., Torgashov G. V., Torgashov I. G., Zbanov A. I. Technical Digest of 10th International Vacuum Microelectronics Conference, Kyongju, Korea, August 17-21, P. 523-526. (1997)

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

М.В. Трушин, В.М. Чернов, О.А. Чернова

Казанский институт биохимии и биофизики PAH mtrushin@mail.ru

Атомно-силовая микроскопия является одной из наиболее перспективных методик, нашедших свое применение во многих отраслях науки, включая биологию. Атомносиловая микроскопия позволяет проводить исследования на наноуровне, предоставляя исследователям уникальную возможность оценить ультратонкую структуру и свойства различных материалов, а также различных биологических объектов, начиная от отдельных биополимерных молекул и заканчивая целой клеткой [1].

Одним из наиболее интересных и перспективных направлений современной нанобиологии, проводимых с помощью метода атомно-силовой микроскопии, является исследование ДНК и нуклеопротеиновых комплексов.

Приготовление препаратов ДНК для исследования методом атомно-силовой микроскопии требует иммобилизации молекул ДНК на специальной положке, в качестве которой чаще всего используется слюда. Однако слюда, как и молекулы ДНК, имеет отрицательный заряд, и, чтобы преодолеть электростатическое отталкивание, поверхность слюды обрабатывают различными положительно заряженными веществами, в роли которых могут выступать соли двухвалентных металлов. а также кремнийорганические компоненты, в частности аминопропилтриэтоксисилан [2].

Для исследований нуклеопротеиновых комплексов в последнее время предложено использовать спермидин, трехвалентный полиамин, субмиллимолярные концентрации которого позволяют прикрепить ДНК к поверхности подложки при различных концентрациях хлорида натрия [3].

Еще одной отличительной чертой исследования ДНК и нуклеопротеиновых комплексов методом атомно-силовой микроскопии является относительная простота приготовления препаратов, а также особенность их долговременного хранения.

Микоплазмы (прокариоты, класс *Mollicutes*) – микроорганизмы с ограниченными биосинтетическими возможностями, кото-

рые, однако, не препятствуют этим бактериям занимать самые разнообразные экологические ниши [4]. Недавно нами было установлено, что при неблагоприятных условиях вегетативные клетки микоплазм могут превращаться в ультрамикроформы, характеризующиеся резким сокращением размеров клеток, а также изменением физиологических и биохимических особенностей клеток данных микробов [5]. Кроме того, нами было обнаружено, что патогенность ультрамикроформ микоплазм отличается от таковой у вегетативных клеток [6]. Мы предполагаем, что наблюдаемые явления должны иметь отражение в изменениях конформации генетического материала (изменение активности некоторых генов в процессе нанотрансформации вегетативных клеток микоплазм в ультрамикроформы обнаружено нами ранее -[7]). Для проверки этого предположения мы планируем использовать метод атомносиловой микроскопии.

- 1. Боровик А.С., Тарасова О.С., Большакова А. В., Яминский И. В. Успехи современной биологии, том 120, №2, 217-224 (2000).
- 2. Lyubchenko YL. Cell Biochemistry Biophysics, 41(1), 75-98 (2004).
- 3. Hamon L, Pastre D, Dupaigne P, Le Breton C, Le Cam E, Pietrement O. Nucleic Acids Research, 35 (8):e58 (2007).
- 4. Razin S, Yogev D, Naot Y. Microbiology Molecular Biology Reviews 62(4), 1094-1156 (1998).
- 5. Chernov VM, Mukhametshina NE, Gogolev IuV, Abdrakhimov FA, Chernova OA. Mikrobiologiia (Russian) 74(4), 498-504 (2005).
- 6. Chernov VM, Moukhametshina NE, Gogolev YV, Nesterova TN, Trushin MV, Chernova OA. The Scientific World Journal, 10; 7:1-6 (2007)
- 7. Chernov VM, Moukhametshina NE, Gogolev YuV, Nesterova TN, Trushin MV, Chernova OA. Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology, 14 (4), 369–376 (2006).

АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ, ПО-ЗВОЛЯЮЩИЙ ВИЗУАЛИЗИРОВАТЬ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ДНК, ВОЗНИКАЮЩИЕ ВСЛЕДСТВИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРО-МАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ЧАСТОТЫ 4-100 кГц НА БИОЛОГИ-ЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ

О.В. Трушина

Казанский государственный университет sylstal@mail.ru

Влияние так называемого «грязного» электричества на биологические объекты является крайне мало исследованным. Тем не менее, имеющиеся в настоящее время наблюдения позволяют говорить, что «грязное» электричество (электромагнитная энергия, проходящая по проводнику и отклоняющаяся от стандартной синусоидной волны 50/60 Гц) может быть причиной развития таких патологических состояний, как: учащенная пульсация, аритмии, чувство сдавливания в груди (со стороны сердечно-сосудистой системы); синусит и астматические состояния (со стороны дыхательной системы); катаракта и чувство жжения в глазах (со стороны системы анализаторов); зуд, покраснение и чувство жжения кожи (дерматологические эффекты). Кроме того, нервная система, как самая реактивная система нашего организма, в первую очередь реагирует на подобные воздействия такими проявлениями, как головные боли, головокружения, тошнота, бессоница, слабость, онемение конечностей, мышечные спазмы и суставные боли и рядом других расстройств, включая и когнитивные [1-5].

«Грязное» электричество является вездесущим поллютантом и может генерироваться компьютерами, а также различными электробытовыми приборами [3]. В связи с распространенностью данного фактора, проблемы оценки его эффектов с целью выработки рекомендаций по эффективной защите представляются особенно актуальными.

Любая цепь патологических нарушений начинается с изменений нормального функционирования генов и их комплексов. В свою очередь, причиной изменения нормальной работы генов могут служить изменения структуры и конформации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). О влиянии различных факторов физической природы (в последнее время исследователей особенно интересуют эффекты радиочастотного диапазона) на структуру генетического материала известно довольно много [6, 7], но, к сожалению, генетические эффекты «грязного» элек-

тричества до сих пор остаются неизвестными

Атомно-силовая микроскопия представляет уникальные возможности для исследования структуры ДНК [8], а также ее комплексов с ДНК-связывающимися белками [9].

Мы полагаем, что исследование структуры ДНК методом атомно-силовой микроскопии поможет выяснить особенности структурных и далее, как следствие, функциональных изменений генетического материала ряда биологических объектов, подвергнутых воздействию «грязного» электричества (частоты порядка 4-100 кГц).

- 1. Johansson O. Electromagnetic Biology and Medicine, 25, 245–258 (2006).
- 2. Havas M, Stetzer D. World Health Organization Workshop on Electrical Hypersensitivity 25–26 October 2004, Prague, Czech Republic (2004).
- 3. Havas M. Electromagnetic Biology and Medicine, 25, 259–268 (2006).
- 4. Graham M. Memorandum No. UCB/ERL M02/18. Electronics Research Laboratory, College of Engineering, University of California, Berkeley (2002).
- 5. Havas M, Illiatovitch M, Proctor C. 3rd International Workshop on the Biological Effects of Electromagnetic Fields, 4–8 October 2004, Kos, Greece (2004).
- 6. Brusick D, Albertini R, McRee D, Peterson D, Williams G, Hanawalt P, Preston J. Environmental and Molecular Mutagenesis, 32, 1-16 (1998).
- 7. Salford LG, Eberhardt JL, Malmgren L, Persson BRR, Environmental Health Perspectives, 111, 881-883 (2003).
- 8. Lyubchenko YL. Cell Biochemistry Biophysics, 41(1), 75-98 (2004).
- 9. Hamon L, Pastre D, Dupaigne P, Le Breton C, Le Cam E, Pietrement O. Nucleic Acids Research, 35 (8), e58 (2007).

