

577(075)
П35

А. И. Тернавский

Биологические структуры как компоненты наукоемких технологий в наноразмерном диапазоне

Учебно-методическое пособие



18

577(075)

T 35

А. И. Тернавский

**Биологические структуры
как компоненты
наукоемких технологий
в наноразмерном диапазоне**

Учебно-методическое пособие



577(075) T35 2013

Тернавский А.И. Биологические структуры

**Киев
Знания Украины
2013**

УДК 577
ББК 28.07
Т35

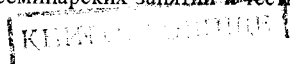
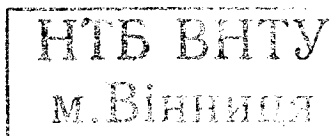
464118

Тернавский А. И.

Т35 Биологические структуры как компоненты наукоемких технологий в наноразмерном диапазоне [Текст]: учебно-метод. пособие / А. И. Тернавский. – К. : Знання України, 2013. – 139, [1] с.

Подобраны материалы по некоторым вопросам, связанных с наукоемкими технологиями. Биологические структуры рассмотрены как основа создания нанокompозитных систем для возможного использования в конкретных нанотехнологических процессах. Показана перспектива использования фотосинтеза, ферментов, ДНК и др. структур в реализации научных проектов в области наноконструирования. Приведены методы визуализации наноструктурных образований и методические подходы в исследовании некоторых свойств.

Изложена примерная тематика семинарских занятий и тест-контрольных заданий.



УДК 577
ББК 28.07

© Тернавский А. И., 2013.

СОДЕРЖАНИЕ

От автора.....	4
1. ЛЕКЦИОННАЯ ТЕМАТИКА.....	6
1.1. Биологические науки как ведущие в области нанотехнологий.....	6
1.2. Фотосинтетические структуры растений и синтетические органические молекулы порфирина как прообраз систем наноэнергетики.....	29
1.3. Модельные системы «Бактериородопсин» и «АТФ-синтаза» – это ключ для проектирования научного эксперимента в области наноэнергетики	42
1.4. Молекула ДНК как перспективный объект наноконструкций.....	54
1.5. Перспектива использования биомембран и ферментов в конструкции наносистем.....	63
1.6. Гибридные нанокompозитные системы.....	87
1.7. Экологические вопросы, связанные с использованием наноматериалов.....	92
1.8. Методические подходы в нано-био-материаловедении.....	106
Заключение.....	125
2. СЕМИНАРСКИЕ ЗАНЯТИЯ. ТЕСТКОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ (примерная тематика).....	133
Приложение.....	137

От автора

Подобраны материалы для возможного спецкурса по некоторым вопросам, связанные с нанотехнологией. Показана значимость процессов самоорганизации, самосборки и самовосстановления, которые заложены в биологических структурах (как базовые принципы живой природы), для устройств в наноразмерном диапазоне. Рассмотрены процессы аккумуляции энергии растительными структурами. Применение таких природных моделей как «Бактериородопсин» и «АТФ-синтаза», использование фрагментов ДНК, биологических платформ на основе ферментов – перспектива в реализации научных проектов в области нанoeлектронных устройств, создание систем хранения и обработки оптической информации, разработка сенсорных устройств. Обсуждаются некоторые экологические вопросы в связи с использованием наноструктур.

Изложены некоторые методические подходы по изучению наноструктур, которые могут быть использованы в спецпрактикуме. Тематика семинарских занятий, тестконтрольных заданий связана с изучением свойств биологических структур и возможным использовании их в наноконструировании.

Пособие предназначено для преподавателей и студентов, интересующихся наноконструированием и нанотехнологиями.

Процессы, происходящие в биологических наноструктурах, создают потенциал для наноконструирования. Ведь Природа «нашла» техническое решение, создав замкнутые структуры, такие как, например, фотосинтез, который состоит из последовательных процессов, причем каждое предшествующее звено обеспечивает возможность функционирования последующего.

Наномир с характерными масштабами, к которому относятся и биологические структуры, подчиняется законам установленными квантовой физикой. Следовательно, целесообразным являются использование этих знаний при рассмотрении биологических наноструктурных образований.

Одним из эффективных путей успешного наноконструирования – использование механизма функционирования ферментативных систем, которые обеспечивают упорядоченный обмен веществ.

Принцип миниатюризации и переход на замкнутые циклические процессы, внедрение энергетических носителей по примеру биологических наноструктур – это реальные возможности для наноконструирования. Некоторые биологические структуры, которые созданы Природой, есть примером для наноконструкций по экономичности и безвредности для окружающей среды.

Современные направления нанотехнологий (молекулярная визуализация, создание молекулярных биосенсоров и др.) способствуют изучению и возможности использования биологических структур. Например, использование метода микроскопии ближнего поля (точечный источник света к исследуемому объекту – на расстояние меньше длины волны) способствует изучению биологических образований размером до 12 нм. Методические подходы в нанотехнологиях позволяют изучать структурные, оптические и спектроскопические свойства биологических объектов.

Это далеко не полный перечень возможностей использования биологических структур для наноконструирования и применение нанотехнологических процессов для изучения структур живой системы. Безусловно, процессы, которые происходят на уровне живых систем, технически решать затруднительно. Следовательно, эффективное использование биологических молекул в наноконструкции требует глубоких знаний специалистами в области нанотехнологий тех процессов, которые совершаются в клеточных структурах.

В настоящем пособии изложены некоторые особенности биологических нанообразований, которые используются (или будут использованы) в наноустройствах; рассмотрены научные исследования энергопреобразующих систем природных структур с целью создания фотонных технологий, связанных с наноэнергетикой; приведены материалы ДНК-технологий, мембранных технологий, создание гетерогенных катализаторов на основе иммобилизации ферментов и другое.

В своей скромной работе попытался убедить интересующихся в том, что **Природа** создала наноустройства, которые успешно функционируют при определенных условиях и которые являются реальной моделью для искусственносоздаваемых устройств.

А. И. Тернавский,
канд. биол. наук, доцент

1. ЛЕКЦИОННАЯ ТЕМАТИКА

1.1. Биологические науки как ведущие в области нанотехнологий

К основным тенденциям развития науки сегодня следует отнести:

- переход к наноразмеру (технологии атомно-молекулярного конструирования);
- междисциплинарность научных исследований;
- сближение органического (живой природы) и неорганического миров (попытка совместить биологические молекулы, системы живой клетки и созданные человеком наноструктуры – живое с неживым).

Наноразмерные структуры содержат группировки атомов (молекул), полезные свойства которых могут быть использованы для создания качественно новых материалов существенно отличающихся по свойствам от материалов, не имеющих таких структурных единиц. Т. е., развитие физики, химии и биологии проходит под знаком нанотехнологий, как мультидисциплинарной области. В связи с этим, возникает необходимость создания целостной образовательной системы для подготовки нового поколения исследователей, материаловедов и технологов, обладающих междисциплинарными фундаментальными знаниями и владеющих новейшим синтетическим и диагностическим оборудованием, используемых в нанотехнологиях.

Классическим примером междисциплинарной науки являлось материаловедение, одним из достижений науки о материалах – полупроводниковые структуры, ставшие основой для создания компьютерной техники и электроники (заметный

вклад – физика, химия, механика деформируемого тела, инженерные дисциплины)^{1, 2, 3}.

Новое междисциплинарное научное направление – молекулярная инженерия, изучающая методы и средства молекулярного дизайна для решения практических задач разработки химических и биохимических веществ с заданными свойствами.

Нанотехнология возникла на стыке электроники, физики, химии, биологии и материаловедения; она делает возможным создание новых функциональных материалов, устройств и систем нанометрового размера. Нанобиотехнология – это конструирование новых материалов и устройств на основе естественных или синтетических макромолекул, конструирование новых биологических структур на основе синтетических биополимеров.

Современная трактовка основного понятия сводится к следующему:

- нанотехнология (Nanotechnology) – это технология, позволяющая создавать устройства (или элементы устройств), размеры которых составляют от 0,5 нм до 0,1 мкм; нанотехнологию следует рассматривать как совокупность методов и приемов, обеспечивающих возможность контролируемым образом создавать и модифицировать объекты, включающие компоненты с размерами менее 100 нм, имеющие принципиально новые качества и позволяющие осуществлять их интеграцию в полноценно функционирующие системы.

Некоторые вещества в виде наноструктуры могут иметь новые свойства отличные от макроструктуры. Таким примером могут служить магнитные частицы. При уменьшении их размеров до нескольких нанометров происходит формирование

¹ Третьяков Ю. Д. Основные направления фундаментальных и ориентированных фундаментальных исследований в области нанотехнологий / Ю. Д. Третьяков, Е. А. Гудилин // *Альтернативная энергетика и экология*. – 2009. – № 6. – С. 39–66.

² Фостер Л. *Нанотехнологии. Наука, инновации и возможности* / Л. Фостер. – М.: Техносфера, 2008. – 352 с.

³ Шкилько А. М. *Введение в нанотехнологию* / А. М. Шкилько. – Х., 2008. – 152 с.

высокого магнитного момента и так называемого суперпарамагнетизма. Преимуществом магнитных наночастиц является возможность управления их движением в биологических тканях с помощью внешнего магнитного поля.

Известно, что протекание многих физико-химических процессов в системах с нанообъектами может отличаться от их протекания в объемной фазе. При этом размерные эффекты могут проявляться как в процессах, реализующихся на поверхности нанообъекта, так и в процессах, протекающих в его объеме. В качестве примера совместного проявления указанных выше размерных эффектов можно привести технологию получения нановискеров (наноразмерные нитевидные кристаллы, которые находят применение и в биологии).

В самом общем смысле, нанотехнологии включают создание и использование материалов, устройств и технических систем, функционирование которых определяется наноструктурой, то есть упорядоченными фрагментами размером от 1 до 100 нм (акад. Ю. Д. Третьяков).

Согласно рекомендации 7-й Международной конференции по нанотехнологиям (Висбаден, 2004), выделяют следующие типы наноматериалов:

- нанопористые структуры;
- наночастицы;
- нанотрубки и нановолокна;
- нанодисперсии (коллоиды);
- наноструктурированные поверхности и пленки;
- нанокристаллы и нанокластеры.

Размерные и функциональные особенности наноматериалов:

«0»-мерные: квантовые точки (легкость);

«1»-мерные: квантовые нити, нанотрубки, нановолокна, линейные полимеры (прочность, стойкость, эластичность);

«2»-мерные: квантовые ямы, сверхрешетки, пленки Ленгмюра-Блоджетт, биомембраны (биосовместимость, селективность, энергоемкость);

«3»-мерные: нанокомпозиты, фуллерены, фуллероиды, астролены, 3D фотонные кристаллы, мицеллы, биоорганические полимеры, биоэнергетические кластеры.

Нанонаука, являясь частью nanoиндустрии, занимается исследованиями свойств наноматериалов и явлений в нанометровом масштабе. Она опирается на знания научных областей, являющихся разделами физики (квантовая теория, физическое материаловедение, физика поверхностей, химия поверхностей, химический синтез) и биологии (биофизика, биохимия, генетика, молекулярная биология и др.). Результаты исследований используются нанотехнологией для создания наноструктур, а nanoинженерия занимается поиском путей их использования.

В работе П. Д. Саркисова с сотр.⁴ выделены общие направления nanoиндустрии: наноматериалы, nanoэлектроника, nanoфотоника, nanoбиотехнологии и nanомедицина. К наноматериалам относят конструкционные, композиционные и функциональные; nanoэлектроника включает силовую электронику, накопители информации и миниатюризацию электронных схем; nanoфотоника использует молекулярную оптоэлектронику, метаматериалы, наносенсорику и nanoплазмонику; nanoбиотехнологии, по утверждению авторов, являются синтетическими и полусинтетическими, и связаны с живыми системами; nanомедицина занимается диагностикой, адресной доставкой лекарств, выращиванием органов и тканей, созданием нанороботов.

На наш взгляд, к приоритетам в области наноконструирования и нанотехнологий также следует отнести:

- создание новых поколений функциональных и конструкционных наноматериалов (например, конструирование структуры материала с заданными пористостью, размером и распределением пор для систем хранения водорода, адсорбции токсических веществ и транспорта биомолекул);
- мембраны и каталитические системы (создание каталитических систем с высокой активностью, стабильностью и возможностью регенерации для повторного использования);
- экологию и системы безопасности (разработка новых технологий химического синтеза с целью их экологической безопасности и экономической рентабельности).

⁴ Саркисов П. Д. Принципы управления проектами в сфере nanoиндустрии / П. Д. Саркисов, О. В. Стоянова, М. И. Дли // Теоретические основы химической технологии. – 2013. – Т. 47. – № 1. – С. 36–41.

Перечисленные направления имеют значимость во всех странах, но существуют и некоторые особенности и в этой области. Например, в России выделяют важность развития солнечной энергетики и энергосбережений, опто- и наноэлектроники, медицины и биотехнологии. Государственная программа Украины: «Фундаментальные проблемы получения новых материалов с наперед заданными свойствами, методов их соединения и обработки».

Нанотехнологии предназначены для производства атомно-молекулярных систем с требуемыми эксплуатационными свойствами.

Поэтому, любой нанотехнологический проект может быть реализован специалистами, хорошо владеющими одновременно знаниями в области математики, физики, химии, механики волновой и биологии. И те студенты, которые владеют такими знаниями и обладают соответствующим потенциалом, попадут в круг ведущих специалистов.