ИССЛЕДОВАНИЯ ПОВЕРХНОСТНОЙ МОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ МЕТОДАМИ АСМ ПРИ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Л.В. Кухаренко¹, <u>Н. Г. Циркунова</u>², Т.В. Шман³, В.Е. Борисенко²

¹Белорусский государственный медицинский университет,

²Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники,

³Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии

Natali813@yandex.ru

В последнее десятилетие методы атомносиловой микроскопии (АСМ) нашли широкое применение в медико-биологических исследованиях.

Цель работы состояла в исследовании особенностей поверхностной морфологии цитоплазмотической мембраны эритроцитов методом ACM при остром лейкобластном лейкозе.

Исследования морфологии поверхности эритроцитов детей, больных острым лимфобластным лейкозом (рецидив) проводили на атомно-силовом микроскопе Ntegra Prima (НТ-МДТ, г. Зеленоград, Россия) в режиме прерывистого контакта на воздухе с использованием стандартных кремниевых кантилеверов (k=0,01-0,08 H/м). На поверхности свежесколотой слюды эритроциты фиксировались в 2,5 % глутаровом альдегиде в течение 40 мин. Затем образцы промывали фосфатным буфером и дегидратировали в 30 %, 50 %, 70 % и 96% этаноле в течении 5 мин (для каждой концентрации этанола).

Обнаружено увеличение размеров клеток. Диаметр эритроцитов составляет 9-10 мкм (рис. 1).

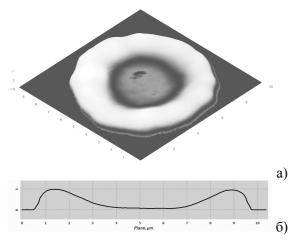
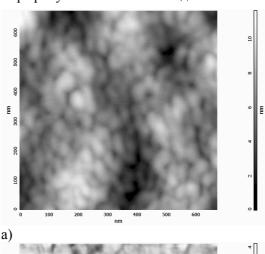


Рис. 1. ACM изображение эритроцита пациента с острым лимфобластным лейкозом a)3D изображение, б)профиль.

При уменьшении окна сканирования до 600 нм визуализируется гранулярная структура поверхности цитоплазматической мембраны эритроцита (рис. 2). Размер гранул составляет от 10 до 50 нм.



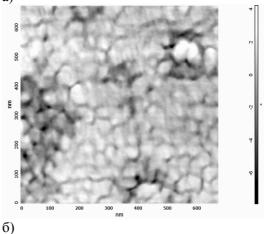


Рис. 2 а) ACM изображение участка поверхности цитоплазматической мембраны эритроцита, б) изображение фазового контраста того же участка поверхности мембраны.

Проведенные исследования позволили выявить морфофункциональные изменения эритроцитов при остром лимфобластном лейкозе. Изображение фазового контраста позволяет предположить наличие участков мембраны с различными упруговязкими свойствами.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ИММОБИЛИЗАЦИИ МОЛЕКУЛ ДНК НА СЛЮДЕ С ПОМОЩЬЮ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Т.И. <u>Шарипов</u>¹, Р.З. Бахтизин¹, Р.Р. Гарафутдинов² ¹Башкирский государственный университет ²Институт биохимии и генетики УНЦ РАН

Sha-T@yandex.ru

Атомно-силовой микроскоп стал мощным инструментом для исследования биологических макромолекул с момента его изобретения в 1986 г. Молекула ДНК, играющая важную роль в молекулярной биологии, интенсивно изучается помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ). В 1992 г. были опубликованы первые надежные и воспроизводимые результаты исследования ДНК методом АСМ [1]. Главной исследований успешности таких является иммобилизация молекул ДНК на атомно-гладкую поверхность.

При приготовлении образцов важно, чтобы исследуемые молекулы достаточно прочно фиксировались на подложке в расправленном состоянии.

Первые надежные результаты исследования ДНК методом атомно-силовой микроскопии были получены, когда изучаемые структуры наносили из капли рабочего раствора на поверхность слюды, модифицированной ионами двух- (и более) валентных металлов [2] (рис. 1а). Эти ионы, по-видимому, служат связующими мостиками между отрицательно заряженной

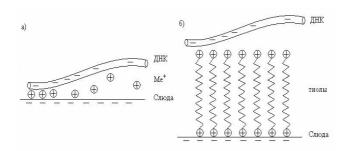


Рис. 1. Связывание молекулы ДНК и подложки: а) ионами металлов; б) пленкой тиолов или силанов.

слюдой (в водных растворах) и отрицательно заряженными фосфатными группами молекулы ДНК.

широко используемая Другая химической модификации подложки стабилизации молекул ДНК на поверхности силанизация слюды (рис. **1б**). Процесс силанизации заметно изменяет не топографических особенностей поверхности слюды - она остается достаточно гладкой, в то же время улучшается связь молекулы с модифицированной подложкой.

При подборе адекватной методики приготовления образцов атомно-силовой микроскоп представляет собой удобный и надежный прибор ДЛЯ исследования свойств биологических структур молекулярном уровне. Типичными артефактами при АСМ-исследованиях молекул ДНК являются завышенные латеральные размеры - 10-15 нм - и заниженные вертикальные – около 0,7 нм, в то время как диаметр одиночной молекулы ДНК около 2 нм. Завышение латеральных размеров обусловлено конечной величиной радиуса кривизны Причиной [3]. занижения вертикальных размеров может являться деформация молекулы под действием зонда.

 \mathbf{C} целью получения изображений молекул ДНК на слюде был перепробован ряд методик иммобилизации ДНК. Варьировались концентрация образцов и условия среды. первую очередь была проверена способность ионов двухвалентных металлов закреплять ДНК на поверхности. В качестве связующих катионов были опробованы катионы Mn^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} . Замечено, что наилучшими иммобилизующими свойствами обладает Mn^{2+} . даюший относительно воспроизводимые результаты.

Образцы были приготовлены следующим образом: свежесколотую слюду выдерживали в течение 40 мин. в мМ растворе MnSO₄. просушивали на воздухе и прикапывали на нее иммобилизационный раствор, содержащий 10 мМ MnSO₄ и 10 нг/мкл ЛНК (фрагменты двуцепочечной молекулы с «липкими» концами длиной 250 п.н.). Раствор выдерживали на слюде в течение 10 мин. Затем смывали 2 раза водой по 100 мкл, сушили. После этого помещали в эксикатор – досушивали над Р₂О₅. На полученном изображении (рис. 2) наблюдаются кольцевые структуры.

«Загрузка» поверхности (плотность иммобилизованных молекул) оказывается

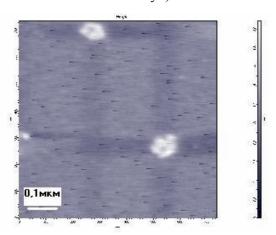


Рис. 2. Изображение в полуконтактном режиме фрагментов ДНК с «липкими» концами, иммобилизованных на слюде, модифицированной катионами Мп.

достаточной для наблюдения отдельных молекул. Поскольку образцы представляют собой фрагменты ДНК с «липкими» концами, то вполне обоснованным является образование этих кольцевых структур.

При исследовании λ -ДНК на поверхность подложки наносили каплю иммобилизационного раствора, содержащего 2,5 мМ MnSO₄ и 1 нг/мкл молекул λ -ДНК, представляющих собой длинные (свыше 10000 п.н.) последовательности нуклеотидов, затем высушивали при комнатной температуре в течение 1 часа.