Биология, как фундаментальная наука, наряду с математикой, физикой и химией, является ведущей в области нанотехнологий. Это предопределяется следующим:

- биосистемы – это самые совершенные системы на свете (Дж. Райан);
- многие биологические структуры уходят в область наномасштабов (нм): характерные размеры индивидуальных пептидных молекул – 2–30; в живой природе молекулы липидов имеют размеры до 10; все трансмембранные белки – преобразователи энергии, занимают в пространстве от 10 до 100; белковые молекулы: фибриноген – 50; липопротеин – 20; гемоглобин – 7,0; аминокислоты: глицин – 0,42; аланин – 0,47; валин – 0,54; треонин – 0,54; триптофан – 0,90;
- диаметр удвоенной спирали ДНК составляет ~ 2,5 (по модели Уотсона и Крика диаметр спирали ДНК 1,8–2,0), расстояние между соседними парами оснований – 0,34, а полный оборот спирали – 3,4; расстояние между молекулами ДНК – от 2,5 до 5,0; реальная толщина нитей ДНК составляет десятки нм;
- гуанин-фосфат – 0,86, а цитозин-фосфат – 0,81;
- молекула АТФ – ~ 0,95; хлорофилл растений – ~ 1,1, а толщина одной мембраны хлоропласта – ~ 5, в нативном хлоропласте толщина люмена – 4–10; протонная АТФ-синтаза – ~ 10;

- биомембраны – 6–7 (мембранное пространство – ~ 70);
 - ферритины-класс белков, ячейка с внутренним диаметром ~ 8, образуют частицы нанометрового размера;
 - размеры рибосом – 15–20 (~ 30); липосомы – 50;
 - молекула бактериородопсина – 5;
 - многие вирусные частицы имеют размер в пределах от 20 до 100;
 - гликопротеиды – форма сфер диаметром 80; в параллельных рядах молекулы тропоколлагеновых структур расположены одна относительно другой на расстоянии 64 нм.
- Эмпирическое соотношение для оценки размеров биологических макромолекул $d = 0,12\sqrt[3]{M}$ (d – в нм; M – молекулярная масса).

- Принципы, заложенные в живой природе: самоорганизация, самосборка и самовосстановление; живое способно к саморегуляции и регенерации повреждений⁵.
- Биологические структуры характеризуются сильным влиянием иерархических масштабов исходных структур и заложенным в этих структурах генетическим кодом: системы низших уровней являются частями биологических систем последующих уровней; эти части объединяются в целое только при строго определенной их взаимной ориентации; существует единственно возможная архитектура природных форм биосистем, способных интегрироваться в системы последующих уровней. Для самоорганизации иерархических систем характерны следующие условия: размеры частей биосистемы должны соотноситься с размерами самой системы и интеграция частей в целое возможна только за счет слабых связей, необходимых для управления системой (структурой) с помощью «обратных связей» при ее взаимодействии с внешней средой. Следует учитывать уникальность свойств объектов малых размеров, к которым и относятся биологические наноструктуры и которые определяются, прежде всего, законами квантовой физики, что

⁵ Огурцов А. Н. Структурные принципы бионанотехнологии / А. Н. Огурцов. – Х. : НТУ «ХПИ», 2008. – 139 с.

вступают в силу на этих масштабах (квантовые системы – это отдельные электроны, спины, фотоны).

- Биологические системы сохраняют неравновесное состояние, используя сложные биохимические связи.
- Биологические макромолекулы – это химическое многообразие строительных «кирпичиков» таких как аминокислоты, нуклеотиды, сахара, липиды. Сами «кирпичики» склонны к спонтанному, но регулируемому на молекулярном уровне образованию сложных пространственных структур.
- Белок – наночастица; ДНК – структура упакованной наноцепи.

К вышеизложенному следует добавить, что миниатюризация устройств и систем сопряжена с гибкостью и подвижностью структур. Такие качества заложены в «конструкцию» биомолекул. В работах рассматриваются эти качества на конкретных примерах.

Биомолекулы проявляют гибкость на всех уровнях и во всем диапазоне размеров (от атомарного до уровня макромолекулярных ассоциатов). В частности, тепловое движение используется для активности каталитических систем, индуцированное соответствие – для молекулярного «узнавания», конформационные изменения – для регулирования и образования различных функциональных узлов.

Следовательно, бионанотехнологии, наряду с компьютерно-информационными и другими технологиями, являются фундаментом научно-технического прогресса этого века.

К примеру, среди приоритетных направлений развития науки России являются и живые системы, а среди технологий: биоинформационные, биокаталитические, биосинтетические и биосенсорные; клеточные; технологии биоинженерии; технологии создания биосовместимых материалов; технологии создания мембран и каталитических систем.

Использование знаний биологических процессов дает возможность находить новые технические решения, пользуясь уже созданными Природой рецептами и компонентами.

К фундаментальным принципам наноустройств следует отнести:

- механизм переноса зарядов (на протяжении 3–4 млрд лет Природа «создавала» и «создала» эффективную электронно-транспортную цепь начальных стадий фотосинтетических реакций);

-
- концепция «снизу-вверх» (bottom-up) как доминирующая для создания наноустройств; соединение и выстраивание отдельных составляющих в упорядоченные структуры (молекулярные структуры являются исходными для формирования биологических систем);
 - видоизменение существующих наноструктур с целью получения желаемых свойств новых наноматериалов (иммобилизация ферментов на природных или искусственных носителях способствует проявлению определенных свойств для наноконструирования);
 - принципы самоорганизации, самосборки и самовосстановления как необходимые условия создания упорядоченных наноконструктивных систем (комплементарность ДНК как уникальный принцип образования наносистемы; специфическое «узнавание» субстрата ферментом с последующим образованием фермент-субстратных комплексов; способность биологических материалов к образованию высокоспецифических межмолекулярных контактов; регулярно повторяющиеся с последовательностью аминокислотных остатков самоорганизующие полипептиды обеспечивают взаимодействие молекул в процессе самосборки и формирование надмолекулярных комплексов).

Удачным примером инженерно-технического применения биосистем – работы специалистов НАСА. Им удалось выделить самоорганизующиеся белки из термофильных бактерий и, подвергнув их интенсивной модификации, создать на их основе абсолютно новое техническое устройство. Белки были осаждены на электродах таким образом, что из них образовалась регулярная решетка или сетка (с промежутками в 17 нм), которая оказалась удобной средой для магнитной записи информации в дисководах или для использования в солнечных батареях.

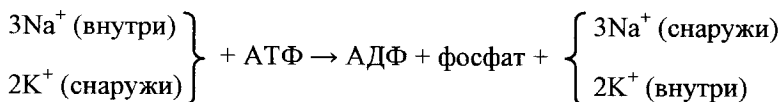
Созданы биосенсорные устройства (флуорометры) составной частью которых является технологический оптоэлектронный хлорофилл-сенсор. Фотохимический процесс инициируется с уровня, что соответствует энергии 1,82 эВ фотосистемы II 680 нм (Ин-т кибернетики им. В. М. Глушкова).

Современные бионанотехнологии позволяют синтезировать структуры, защищающие от разрушения основные компоненты

клетки. К таким структурам относятся лизосомальные частицы, которые способствуют регенерации биомембран (Харьковский политехнический ин-т).

Примером могут служить создание наноэлектромеханических систем с чрезвычайно низким энергопотреблением на основе природных (биологических) наносистем. К биологическим «молекулярным моторам» относят крошечное устройство, способное выталкивать и втягивать стержень, сделанный из молекулы ДНК, со скоростью почти 190 нм/сек с общим перемещением 3 мкм (диаметр этого стержня ~ 2 нм). Вместо нанобатарейки такой «мотор» использует молекулы АТФ.

Техническим решением Природой может служить «молекулярная машина», называемая натриево-калиевый насос (использующий свободную энергию гидролиза АТФ для выкачивания ионов Na^+ из клетки и накачивание ионов K^+ в клетку). Реакция активного транспорта



Na^+ - K^+ насос является мембранносвязанным белком. На каждую гидролизованную молекулу АТФ приходится 3Na^+ , откачанных из клетки, и 2K^+ , накачанных в клетку.

Фосфорилирование Na^+ - K^+ насоса молекулой АТФ вызывает конформационное изменение в белке, обменивающим связаные ионы Na^+ на ионы K^+ , находящиеся снаружи клетки. Последовательный гидролиз фосфатных групп из Na^+ - K^+ насоса вызывает конформационные изменения для обмена ионов внутри клетки (распространен он только в тканях животных и человека и отсутствует у растений).

Функциональной единицей Na^+/K^+ -АТФазы (Na^+ -насоса) является комплекс, состоящий из двух субъединиц: каталитической α -субъединицы и дополнительной β -субъединицы. Механизм активного транспорта ионов связан с наличием двух основных конформаций белка и конформационные переходы происходят в результате гидролиза АТФ (конформер или поворотный изомер – это особое свернутое состояние или структура белка обладающее низкой энергией, то есть термодинамически устойчивое при физиологических условиях).

При этом нужно учитывать тот факт, что каналы осуществляют трансмембранный перенос ионов не спонтанно, а в результате изменения мембранного потенциала и других факторов (наличие других ионов и вторичных посредников).

Прекрасным примером для наноконструкторов – графическое пояснение механизма молекулы F_1 -АТФазы в качестве ротационного «двигателя», который осуществляет направленную передачу протона. Молекула F_1 -АТФазы была прикреплена к стеклянной поверхности путем никель-гистидиновых связей. К другой стороне «двигателя» прикреплялось жесткое белковое волокно (актин), на конце которого был металлический наконечник с флуоресцентной краской. При добавлении АТФ флуоресцентное волокно вращалось (микроскопическое наблюдение). Молекула-тример и вращение происходило с шагом в 120° и управлялось гидролизом АТФ («двигатель» функционировал эффективно).

Природа практикует стратегию «снизу-вверх», осуществляемую методами самоорганизации и самосборки. Процессы самосборки (self-assembly), самоорганизации (self-organization) и самовосстановления (self recovery) в биологических системах рассматриваются как приоритетное направление в нанотехнологиях (без этих процессов практически нельзя сохранить устройство в наноразмерном диапазоне).

Современные данные показывают, что в процессе эволюции биологические наноструктурные образования выработали сложные механизмы этих процессов. Например, для самосборки фибриновых полимеров должна присутствовать плазменная трансклутаминаза в качестве стабилизирующего фактора, под влиянием которой эти полимеры подвергаются ковалентным «сшиванию» (образуются глутамиллизиновые изопептидные связи). Кроме того, этот фактор катализирует также образование изопептидных связей между соседними молекулами фибрина (ведет к появлению α -полимеров). COOH – терминальные участки определенных цепей ковалентно связываются между собой с образованием межмолекулярных димеров.

Некоторые ионные и амилоидогенные пептиды способны проявлять в водных растворах склонность к самоорганизации, формируя наноструктуры в виде фибрилл длиной в несколько

сотен нм. На примере пептидных структур $H - (RLDL)_4 - OH$ рассматриваются механизмы самоорганизации при образовании протофиломента. Один из способов реализуется в итоге взаимодействие гидрофобных поверхностей, представленных остатками лейцина в составе антипараллельных димеров пептида $H - (RLDL)_4 - OH$. Второй способ реализуется через промежуточную стадию образования лентовидных структур типа тетрамер «лист» с последующей реорганизацией взаимного расположения димеров этого пептида. Третий способ характеризует взаимодействие двух тетрамеров (лист) с участием гидрофобных поверхностей, сформированных боковыми заместителями остатков лейцина, что приводит к формированию структуры стабильного октамера. Характерная топология и стабильность пептидов $H - (RLDL)_4 - OH$ в составе комплексов димера, тетрамера и октамера обуславливает основные стадии процесса самоорганизации молекул ионных пептидов в воде, что, в конечном итоге, обеспечивает образование наноструктур в виде филаментов⁶.

Итак, биологический мир построен на принципах самоорганизации и движущей силой этого явления является стремление системы к термодинамическому равновесию – равенству химических потенциалов идентичных молекул в различных супрамолекулярных системах. Монотонное уменьшение химического потенциала молекулы с ростом числа агрегации приводит либо к фазовому разделению раствора – формированию «бесконечно больших» частиц, либо к замыканию границ частицы на себя с образованием мицеля или везикул, типичных для однокомпонентных липидных бислоев и биологических мембран.

К достоинствам использования процессов самоорганизации в нанотехнологиях можно выделить следующие:

- возможность формирования структур на молекулярном уровне с субнанометровой точностью;
- самоорганизация – параллельный процесс, так как с уменьшением размера системы становится все сложнее опериро-

⁶ Данилкович А. В. *Определение комплексов пептидов $H - (RLDL)_4 - OH$, обеспечивающие процесс самоорганизации наноструктур в воде* / А. В. Данилкович, Е. В. Соболев, Д. А. Тигонов и др. // Доклады АН. – 2012. – Т. 443. – № 4. – С. 507–510.

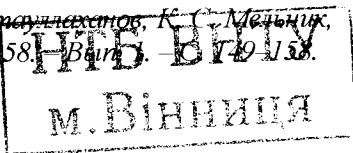
вать ее индивидуальными компонентами (эта черта особенно важна для наноконструирования);

- самоорганизация позволяет создавать трехмерные структуры;
- самоорганизация системы и их агрегаты изменяют свою структуру и свойства в условиях незначительных изменениях внешней среды (это чрезвычайно важно как при создании разнообразных сенсоров, так и при дизайне сложных систем контроля и управления нанотехнологическими процессами).

Биосинтез, как процесс, позволяет не только воспроизводить самоорганизацию биосистем, но и создавать уникальные наномеханизмы и наносистемы, способные к «умному» взаимодействию с окружающей средой. Пример принципа самоорганизации – наслаивание на наночастицу «слой за слоем», которое основано на электростатических взаимодействиях (действие заряженной поверхности или нижнего слоя с полимером с противоположным зарядом и наслаиванием мономолекулярным слоем). Ведь синтезируются надмолекулярные биологические структуры с использованием электростатического взаимодействия, сольватационных эффектов, которые иногда относят к гидрофобным взаимодействиям, водородных связей, которые и есть основными носителями в этих процессах (водородные связи являются кратковременными, однонацеленными и специфичными, но они стабилизируют, например, α -спираль в протеинах и удвоенную спираль ДНК).

Важно отметить то, что есть свойство, которое является обязательным и основополагающим для всех самоорганизующих систем – наличие в системе двух или более устойчивых состояний. Один из простейших примеров процесса самоорганизации – деполимеризация микротрубочек, состоящих из молекул тубулина – белка (микротрубочки имеют вытянутую форму длиной 8 нм и диаметром ~ 5 нм). По утверждению авторов ⁷, эта система реализует рабочий цикл, который включает в себя стадии различной природы: молекулярное связывание – отсоединение (присоединение ГТФ тубулином, находящимся в стенке микротрубочки, и отсоединение тубулина от протофиламента, который

⁷ Атауллаханов Ф. И. Самоорганизация и системы с несколькими состояниями равновесия / Ф. И. Атауллаханов, К. С. Мельник, А. А. Бутылин // Биофизика. – 2013. – Т. 58. – Вып. 1. – С. 149–158.