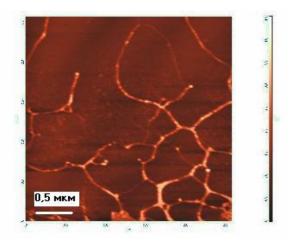


Рис. 3. Изображение в полуконтактном режиме λ -ДНК, иммобилизованных на слюде, модифицированной катионами Mn.

Подложку не промывали водой. На полученном изображении (рис. 3) отчетливо наблюдаются нитевидные объекты и сетеподобная структура, являющаяся следствием объединения отдельных нитей-молекул ДНК.

- 1. Bustamante C., Vesenka J., Tang C.L., Rees W., Guthod M. and Keller R., Biochemistry, v. 31,22-26 (1992).
- 2. Vesenka J., Guthod M., Tang C.L., Keller R., Delaine E. and Bustamante C., Ultramicroscopy, v. 42-44, 1243-1249 (1992).
- 3. *Галлямов М. О.*, Сканирующая зондовая микроскопия нуклеиновых кислот и тонких органических пленок. Автореф. дис. канд. физ.-мат. наук, М: МГУ (1999).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЦИТОТОКСИНОВ ИЗ ЯДА КОБР И АЛЬФА-СПИРАЛЬНЫХАНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ НА ЦИТОСКЕЛЕТ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

<u>Г.В. Шаронов</u>, О.В. Воронцова, А.В. Феофанов, М.П. Кирпичников Биологический факультет МГУ им. М.В Ломоносова, кафедра Биоинженерии sharonov@gmail.com

Известно, что цитотоксины (ШТ) из яда кобр и антимикробный пептид (АМП) мелиттин обладают схожими фармакологическими свойствами [1], среди которых цитолитичность, увеличение внутриклеточного Са²⁺, индукция сокращений гладкой мускулатуры, деполяризация клеточной мембраны. При этом, хотя эти молекулы и принадлежат к классу катионных амфифильных пептидов, они существенно отличаются по структуре. Мелиттин – линейный альфа-спиральный пептид из 26 аминокислотных остатков, а ЦТ – «трехпальцевые» пептиды длиной 59-62 аминокислотных остатка с преобладанием бета-структур. Детальный механизм фармакологической активности этих соединений до конца не ясен.

С помощью лазерной сканирующей конфокальной микроскопии нами были исследованы цитотоксин 2 из Naja Oxiana и катионный амфифильный АМП, латарцин (Ltc2a из [2]). Наблюдение в реальном временем за распределением этих соединений в клетке позволило выявить общие особенности, которые ранее не отмечались для данных типов соединений (на иллюстрации латарцин):

- 1. оба пептида стимулируют перестройку цитоскелета, изменение формы клеток и образование стресс-фибрилл (рис.1, черные стрелки);
- 2. за 10 c 5 мин до гибели клетки наблюдается лавинообразное возрастание связывания пептида на плазматической мембране (рис.1);
- 3. лавинообразное возрастание концентрации пептида инициируется в области клеточных псевдоподий (рис.1, белая стрелка).

Область псевдоподий имеет высокоупорядоченную организацию липидов и содержит множество белков, тесно связанных с цитоскелетом. Отмеченная реорганизация требует непосредственного воздействия на цитоскелет, что и может являться причиной дальнейшего лавинообразного увеличения связывания. Метод АСМ эффективно применяется для изучения структуры и свойств актиновых филаментов в живых клетках. Мы планируем использовать АСМ для изучения влияния данных пептидов на свойства цитоскелета.

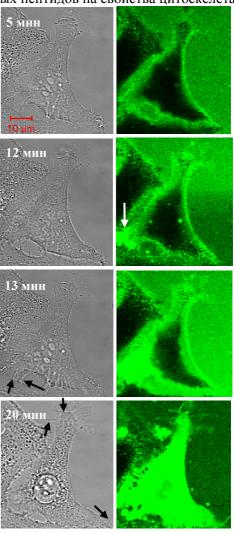


Рис. 1. Клетки А549 в присутствии 2 мкМ родамин-меченного латарцина в течение указанного времени. Представлены изображения в проходящем свете (левый столбец) и конфокальные флуоресцентные изображения, описывающие распределение пептида (правый столбец). После 20 мин инкубации клетка мертва.

- 1. Fletcher J.E., Jianq M.S., Toxicon, 31, 669-695 (1993).
- 2. Kozlov S.A., Vasilevski A.A., Feofanov A.V., Surovoy A.Y., Karpunin D.V., Grishin E.V., J. Biol. Chem., 281, 20983-20992 (2006)

АНАЛИЗ РАСТВОРИМОГО КОФЕ МЕТОДАМИ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Д.И. Яминский

OOO «Старт инноваций» Dmitry@nanoscopy.net

Сейчас как в развивающихся, так и в индустриальных странах растворимый кофе ставится все более популярным напитком. Ученые до сих пор не пришли к выводу о пользе или вреде растворимого кофе. Одни говорят, что растворимый кофе не содержит вредных составляющих и является исключительно полезным продуктом. С другой стороны ученые говорят, что в растворимом кофе присутствует нерастворимые частицы, которые могут забивать сосуды, чем наносят вред человеку.

Для анализа растворимого кофе был выбран сканирующий зондовый микроскоп ФемтоСкан. Данный микроскоп прост в освоении и полностью удовлетворяет всем необходимым требованиям для проведения работы.

В связи с невозможностью сканирования жидкости в атомно-силовом микроскопе, в работе исследован осадок из раствора. Раствор был нанесен на слюду и оставлен до полного высыхания. В качестве подложки выбрана слюда, так как она обладает наиболее гладкой поверхностью по сравнению с другими материалами, и достаточно хорошо смачивается водой.

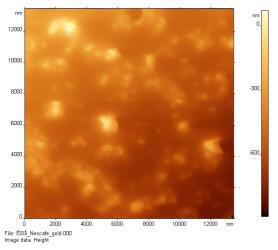


Рис.1 Изображение осадка растворимого кофе, разведенного в питьевой воде

При сканировании осадка из раствора питьевого кофе возможно увидеть частицы, которые не относятся к самому растворимо-

му кофе. Эти частицы могут изначально находится в воде, что видно на рис. 1. В контрольных измерениях вода была проверена на наличие примесей. Для этого вода была нанесена на слюду и высушена. В результате на слюде должны остаться частицы, которые содержаться в воде.

Проведенный эксперимент показал, что в использованной нами дистиллированной воде практически отсутствуют примеси, лишь изредка наблюдались остаточные примеси.

В эксперименте кофе был смешен с водой в отношении 1 гр. к 200 мл. В результате были получены следующие изображения частиц кофе, которые мы можем наблюдать на рис.2.

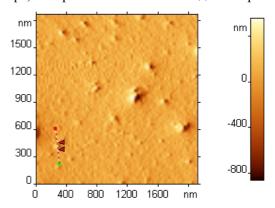


Рис.2 Изображение частиц кофе, разведенного в дистиллированной воде

Размеры частиц едва достигают 100 нм. Они могут попасть в капиллярные сосуды, а также при наличии у человека некоторых патологий, как лишний вес, сердечная недостаточность, развить эти патологии. Наибольший вред частицы способны нанести человеку больным атеросклерозом.

Если сравнивать размеры самого маленького капилляра с размером частицы кофе, то видно, что частица меньше в 5-6 раз. Поэтому сама по себе частица не может засорить капилляр, другое дело, если их будет много, но и здесь капилляр спасает от засорения его способность к изменению размера.