464118

рассматривается как две соседние молекулы, расположенные вдоль оси тубулина и образующие цепь параллельно оси микротрубочки; высвобождение ГДФ с помощью ГТФазы и присоединение новой молекулы ГТФ). Химическая реакция расщепления ГТФ тубулином приводит к механическому изменению формы молекулы (изгибание тубулина при деполимеризации микротрубочки). Следует отметить, что микротрубочка может существовать в двух конформациях, которые, в соответствии с геометрией молекулы, называют «выпрямленной и изогнутой». Авторы полагают, что самоорганизация в диссипативных системах и активных средах происходит лишь в том случае, когда эти системы способны существовать в нескольких стационарных состояниях. Элементы любой самоорганизующей системы обладают свойствами стабильности.

Для описания самоорганизации активности наночастиц используется трехпараметрическая система Лоренца: три режима движения (вращательный, поступательный и прерывчатый). Эти формы движения имеют особенности перехода, например, вращательный – к поступательному под влиянием флуктуаций. Различные конформации молекул обусловлены колебательными движениями связей и вращением вокруг одинарных связей.

Склонность некоторых материалов к образованию наноструктур «самосборкой» является одним из главных направлений исследований. Изучение этих процессов позволило установить, что для формирования устойчивых упорядоченных структур необходимо наличие локального минимума потенциальной энергии, среди возможных других состояний системы, иными словами, формирование упорядоченных структур оказывается невозможным при наличии только притягивающего или только отталкивающего потенциала между простейшими элементами. При этом самоорганизация – строго неравновесный процесс, во многом определяемый кинетическими факторами. Следует учитывать тот факт, что биологические структуры имеют диссипативный характер, поэтому их самоорганизация, как отличительная черта, требует дополнительной внешней энергии (определенная пространственная или временная упорядоченность названа диссипативной, так как ее существование требует непрерывного обмена веществ и энергией с окружающей средой).

По утверждению М. В. Волькенштейна⁸, самосборка основана на молекулярном узнавании, осуществляемой благодаря слабым взаимодействиям. К таким видам следует отнести: ионные силы; ион-дипольное взаимодействие (между ионами и полярными группами молекул); ориентационные силы (электростатические взаимодействия между диполями); индукционные силы; дисперсионные силы (взаимодействие валентно насыщенных электронных оболочек атомов и молекул); водородные силы (стабилизируют вторичные структуры белковых цепей; играют существенную роль в конформационном строении нуклеиновых кислот и углеводов); гидрофобные взаимодействия (силы специфического отталкивания между неполярными атомными группами и молекулами воды).

Самосборка, как спонтанная ассоциация нескольких или многих компонентов, приводит к возникновению ансамблей в виде слоев мембран и др. Этот процесс происходит благодаря ковалентным взаимодействиям.

Главную роль в процессах самосборки играют процессы молекулярного распознавания (molecular recognition) эндо- и экзорцепторов. Упорядочение и самосборка составляющих элементов приводит к спонтанному образованию функциональных надмолекулярных структур. При этом многообразии форм надмолекулярных объектов определяется прежде всего формой элементарной единицы. Одним из наиболее эффективных примеров является самосборка вируса табачной мозаики (ВТМ), цилиндрическая форма которого обусловлена секторообразной формой пептидной молекулы (РНК несет информацию лишь о качестве пептидов, участвующих в строительстве вируса; пептиды стремятся к самосборке в надмолекулярные структуры даже в отсутствие РНК). Самопроизвольное образование неотличимых от исходных вирусных частиц ВТМ в отсутствие ферментов привело к заключению, что все необходимое для появления интактных частиц ВТМ (информация и материя) содержится в белковой и нуклеиновой компонентах вируса. Изменяя ионную силу и (или) рН раствора, можно воздействовать на форму надмоле-

⁸ Волькенштейн М. В. *Биофизика : учеб. пособие, 3-е изд., стер.* / М. В. Волькенштейн. – СПб. : Лань, 2008. – 608 с.

кулярного объекта: при определенных условиях пептиды собираются в диски, при других – в спиралевидные колонны.

Самоорганизация, как упорядоченная самоассоциация, приводит к возникновению дальнего порядка в расположении ассоциатов; образуются супрамолекулярные структуры, которые характеризуются определенным расположением компонентов (архитектурой) и межмолекулярными взаимодействиями, удерживающими их вместе. Иными словами, самосборкой или самоорганизацией называют процессы, в результате которых составные части системы, будь-то атомы, ионы, молекулы, коллоидные или макроскопические частицы, самопроизвольно организуются в упорядоченные (как правило, функциональные) структуры.

Типичным примером этих явлений – механизм индуцированного соответствия в ферментативном катализе. Сорбционный участок глобулы способен принять конфигурацию, отличную от равновесной (т. е., термодинамически устойчивой в отсутствие субстрата), чтобы обеспечить наибольший контакт фермента с субстратом. В результате такого электронно-конформационного взаимодействия фермента с субстратом и формируется активный центр, в котором фермент и субстрат «подстроились» друг к другу.

Изучение субстратной специфичности ферментов привело к возникновению идеи о комплиментарности молекулы субстрата и специфического участка на поверхности молекулы фермента, которые подходят друг к другу. К этому участку, называемым активным (или каталитическим) центром, присоединяется молекула субстрата, претерпевающая превращение в ходе каталитического акта. Исследованиями установлено, что эта молекула должна обладать двумя основными структурными особенностями. Во-первых, она должна содержать специфическую химическую связь, которую фермент мог бы «атаковать», и, во-вторых, в ней должна присутствовать функциональная группа, называемая связывающей группой. Эта группа способна связываться с ферментом и ориентировать молекулу субстрата в активном центре таким образом, чтобы «атакуемая» связь субстрата правильно располагалась по отношению к каталитической группе фермента.

В многообразии наноматериалов входят супрамолекулярные материалы, формируемые из более простых молекул, с целью

создания молекулярных устройств или машин, имитирующих биологические процессы в живых организмах, нанопористые структуры. Супрамолекулярные структуры обладают конформационными, термодинамическими, кинетическими и динамическими свойствами. В них могут быть выделены различные типы взаимодействий: координационные (с ионами металлов), донорно-акцепторные, электростатические, ван-дер-ваальсовы (как один из видов дисперсных взаимодействий), водородные связи. Межмолекулярные взаимодействия слабее, чем ковалентные связи. Поэтому супрамолекулярные ассоциаты термодинамически менее стабильны и динамически более гибки, чем молекулы.

Среди нековалентных взаимодействий следует выделить ван-дер-ваальсовы взаимодействия, которые являются кратковременными. Взаимодействия между неполярными молекулами называются дисперсионными; между двумя поляризованными (постоянными диполями) – ориентационными (или дипольными); между неполяризованной молекулой и постоянным диполем – индукционными. Ван-дер-ваальсовы взаимодействия реализуются между разными молекулами и атомами независимо от их природы.

Рассматривая биологические объекты как источник нанотехнологий, следует учитывать изменение собственных поглощательных свойств в отношении электромагнитных излучений. Иллюстрацией этих изменений – явления люминесценции, фосфолюминесценции, хемилюминесценции.

Люминесценция – это свечение, не связанное с тепловым излучением, это неравновесное излучение, избыточное над тепловым излучением тела, длительность которого превышает период световых колебаний ($T > 10^{-15}$ с, вещества люминофоры). В зависимости от способа возбуждения различают фотолюминесценцию (свечение под воздействием светового излучения; освещение светом веществ в видимом и УФ-областях); электролюминесценцию (свечение под действием электрического поля); катодолюминесценцию (свечение под воздействием электронов); хемилюминесценцию (свечение под влиянием химических реакций и превращений; например, свечение окиси фосфора, которое возникает при окислении фосфора); биолюминесценцию (свечение живых организмов; свечение некоторых споровых растений, морских существ, бактерий).

С учетом длительности свечения – флуоресценция (свечение исчезает тотчас после прекращения облучения возбуждающим светом (10^{-8} – 10^{-9} с)) и фосфоресценция (свечение, продолжительность которого от 10^{-8} с до нескольких часов).

Для нанотехнологий полезными могут быть такие явления в биологических структурах как люминесценция и хемилюминесценция. Электроактивные молекулы с обширным сопряжением π -электронов способны хорошо люминесцировать. Несмотря на возбуждение молекул в различные электронные состояния, люминесценция испускается при переходе с нижнего возбужденного синглетного состояния, энергия которого составляет 1–4 эВ. Качественную характеристику эффективности преобразования энергии электронов в световую дает зависимость интенсивности флуоресценции от энергии электронов или, так называемая, функция возбуждения флуоресценции. Эта функция достигает максимального значения при энергии возбуждающих электронов, превышающей в 3–4 раза пороговую, приблизительно равную энергии возбуждения синглетного состояния. Дальнейшее увеличение энергии электронов приводит к медленному уменьшению интенсивности флуоресценции.

Природа флуоресценции следующая: молекула поглощает свет, который переводит ее в высшее электронное состояние. При поглощении света молекула находится в возбужденном колебательном состоянии в пределах этого состояния, имеющего электрон на несвязывающей или антисвязывающей орбитали, в которой связанные атомы отстают дальше друг от друга, чем в основном электронном состоянии. Таким образом, минимум потенциальной ямы возбужденного электронного состояния перемещается в сторону больших расстояний. Возбужденная молекула затем может быстро потерять некоторую часть своей возбужденной колебательной энергии и вернуться в самое низкое колебательное состояние возбужденного электронного уровня (внутренняя конверсия). Это быстрая потеря колебательной энергии – безизлучательная; свет не выделяется, но рассеивается в виде тепла, которое расходуется на столкновение молекул и растворителя. Иногда, в основном колебательном состоянии возбужденного электронного уровня молекула может излучать свет в виде флуоресценции.

Форма спектра флуоресцентного излучения может иметь сходство со спектром поглощения, сдвинутым в более длинноволновую область, поскольку в излучении и поглощении участвуют те же самые электронные и колебательные уровни. Спектры флуоресценции и максимумы флуоресцентного излучения чувствительны к типу среды и их можно использовать для изучения молекулярного окружения.

Итак, к характерным особенностям флуоресценции (испускание света возбужденной молекулой) следует отнести:

- частота флуоресцентного излучения ниже, чем частота возбуждающего света (энергия испускаемого фотона отличается от энергии поглощенного на величину колебательной энергии, переданной окружающей среде. Поэтому, область флуоресцентного излучения объекта, облученного, например, УФ-светом, сдвинута к красному краю спектра. Спектры поглощения и флуоресценции молекулярных систем подчиняются закону Стокса, согласно которому длина волны максимума флуоресценции всегда больше длины волны возбуждающего света);
- в спектре флуоресценции может наблюдаться колебательная структура (переходы на различные колебательные уровни с верхнего электронного на более низкий электронный уровень);
- избыточная энергия возбуждения преобразуется в свет с большей длиной волны (и меньшей энергией), при этом остаток энергии теряется в виде тепла (возбужденные электроны возвращаются в своё обычное низкоэнергетическое состояние).

К характеристическим параметрам флуоресценции можно отнести так называемый коэффициент асимметрии (q_e):

$$q_e = 2 \frac{I_L - I_R}{I_L + I_R},$$

где I_L и I_R обозначают лево- и право-циркулярно-поляризованные интенсивности. Значение q_e – экспериментально измеряемый параметр концентрации биологических молекул.

В работе⁹ излагается природа флуоресценции с использованием принципа Франка – Кондона, который указывает на то,

⁹ *Физическая химия. Принципы и применение в биологических науках* / И. Тиноко и др. – М. : Техносфера, 2005. – 734 с.

что молекула при поглощении света переходит в высшее электронное состояние и этот переход вертикальный (ядро, более тяжелое, чем электроны, при электронном переходе не изменяет положения). Гашение флуоресценции может происходить путем процесса столкновений. Молекулярный кислород является одним из наиболее распространенных тушителей вследствие того, что в своем основном электронном состоянии он триплетен (имеет два неспаренных электрона). Большинство возбужденных флуорофоров излучает из синглетного состояния (нет неспаренных электронов). Триплетное состояние – это обычно состояние с более низкой энергией, чем синглетное.

Квантовый и энергетические выходы являются важными показателями люминесценции¹⁰.

Квантовый выход ($B_{кв}$) – это отношение числа излучаемых квантов в единицу времени к числу поглощенных в единицу времени ($B_{кв} = n_{изл}/n_{погл}$). Этот выход не зависит от длины волны поглощенного света. Энергетический выход ($B_{эн}$) – это отношение энергии люминесценции к энергии поглощения ($B_{эн} = E_{люм}/E_{погл}$). Энергетический и квантовый выходы объединены соотношением:

$$B_{эн} = B_{кв} U_{изл}/U_{погл} \leftrightarrow B_{эн}/B_{кв} = U_{изл}/U_{погл}.$$

Квантовый выход флуоресценции растворов определяют в сопоставлении интенсивности флуоресценции исследуемого и эталонного растворов:

$$V = V_{эм} \frac{D_{эм} \cdot S}{D \cdot S_{эм}},$$

где $V_{эм}$ – квантовый выход флуоресценции эталонного раствора, $D_{эм} \cdot D$ и $S_{эм} \cdot S$ – оптические плотности (на длине волны возбуждения света) и интегральные интенсивности флуоресценции эталонного и исследуемого растворов соответственно.

¹⁰ Бойко В. В. Концепция гипер- и гипобиотических процессов в свете квантово-биологической теории. Кванто-биологическая теория : монография / под общ. ред. В. В. Бойки и М. А. Красноголовца. – Х. : Факт, 2003. – 968 с.

Квантовый выход флуоресценции некоторых биологических структур:

- хлорофилл **a** (среда диэтиловый эфир) – 0,12;
- хлорофилл **b** (среда H₂O) – 0,03–0,08;
- рибофлавин (среда H₂O, рН7) – 0,26.