Список литературы:

1. Филонов А.С., Яминский И.В., Руководство СЗМ ФемтоСкан. М., 2007, 87 с.

ИСКАЖЕНИЯ ИЗОБРАЖЕНИЙ ПОВЕРХНОСТИ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ИХ ВЫЯВЛЕНИЯ

В.Д.Кочаков, Н.Д.Новиков, <u>Е.А.Ярусов</u>, Д.В.Егоров Чувашский государственный университет им. И.Н.Ульянова kocherishca@mail.ru

Цель данного сообщения обратить внимание исследователей на некоторые особенности анализа получаемых в атомно-силовой микроскопии изображений различных объектов.

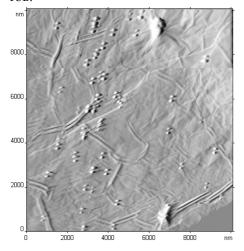


Рис.1. Удвоение структур на поверхности.

Так, например, часто встречается в атомно-силовой микроскопии артефакт удвоения иглой объектов на поверхности. Ниже приведена топография поверхности интеркалированного графита с очевидно не естественной формой рельефа встречающихся объектов. Стрелкой на рисунке показано направление удвоения изображения. Восстановив форму иглы по полученному изображению, можно получить присутствие двух острий на игле.

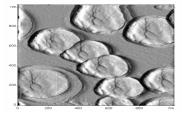


Рис. 2. Двухфазные частицы Ag +ЛЦУ на ситалле

Однако эффект удвоения и влияния иглы не так очевиден на шероховатых поверхностях, где размер зерен сравним с размерами дополнительных острий на кончике иглы. На рис. З изображена поверхность пленки никеля, полученная термическим испарением. Здесь удвоение не так очевидно, но в фурьеспектре мы видим наличие пиков.

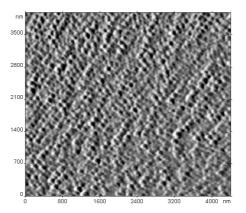


Рис.3. Поверхность пленки никеля.

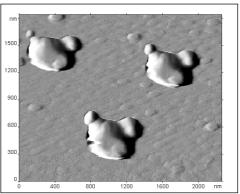


Рис. 4. Частицы Ni+ЛЦУ

Удвоение объектов является частным случаем отображения объектов иглой сложной формы. Умножение числа объектов происходит тогда, когда размер дополнительных острий на игле меньше исследуемых особенностей поверхности. В случае когда игла больших размеров, то ее форма будет передаваться на объекты и они все будут одинаковых размеров.

Для устранения влияния формы иглы поверхность обычно сканируют несколькими новыми зондами.

На рис. 2 и 4 приведены образцы частиц, которые имеют схожую форму. Причиной здесь скорее всего является форма иглы кантилевера. Однако процесс формирования частиц происходит в одинаковых условиях, и возможны схожие диффузионные процессы, влияющие на формообразование частиц.

линейно-цепочечный углерод

В.Д. Кочаков, Н.Д. Новиков, Е.А. Ярусов, Д.В Егоров

Чувашский государственный университет им. И.Н.Ульянова kocherishca@mail.ru

Линейно-цепочечный углерод был синтезирован в виде порошка в 1960 году А.М. Сладковым с сотрудниками [1] в виде ($\equiv C - C \equiv C - C$ \equiv C − C \equiv) п полииновой формы α-карбина и (= C = C = C = C = C = 0 n кумуленовой формы В-карбина. Мировая наука практически не отреагировала на данное открытие. Его затмило открытие фуллеренов и нанотрубок. Группе авторов [2] удалось синтезировать линейноцепочечный углерод (ЛЦУ) в виде пленки. Линейно-цепочечный углерод синтезируется в виде полимерных цепочек расположенных перпендикулярно поверхности подложки в виде гексагональной структуры. На рис. 1 представлена топография поверхности пленки (получена атомно-силовом микроскопе И.В. Яминским, МГУ).

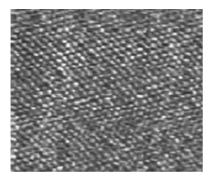


Рис. 1. Поверхности пленки ЛЦУ.

Пленка обладает следующими свойствами:

- 1. Атомы углерода связаны в полимерную цепь σ и π -связью.
- 2. Цепочки объединены силами Ван-дер-Вальса и между ними нет химической связи. Синтезированная на силиконовую подложку, пленка ЛЦУ не осыпается при растяжении силикона в несколько раз.
- 3. При самых минимальных толщинах в 5Å пленка ЛЦУ не имеет островковой структуры и полностью покрывает и повторяет исходную топографию поверхности подложки. Биомедицинские эксперименты с использованием ЛЦУ показали прекрасную совместимость с кровью. Рис. 2. показывает скорость свертывания крови на поверхностях различных материалов в сравнении с ЛЦУ пленкой. Видно, что покрытие ЛЦУ

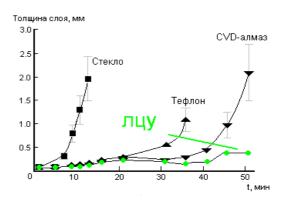


Рис. 2. Скорость свертывания крови.

придает исключительную тромборезистентность (превосходит полистерин, являющийся до настоящего времени лучшим по этим показателям) и позволяет улучшить биосовместимость медицинских имплантантов и устройств, уменьшает риск образования тромбов, отторжения имплантанта и развития воспаления.

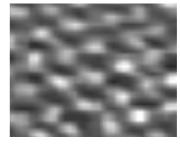


Рис. 3. Увеличенный фрагмент рис. 1.

Принимая во внимание структуру пленки ЛЦУ (рис. 3) и модель гексагональной ячейки (рис. 4), был осуществлен эксперимент по внедрению атомов серебра в пленку. Схема образца представлена на рис. 5.

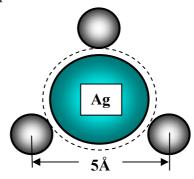


Рис. 4. Модель структуры пленки.

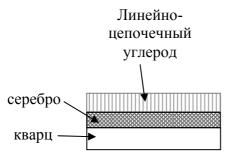


Рис. 5. Структура экспериментального образца.

Данную структуру помещали в печь и при 400°С отжигали на воздухе в течении 10 минут. Эксперимент проводился с целью усиления атомами серебра бактериоцидности пленки. Результат данного эксперимента приведен на рис. 6.



Рис. 6. Внешний вид образца до и после отжига.

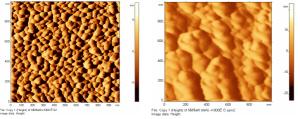


Рис. 7. Структура поверхности образца до (a) и после (б) отжига.

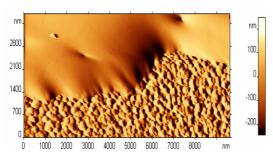


Рис. 8. Нарушение сплошности двухфазной системы Ag + ЛЦУ.

Отражающее двухслойное покрытие после термообработки превратилось в прозрачное и проводящее. Структура поверхностей до (а) и после (б) отжига показана на рис. 7.

Изменяя толщину пленки серебра, мы получали различные результаты при отжиге указанных двухслойных систем. Например, при толщине пленки серебра 2000Å и пленки ЛЦУ 500Å происходит нарушение сплошности.

Двухфазная система Ag + ЛЦУ сползает с поверхности серебра и, как видно из рис. 8, её поверхность атомно-гладкая.

Меняя толщины пленок серебра и ЛЦУ можно создать структурированную поверхность, как это показано на рис. 9.

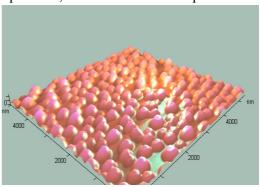


Рис. 9. Структурирование поверхности при нарушении сплошности пленки $Ag + \Pi \coprod Y$.

Уменьшая толщину пленки серебра, можно уменьшать количество кластеров, состоящих из двух фаз $Ag + \Pi \coprod Y$.

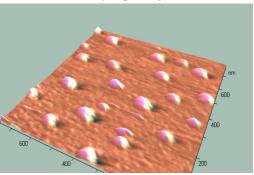


Рис. 10. Структурирование поверхности пленки Ag + ЛЦУ при островковом нанесении серебра.

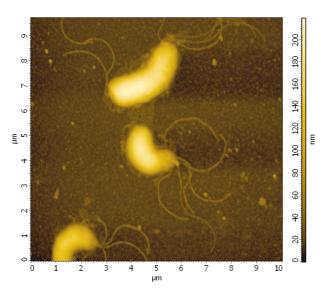
- 1. Сладков А.М., Полисопряженные полимеры, М.: «Наука», 1989.
- 2. Гусева М.Б., Бабаев В.Г., Бабина В.М., Новиков Н.Д., Хвостов В.В., Тезисы докладов Всероссийского симпозиума с участием учёных из стран СНГ "Аморфные и микрокристаллические полупроводники", С-Пб, 5-9 июля, с.55 (1998).

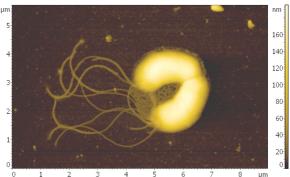
Конкурс изображений

BioImage

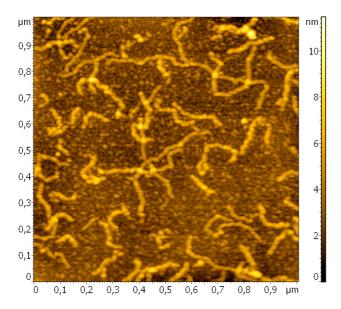
Будашов Игорь Анатольевич

Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова Микроскоп: Solver P-47 (NT-MDT)





Клетки бактерии *Helicobacter pylori*. Культура клеток предоставлена Куватом Момыналиевым, НИИ Физико-химической медицины Росздрава. Изображение справа – с виртуальной подсветкой.

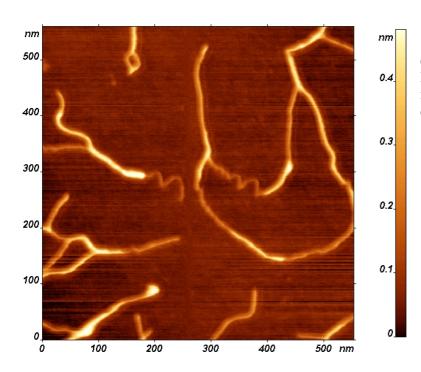


Фибриллы рекомбинантного прионного белка крупного рогатого скота, полученного в Институте вирусологии. Изображение справа – с виртуальной подсветкой.

BioImage

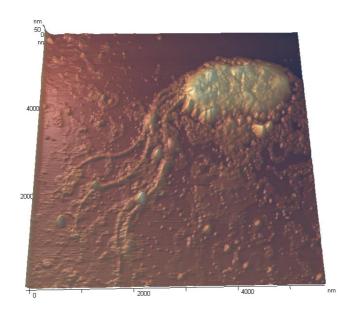
Мешков Георгий Борисович

Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова Микроскоп: Фемтоскан



Изображение образца ДНК, состоящей из трех цепочек. Видны участки ДНК, состоящие из разного количества цепей и обладающие разной жесткостью.

Миронов Василий Андреевич Факультет Почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова Микроскоп: Nanoscope IIIa

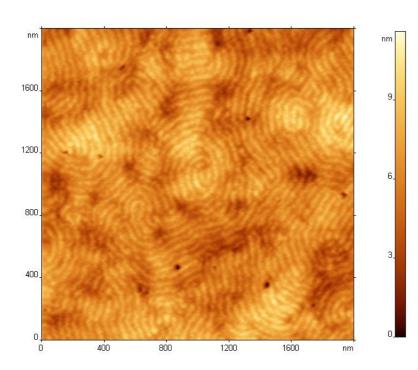


Культура клеток рода Aquaspirillum, выделенные из многолетнемерзлой породы, относящейся Едомной свите. Подложка свежий скол слюды. Образец наносился на подложку в виде сильно разбавленной клеток суспензии дистиллированной воде. На изображении сильно увеличен вертикальный масштаб для лучшего отображения расположенных полярно жгутиков.

BioImage

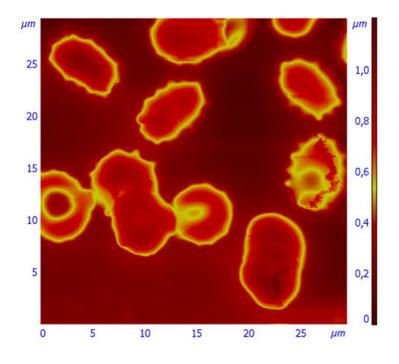
Меньшиков Евгений Александрович

Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова Микроскоп: Nanoscope IIIa



Образец: пленка триблоксополимера (полистирол-полиметилакрилат -полистирол) на слюде. [ПС][ПМА]=1:1. На изображении наблюдается ламеллярная структура, типичная для блок-сополимеров с равными долями блоков.

Дедкова Елена Георгиевна Кабардино-Балкарский государственный университет, г.Нальчик. Микроскоп: SolverPro (NT-MDT)



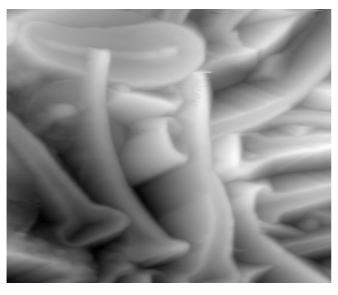
ACM изображение патологических эритроцитов ребенка с наследственной анемией.

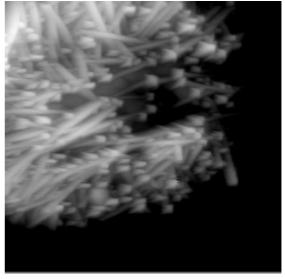
BioImage

Васильченко Алексей Сергеевич

Оренбургский государственный университет Микроскоп: CMM-2000

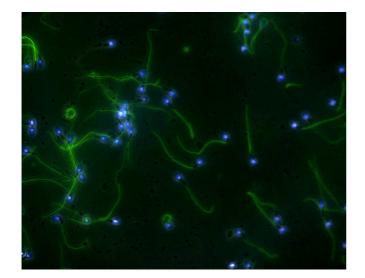
Изображения представляют собой 2 скана Солнечников (систематическое положение: Protozoa – Sarcomastigophora – Sarcodina – Heliozoa).



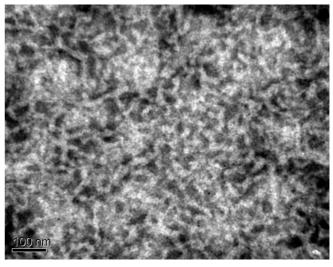


Ю.Ю. Щуцкая, Ю.Л. Элькина, Е.В. Шмальгаузен РАН НИИФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва Микроскоп: Axiovert 2000N

Ю.Ю. Щуцкая, С. Гаяр, В.И. Муронец, Т.Эртле Институт Национальных Агрономических Исследований (INRA), Нант, Франция Микроскоп: JEOL JEM-1230



Иммунофлуоресцентное окрашивание сперматозоидной глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГАФД-С) в сперматозоидах человека.