Некоторые ароматические аминокислоты в белках светятся:

- фенилаланин – квантовый выход (при λ_{\max} поглощения 257 нм и флуоресценции λ_{\max} 282 нм) составляет 0,04; имеется бензольное кольцо;
- тирозин – квантовый выход (при λ_{\max} поглощения 257 нм и флуоресценции λ_{\max} 303–304 нм) – 0,21; обусловлено наличием фенольного кольца в структуре молекулы;
- триптофан – квантовый выход (при λ_{\max} поглощения 280 нм и флуоресценции λ_{\max} 353 нм) – 0,21 (может достигать величины 0,32); спектральные свойства обусловлены его индольным кольцом (это соединение, как одно из основных хромофоров, определяет фотохимические реакции белков).

К флуорофорам, которые рассматриваются в биологических исследованиях, относится флуоресцеин. В щелочной среде (0,1 М NaOH) квантовый выход флуоресценции этого вещества составляет 0,93, а время жизни излучения – 4,62 нсек (отметим, что квантовый выход можно рассматривать и как отношение скорости флуоресценции к скорости погашения).

Исследование показало, что флуороновые красители (флуоресцеин, эозин Y, эритрозин B) способны к фотообесцвечиванию, которые связывают с окислительно-восстановительными реакциями с участиями их триплетных состояний. В работе рассмотрена кинетика лазерного ($\lambda = 532$ нм) фотообесцвечивания красителя (эозин Y) в матрице хитозана. Аминогруппы хитозана предположительно могут способствовать снижению скорости фотообесцвечиванию (это проявляется под воздействием аргонового лазера, $\lambda = 488$ нм). Взаимодействие красителя с матрицей хитозана в данном процессе может корректировать энергетический баланс реакции за счет образования водородных

связей, а также снижать населенность возбужденных состояний за счет их тушения аминогруппами¹¹.

Хемилюминисценция существует в трех видах: митотическое свечение, биолюминисценция и сверхслабое свечение.

Митотическое свечение (ультрафиолетовое – 290–320 нм) стимулирует деление клеток. Этот вид свечения становится источником виртуальной квантбиоэлектромагнитной дисперсии, когда происходит захват делящейся клетки энергии извне.

Биолюминисценция – результат окисления люциферина, в процессе которого их молекулы переходят в возбужденное состояние.

Сверхслабое свечение возникает при окислительных реакциях, сопровождающихся выделением тепла, причем интенсивность его пропорциональна скорости рекомбинации свободных радикалов. Обусловлено это тем, что при образовании химической связи между неспаренными электронами двух радикалов появляется избыток электронной энергии, который выделяется в виде кванта. Источником слабого свечения в сине-зеленой области спектра может быть реакция окисления липидных составляющих клеточных мембран.

Естественные хемилюминисцентные явления обнаружены в жуках-светляках и этот процесс довольно эффективный (общий квантовый выход приближается к единице). Замещенная молекула люциферина окисляется в присутствии АТФ и наличия фермента люциферазы.

Флуоресцентными свойствами обладают белки семейства зеленого флуоресцентного белка (GFP, Green Fluorescent Protein), которые формируют хромофор внутри белка за счет модификаций собственных аминокислотных остатков и используется как метка протеинов. Первый зеленый флуоресцентный белок был найден в гидроидной медузе *Aequorea victoria*. Этот белок способен формировать хромофорную группу самостоятельно, без участия внешних ферментов и кофакторов. Образование хромофора происходит за счет циклизации и последующего

¹¹ Слюсарева Е. А. Лазерный фотолит флуороновых красителей в хитозановой матрице / Е. А. Слюсарева, А. Г. Сизых, М. А. Герасимова и др. // *Квантовая электроника*. – 2012. – Т. 42. – № 8. – С. 687–692.

окисления аминокислотных остатков в сегменте последовательности Ser – Tyr – Gly, которые содержатся в позициях Ser65 – Tyr66 – Gly67 первичной структуры. В результате возникают хромофорные группы различного типа и происходит «грубая» настройка на определенный спектральный диапазон. Кроме того, эмиссия белков этого семейства подвергается «тонкой» настройки на определенную длину волны за счет различных нековалентных взаимодействий хромофора с его аминокислотным окружением. Свечение медузы возникает при взаимодействии белка (кальцийсвязывающего протеина кальмодулина) с ионами Ca^{2+} , причем в этом процессе свет испускается в отсутствие O_2 и не связан с люцеин-люциферазной реакцией.

В коралловых полипах и у других морских организмов (Anthozoa, Hydrozoa, Copepoda) обнаружены подобные GFP-белкам структуры с разнообразными спектральными свойствами (флуоресцирующие в голубой, зеленой, желтой и красной областях спектра). Следует выделить красный флуоресцентный протеин из кораллов Anthozoa (DsRd), который отличается фотостабильностью и спектры не зависят от pH среды в диапазоне 5,0–12,0. Для него присуща высокая молекулярная абсорбция и квантовый выход 79 %. При возбуждении длиной волн 558–578 нм этот протеин излучает при 583–605 нм (сдвиг в длинноволновую область).

Связанный флуоресцентный хромофор имеется и в некоторых бактериях, в частности, флуоресцирующих псевдомонадах.

На основании исследований можно выделить различные формы флуоресценции на примере белков.

Флуоресцентные белки – это класс белков, отличительным свойством которых является способность образовывать хромофор (гетерогруппу, отвечающую за поглощение света и флуоресценцию в видимом диапазоне длин волн) без участия каких-либо кофакторов или ферментов (кроме молекул O_2).

- синяя форма белка (B-форма) – молекула белка, хромофор которой имеет максимум поглощения в области длин волн 360–420 нм и не флуоресцирует (для некоторых красных флуоресцентных белков эта форма имеет очень слабую флуоресценцию с максимумом поглощения при 450 нм);

-
- зеленая форма белка (G-форма) – молекула белка, хромофор которой имеет максимум поглощения в области длин волн 450–520 нм и не флуоресцирует или флуоресцирует в зеленой области спектра (максимум при 500 нм);
 - красная форма белка (R-форма) – молекула белка, хромофор которой имеет максимум поглощения в областях длин волн 550–600 нм и флуоресцирует в красной области спектра.

Но истинным пониманием излучения является единство его волновых и корпускулярных свойств.

Практика исследований подтверждает вывод о том, что отсутствие свечений молекулярных структур связано с коническими пересечениями в фотохимических превращениях. В точках пересечения потенциальных поверхностей происходят быстрые (в пределах десятков или сотен фемтосекунд) безызлучательные переходы из более высоких состояний на потенциально кривые более низких (в пределах – основного) состояний. Т. е., конические пересечения рассматриваются как «воронки», через которые возбужденное состояние совершает безызлучательный переход в низшие состояния. Конические пересечения в фотохимическом поведении оснований нуклеиновых кислот считают установленным (возбуждение сопровождается быстрой релаксацией в спектроскопически «темное» состояние и последующим быстрым переходом в основное состояние)¹².

Ниже рассматриваются некоторые свойства биологических структур, которые могут быть использованы в процессах наноконструирования.

¹² Барановский В. И. *Фотохимия начала XXI века: смена парадигмы* / В. И. Барановский // *Журнал общей химии*. – 2010. – Т. 80. – Вып. 8. – С. 1276–1282.

1.2. Фотосинтетические структуры растений и синтетические органические молекулы порфирина как прообраз систем наноэнергетики

Биологические науки становятся междисциплинарными и в вопросах наноструктурных образований. Классическим примером является процесс фотосинтеза.