Агрегация овечьего приона при термообработке. Изображение получено с помощью трансмиссионной электронной микроскопии

УЧАСТНИКИ ШКОЛЫ-СЕМИНАРА. «СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ БИОНАНОСКОПИИ»

Аратов Никита Владимирович

ФГУП "НИИ Прикладной Акустики", г .Дубна nikita.aratov@niipa.ru

Атабеков Иосиф Григорьевич

Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г.Москва <u>atabekov@virus.genebee.msu.su</u>

Багров Дмитрий Владимирович

Физический факультет MГУ им. М.В.Ломоносова, г.Москва <u>bagrov@polly.phys.msu.ru</u>

Большакова Анастасия Владимировна

Химический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва bolshakova@genebee.msu.ru

Будашов Игорь Анатольевич

MГУ им М.В. Ломоносова;Институт биохимической физики, РАН, г. Москва <u>ibudashov@genebee.msu.su</u>

Будник Оксана Петровна

Международный центр «Институт прикладной оптики», Украина, г.Киев oksinfo@i.com.ua

Вацадзе Сергей Зурабович

Химический факультет МГУ им. M.B.Ломоносова, г. Москва szv@org.chem.msu.ru

Галимуллин Дамир Зиннурович

Казанский государственный университет, г. Казань galimullin d.z@mail.ru

Галлямов Марат Олегович

Физический факультет MГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва glm@polly.phys.msu.ru

Гарафутдинов Равиль Ринатович

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа garafutdinovr@mail.ru

Горелкин Петр Владимирович

OOO «Академия биосенсоров», г. Москва gorelkin@genebee.msu.ru

Гудкова Светлана Александровна

ФГУП «НИИ Физических Проблем им. Ф.В. Лукина», г. Москва svetlanagudkova@yandex.ru

Дубровин Евгений Владимирович

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва dubrovin@polly.phys.msu.ru

Егоров Дмитрий Владимирович

Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары nautilus91@mail.ru

Ежов Александр Анатольевич

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва <u>alexander-ezhov@yandex.ru</u>

Жиброва Юлия Александровна

Воронежский государственный университет, г. Воронеж uzhnaya_sanosil@mail.ru

Игнатов Сергей Георгиевич

ФГУН ГНЦ ПМБ Федеральной службы Роспотребнадзора, п. Оболенск ignatov.sergei@gmail.com

Игнатюк Татьяна Евгеньевна

ИТЭФ, г. Москва ignatiouk@itep.ru

Карпова Ольга Вячеславовна

Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва <u>okan@genebee.msu.su</u>

Кашкаров Павел Константинович

Физический факультет MГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва pavel@ofme.phys.msu.ru

Киселев Глеб Александрович

Физический факультет MFУ им. M.В.Ломоносова, г. Москва kiselev@polly.phys.msu.ru

Климов Дмитрий Андреевич

Институт Общей Генетики РАН, г. Москва nanoscop@gmail.com

Клинов Дмитрий Владимирович

ИБХ РАН, г. Москва <u>klinov.dmitry@mail.ru</u>

Ковалев Юрий Сергеевич

Объединенный Институт Ядерных Исследований, г. Дубна <u>humba@msu.dubna.ru</u>

Ковалева Галина Витальевна

Южный научный центр РАН, г. Ростов-на-Дону kovaleva@mmbi.krinc.ru

Колесов Дмитрий Валерьевич

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва <u>kolesov@polly.phys.msu.ru</u>

Кондратьев Антон Алексеевич

OOO «Старт инноваций», г. Москва Atomican@yandex.ru

Коновалова Ольга Анатольевна

Казанский государственный университет, г. Казань olga.konovalova@ksu.ru

Кочаков Валерий Данилович

Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г.—Чебоксары kocherishca@mail.ru

Краевский Сергей Владимирович

ИТЭФ, г. Москва skraevsky@mail.ru

Кривега Мария Валериевна

Mount Sinai Medical School, USA, New York Maria.Krivega@mssm.edu

Кузнецова Татьяна Григорьевна

Гомельский государственный медицинский университет, Белорусия, г. Гомель tmatuh@server.by

Кухаренко Людмила Валентиновна

Белорусский государственный медицинский университет, Белоруссия, г. Минск lvk@europe.com

Лисицын Федор Викторович

ГУ НИИ Вирусологии им. Д.И. Ивановского, г. Москва fedorlisi@mail.ru

Литвинов Сергей Валентинович

Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный Litvinov@dgap.mipt.ru

Маныкин Анатолий Анатольевич

ГУ НИИ Вирусологии им. Д.И. Ивановского, г. Москва an manykin@mail.ru

Махиборода Максим Александрович

ФГУП «НИИ Физических Проблем им. Ф.В. Лукина», г. Москва makhiboroda@maryno.net

Мезрин Виктор Евгеньевичем

OOO «Старт инноваций», г. Москва mezrinv@rambler.ru

Меньшиков Евгений Александрович

OOO «Старт инноваций», г. Москва <u>menshikov@polly.phys.msu.ru</u>

Мешков Георгий Борисович

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва meshkov@polly.phys.msu.ru

Милованов Святослав Сергеевич

Саратовский государственный медицинский институт, г. Capamoв misser1977@gmail.com

Михайлов Андрей Глебович

Институт Биоорганической Химии им. Шемякина и Овчинникова, г. Москва <u>andrian@list.ru</u>

Муругова Татьяна Николаевна

Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна tatiana.murugova@mail.ru

Налимов Дмитрий Сергеевич

Казанский государственный университет, г. Казань <u>dnalimov@mail.ru</u>

Невзорова Татьяна Александровна

Казанский государственный университет, г. Казань Tatyana.Nevzorova@ksu.ru

Нефедов Денис Владимирович

Саратовский филиал Института радиотехники и электроники РАН, г. Саратов nefedov_dv@rambler.ru

Никитина Ирина Александровна

Гомельский государственный медицинский университет, Белоруссия, г. Гомель nikitsin@tut.by

Никулин Юрий Васильевич

Саратовский филиал Института радиотехники и электроники РАН, г. Capamoв <u>juretz@rambler.ru</u>

Новиков Николай Дмитриевич

ФГОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары

Образцова Екатерина Александровна

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва kobr@polly.phys.msu.ru

Панов Владимир Иванович

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва panov@spmlab.phys.msu.ru

Савватеев Михаил Николаевич

3AO HT-MДТ, г. Москва mihail.savvateev@mail.ru

Сальников Александр Сергеевич

ФГУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", г. Кольцово <u>sas_salnikov@mail.ru</u>

Сафенкова Ирина Викторовна

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН г. Москва saf-iri@vandex.ru

Синицына Ольга Валентиновна

ИНЭОС РАН, г. Москва <u>sinitsyna@gmail.com</u>

Смитиенко Ольга Александровна

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва djolia@mail.ru

Стародубцева Мария Николаевна

Гомельский государственный медицинский университет, Белоруссия, г. Гомель marysta@mail.ru

Сушко Анна Дмитриевна

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва sushko@polly.phys.msu.ru

Темкина Наталья Викторовна

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва <u>temkina@polly.phys.msu.ru</u>

Тимошенко Виктор Юрьевич

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г Москва timoshen@phys.msu.ru

Торгашов Илья Геннадьевич

Саратовский филиал Института радиотехники и электроники РАН, г. Capamoв <u>mtrushin@mail.ru</u>

Трушин Максим Викторович

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казанский госуниверситет, г. Казань mtrushin@mail.ru

Трушина Оксана Владимировна

Казанский государственный университет, г. Казань sylstal@mail.ru

Феофанов Алексей Валерьевич

Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва <u>alexei@nmr.ru</u>

Филонов Александр Сергеевич

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва <u>filonov@nanoscopy.org</u>

Хохлов Алексей Ремович

Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва khokhlov@polly.phys.msu.ru

Joan Horwitz

Agilent Technologies, USA joan_horwitz@agilent.com

Циркунова Наталья Григорьевна

Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, Белоруссия, г. Минск <u>Natali813@yandex.ru</u>

Шарипов Талгат Ишмухамедович

Башкирский государственный университет, г. Уфа sha-t@yandex.ru

Шаронов Георгий Владимирович

Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва sharonov@gmail.com

Ямбуренко Мария Владимировна

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва <u>mashayamb@mail.ru</u>

Яминский Дмитрий Игоревич

OOO «Старт инноваций», г. Москва Dmitry@nanoscopy.net

Яминский Игорь Владимирович

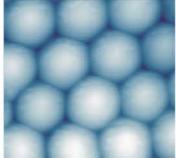
Физический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, г. Москва yaminsky@nanoscopy.org

Ярусов Евгений Андрианович

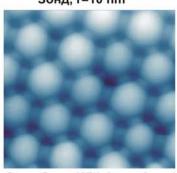
Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары jarevan-84@mail.ru



АСМ изображение решетки опала



Зонд, r=10 nm



Зонд SmartWhisker r=2 nm*

Компания SmartWhisker – производитель зондов высокого разрешения для ACM/C3M. Инновационная технология SmartWhisker имеет следующие преимущества:

- очень маленький угол при вершине;
- радиус закругления составляет 1-3 нм;
- сочетание остроты и лучшего угла при вершине;
- гарантия острия в виде конуса (отсутствие "лезвия");

Повышайте Ваш профессиональный уровень вместе с зондами **SmartWhisker**!

www.SmartWhisker.com

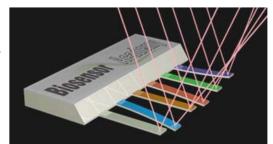
^{*} при изготовлении зондов SW используется уникальная запатентованная технология роста кристаллов кремния

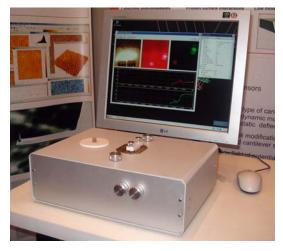
Biosensor Academy

Компания «Академия биосенсоров» предлагает новый тип аналитического оборудования: **«Атомные весы Биоскан»**, для применения его в прикладных и научных исследованиях в областях химии, биологии и медицины.

"Атомные весы Биоскан" — это уникальный многофункциональный анализатор химических и биологических веществ, основанный на массиве микрокантилеверных мембран. Аналитический сигнал (степень деформации кантилеверной мембраны) возникает при связывании определяемо-

го вещества с рецептором кантилевера. Деформация механических датчиков контролируется помощью прецизионной лазерно-оптической системы. По своей архитектуре кантилеверный анализатор имеет энергетический фильтр актов неспецифического связывания, которые обычно сильно искажают реальный сигнал большинства прямых систем анализа. Иными словами, кантилевер способен отличать специфические молекулы анализируемого вещества от неспецифических молекул, прореагировавших с его рецептором, а массив кантилеверов позволяет определять одновременно несколько типов биомаркеров.





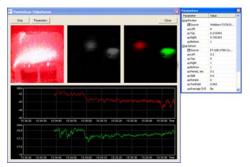
Мультикантилеверная система "**Атомные весы Биоскан**" позволяет разрабатывать высокочувствительные биологические и химические *label-free* сенсоры с возможностью многофакторного анализа.

Основные преимущества системы:

- проведение прямого анализа, не требующего меток,
- рекордный предел обнаружения вещества 10⁻¹⁶
 моль.
- устройство подключается к компьютеру через USB (не требуется блока электроники и шнура питания),
- удобная система ввода пробы
- интуитивно понятный интерфейс программы,
- возможность визуального наблюдения за измерительной камерой

Кантилеверы устанавливаются в специальном держателе. Анализируемая смесь вводится в ячейку с установленными кантилеверами, на которых направляется луч лазера. После отражения от кантилеверов система зеркал направляет луч на детектор - матрицу камеры, получаемое ею изображение анализируется программой. Химические реакции и процессы адсорбции и десорбции на поверхности кантилевера вызывают его отклонение и смещение отраженного луча.





Управление системой "Атомные весы Биоскан" осуществляется программой «FemtoScan Video Sense». В верхней части окна программы показано снимаемое камерой изображение сенсорной ячейки с двумя кантилеверами, сигнал, поступающий на детектор и обработанное изображение, на котором отраженные лучи показаны разными цветами. Ниже строятся графики зависимости отклонения каждой мембранной консоли от времени.

Компания INTERTECH Corporation эксклюзивно представляет компанию Veeco.



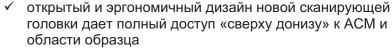
diBioScope II

Solutions for a nanoscale world.™

Совмещение оптики и АСМ для биологических исследований

Атомно-силовой микроскоп **BioScope™ II** полностью совместим с лучшими коммерческими

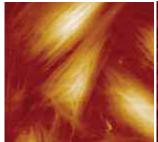
инвертированными микроскопами и аксессуарами к ним.



- ✓ полный доступ света через уникальную сканирующую головку позволяет использовать коммерчески доступные конденсоры с NA до 0.55, объективы высокого разрешения, включая водно- и масляноиммерсионные
- ✓ неограниченное применение методов светлого поля, темного поля, фазового контраста и дифференциального интерференционного контраста, интеграция с CLSM, TIRF, FRAP, FRET
- ✓ моторизованное основание, управляемое компьютером или с помощью джойстика (10 мм x 10 мм), и механизм автоматического подвода
- ✓ система юстировки лазера EasyAlign™ (только у Veeco)
- ✓ диапазон по Z более 15 мкм
- ✓ диапазон по X-Y более 150 мкм для сопоставления данных АСМ и оптических/флуоресцентных методов
- ✓ низкошумовая система линеаризации по XYZ
- ✓ ИК-лазер (850 нм) для детектирования отклонения кантилевера не интерферирует с излучением обычных флуоресцентных красителей в красном свете

Перфузионное кольцо для контроля состава жидкости и атмосферы над образцом, дает возможность в течение длительного времени работать с образцами, чувствительными к кислороду или рН, например анаэробными клетками. **Основание для нагрева** от комнатной температуры до 60 С° с терморегулятором.

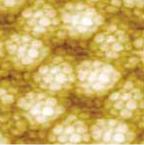
Основание для нагрева от комнатнои температуры до 60 С° с терморегулятором **Вы сможете это увидеть:**



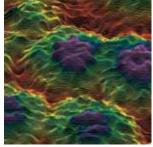
Живые клетки эндотелия, выращенные на чашке Петри. Размер кадра 65 мкм.



Комплекс ДНК человека с фактором транскрипции. Размер кадра 252 нм.



Сруктура капсомеров вируса желтой мозаики репы. Размер кадра 140 нм.



Молекулярная структура поверхности гептамерного белка GroES. Размер кадра 18 нм.

РОССИЯ Москва Красноярск УКРАИНА Донецк КАЗАХСТАН Алматы Тел.: (495) 232-42-25; факс: (495) 956-84-79; e-mail: info@intertech-corp.ru Тел.: (3912) 58-09-23; тел./факс: (3912) 58-09-24 e-mail: sibir@intertech-corp.ru Тел: (062) 337-24-56; факс: (062) 337-24-56; e-mail: intdon@intertech.donetsk.ua Тел: (3272) 54-32-28; факс: (3272) 93-51-30; e-mail: centas@intertech-corp.ru

Информацию об остальных региональных представительствах (Санкт-Петербург, Екатеринбург, Новосибирск, Самара, Казань, Волжский, Киев, Минск) размещена на сайте:

Микроскопия и спектроскопия сверхвысокого разрешения (ИНТЕГРА Спектра)

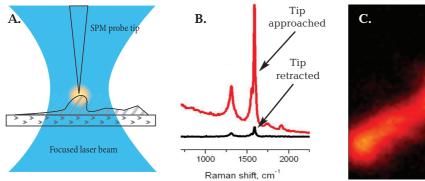


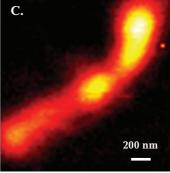
ИНТЕГРА Спектра вошла в список ста лучших научноинженерных разработок 2006 года по версии авторитетного американского журнала "R&D".

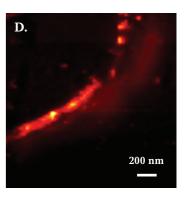
Нанолаборатория ИНТЕГРА Спектра — это атомно-силовая микроскопия (АСМ), конфокальная оптическая микроскопия (в том числе флуоресцентная), конфокальная микроскопия/спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) и СБОМ — сканирующая ближнепольно-оптическая микроскопия. Конфокальная микроскопия позволяет локализовать объект и идентифицировать его химический состав (по спектрам КР) с разрешением в плоскости менее 200 нм, а СБОМ позволяет получить картину распределения оптических свойств с разрешением 30-50 нм.

Уникальность системы заключается в том, что благодаря объединению ACM с конфокальной оптической системой стали доступными нелинейно-оптические эффекты, возникающие при взаимодействии света с острием ACM зонда (в частности, так называемый эффект гигантского усиления KP или, в английской аббревиатуре, TERS — tip-enhanced Raman scattering).

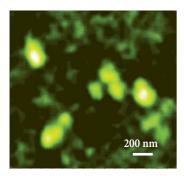
TERS-эффект приводит к тому, что в близкой окрестности острия интенсивность KP оказывается на несколько порядков выше, чем в среднем в освещенной части образца. Благодаря этому пространственное разрешение спектроскопии оказывается около 50 нм. В частности, таким путем можно локализовать с точностью до 50 нм и идентифицировать по спектру KP единственную макромолекулу.



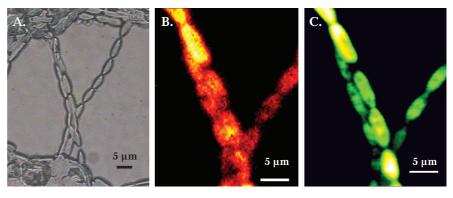




Микроскопия комбинационного рассеяния со сверхвысоким пространственным разрешением. А. — схематическое описание метода TERS (tip-enhanced Raman scattering). В. — когда зонд находится вблизи от пучка углеродных нанотрубок сигнал комбинационного рассеяния от них увеличивается на порядки. С. — изображение пучка углеродных нанотрубок, полученное с помощью КР микроскопии (в конфокальном режиме). D. — изображение того же пучка полученное с применением TERS. Эффект локального усиления поля позволяет улучшить пространственное разрешение КР микроскопии, по крайней мере, в 4 раза. Данные получены в лаборатории Prof. G. de With, TUE, the Netherlands коллективом авторов: Dr. S.Kharintsev, Dr. G. Hoffmann, Dr. J. Loos, а также Дорожкиным П., HT-МДТ.



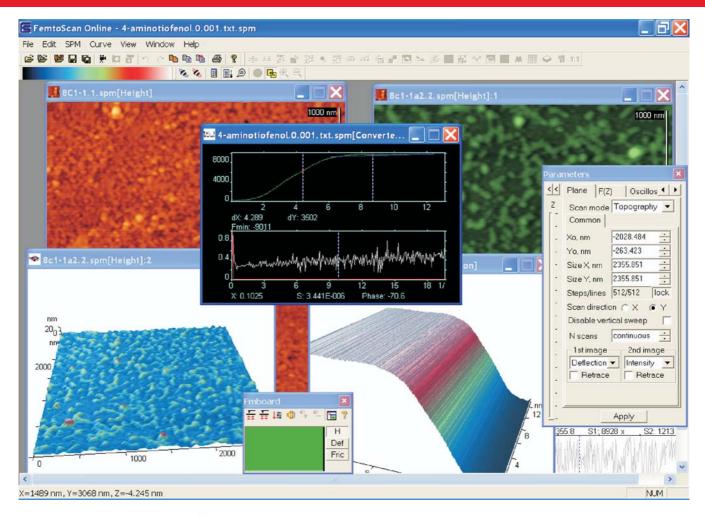
СБОМ изображение митохондрий, окрашенных FITC-мечеными антителами.



Изображение клеток водорослей A) оптическое, B) КР на линии бета-каротина, C) конфокальное (автофлуоресценция). Изображение получено П. Дорожкиным, HT-MДТ. Образец любезно предоставлен Dr. Don McNaughton, Monash University, Victoria, Australia



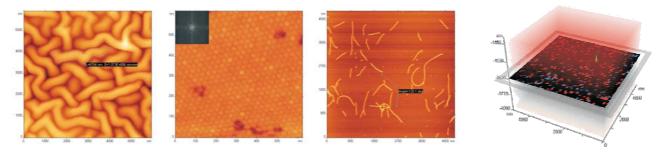
Программное обеспечение ФемтоСкан Онлайн



ФемтоСкан Онлайн поможет Вам обработать и проанализировать данные зондовой микроскопии, а также представить их доступно и наглядно.

Фемтоскан Онлайн - это:

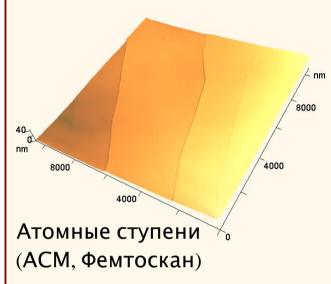
- Простота использования
- Гибкая настройка программы
- Понятный интерфейс
- Большой набор математических функций
- Функции для работы с изображениями
- Поддержка разнообразных форматов (Nanoscope, NT-MDT, Molecular Imaging и т.д.)
 - Построение 3х и 4х мерных изображений
 - Быстрая и удобная техническая поддержка
 - Документация и примеры
 - Работа в операционных системах семейства Windows



http://www.nanoscopy.net

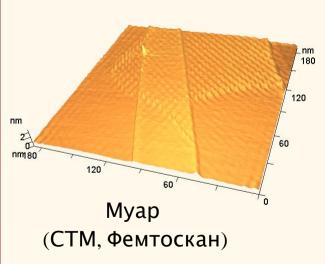
ГРАФИТ

ГИДРОФОБНАЯ ПОДЛОЖКА ДЛЯ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ



- Простота приготовления свежей поверхности
- Атомарно-гладкие террасы с шириной больше 1 мкм
- Поверхность инертна на воздухе

МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ



- Проверка теорий зондовой микроскопии
- Исследование дефектного строения и реакционной способности графита
- Поверхность инертна на воздухе

www.nanoscopy.net

Центр перспективных технологий