Самоорганизация порфиринов и металлопорфиринов представляет интерес с фундаментальной точки зрения как модели для изучения процесса фотосинтеза, в частности, структуры фотосинтетического реакционного центра. Но при создании искусственных энергосистем следует учитывать тот факт, что трансформация энергии должна происходить в пределах одной макромолекулы, идущие процессы последовательные и для непрерывного хода должны существовать замкнутые структуры; Природа создала такую структуру-хлоропласт. Так, функционирование реакционных центров фотосистем сопровождается конформационными изменениями его макромолекулярных компонентов, дает начало цепи переходов электронного возбуждения в энергию разделенных зарядов и энергию поляризации белковой части, а также в энергию химических связей. Известно, для образования 1 молекулы O_2 при фотосинтезе необходимо 4 кванта света и протекание 4-х фотохимических реакций, сопровождающихся накоплением окислительных эквивалентов в системе окисления H_2O и ее переходом в более окисленное состояние $S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow S_4$. Только после установления состояния S_4 происходит окисление H_2O в результате которой происходит образование O_2 и выделяются протоны (последовательность: $2H_2O + S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow S_4 \rightarrow S_0 + O_2 + 4H^+$; S_0 – исходное темновое состояние; S_4 – распадается спонтанно с полувременем затухания $\sim 1,4$ мс, вследствие чего система возвращается в исходное состояние и выделяется O_2).

Итак, финальной стадией расщепления воды в процессе фотосинтеза является реакция с выделением и протонов, т. е. та реакция разложения молекул воды, практическая реализация которой может составить основу процессов современной водородной энергетики. Очевидно, зарядовое и спиновое состояние

атомов железа, входящих в комплекс фотосистемы II, определяют во многом начальные и конечные процессы фотосинтеза.

В процессах окисления H_2O участвуют ионы Cl^- и Ca^{2+} ; без наличия этих ионов блокируется прохождения S-состояния, начиная с S_2 . Ионы Ca^{2+} не только стабилизируют организацию лигандов в Mn-кластере, но и могут принимать прямое участие в процессе окисления H_2O .

Функционирование хлорофилла, с помощью которого синтезируется около 100 млрд т органических соединений, рассматривается как супрамолекулярный механизм.

В дополнение к излагаемому материалу отметим физическую картину взаимодействия света и любого вещества, которое представляется следующим образом: падающий на среду свет «раскачивает» колебание электронов в атомах; отдавая им свою энергию, свет поглощается, однако колеблющиеся заряды сами становятся источниками вторичных световых волн; световое поле в среде формируется в результате интерференции падающего излучения и вторичных световых волн.

Рассмотрим световую стадию фотосинтеза. Известно, что фотосинтез связан с двумя фотосистемами (ФС I, ФС II) и комплексом цитохромов b_6/f , который связывает фотосистемы, передавая электроны от ФС II к ФС I. Фотосистема I — это белковый комплекс, который исполняет фотоиндуцированное окисление пластоцианина, восстановление ферредоксина, а также генерирует несимметричное трансмембранное разделение зарядов. Белковые субъединицы ФС I связывают определенное количество пигментов, которые поглощают свет, и в нужном порядке размещают и ориентируют компоненты реакционного центра (РЦ), доноры и акцепторы электронов с целью разделения зарядов на мембране.

Фотосистема II (ФС II), как белковый комплекс, является первичным акцептором квантов света, окислителем воды, восстановителем пластохинона; образует несимметричное разделение зарядов и генерирует электрохимический потенциал. Пигмент-белковый светособирающий комплекс образован четырьмя белками с хл. **a**, хл. **b** и каротиноидами (антенна ФС). Реакционный центр ФС II, который локализован в комплексе двух белков, содержит пигмент $P680^+$, феофитин и акцепторы

хиноновой природы. В ФС II сопряжены такие процессы как одноэлектронный перенос заряда в РЦ, четырехэлектронные реакции окисления двух молекул H_2O и двухэлектронное восстановление пластохинонов.

Первичным донором электронов в ФС II является возбужденный пигмент $P680^+$, который в течение ~ 1 пс отдает электрон (предполагается, что Mn-кластер – донор электронов для РЦ ФС II; cluster-группа).

В комплекс ФС II входят молекулы пластохинонов, которые последовательно функционируют как акцепторы электронов (одна молекула – как одноэлектронный восстановитель, а другая – двухэлектронный переносчик; последняя играет роль в качестве переходного «шлюза», передающего попарно электроны от РЦ на пул свободного пластохинона; в этом пуле совершаются двухэлектронные процессы окисления-восстановления). На внутренней стороне тилакоидной мембраны локализована система восстановления $P680^+$.

Каждый акцептор электронов имеет восстановительный потенциал, который количественно описывает его сродство к электрону. От одного акцептора к другому электроны переносятся квантомеханическим туннелированием (предполагают, что эффективность этого процесса определяется расстоянием до 1,4 нм; если расстояние переноса электронов увеличивается, то перемещение осуществляется с помощью белков-переносчиков).

Вода – источник электронов для окисленного светом акцептора, который является одноэлектронным переносчиком электронов от системы окисления H_2O к $P680^+$. Молекулярный кислород выделяется после отрыва четырех электронов. Свойство мембраны к фотоокислению воды связано с наличием ионов в РЦ.

В общем, схемы фотосинтетического переноса электронов, включающие две фотосистемы, объединенные комплексом цитохромов b_6/f , рассматриваются следующим образом¹³.

¹³ *Физическая химия. Принципы и применение в биологических науках* / И. Тиноко, К. Зауэр, Д. С. Вэнг, Д. А. Паглиси; Е. Р. Разумова (пер. с англ.); В. И. Горшков (ред. пер.). – М.: Техносфера, 2005. – 743 с.

Фотосистема II (ФС II) состоит примерно из 25 различных белков, многие из которых совместно связывают более 200 молекул хлорофиллов **a** и **b** и каротиноидные светопоглощающие пигменты. Центральным первичным донором электронов реакционной системы ФС II является P680 (хл. **a**), а феофитин – первичным акцептором. Четырехядерный Mn-содержащий центр окисления воды проходит через цикл последовательных S-стадий и передает электроны через остаток тирозина на P680. Со стороны акцептора электроны передаются от феофитина на связанные пластохиноны; последние протонируются и перемещаются на комплекс *b₆f*, состоящий из 7 белков. Электроны проходят через цитохром *b₆*, центр 2Fe-2S и цитохром *f* на растворимый медь-содержащий белок, пластоцианин, локализованный в освещенной части. Под воздействием световой активации P700, димер хл. **a** в реакционном центре ФС I переносит электрон на первичный акцептор хл. **a**, принимает электрон от восстановленного пластоцианина, чтобы вернуть P700 в исходное восстановленное состояние. Электроны передаются от первичного акцептора на связанный с мембраной вторичный акцептор, три FeS центра и на растворимый ферредоксин в фазе стромы. Восстановленный ферредоксин передает электроны через флавопротеин (Fd – НАДФН-редуктаза) на НАДФ⁺. Многие из 13 белков ФС I растений связывают 200 молекул хл. **a**, хл. **b** и каротиноидных пигментов, переносящих возбуждение в реакционный центр. Перенос четырех электронов для высвобождения O₂ и фиксации CO₂ в строме осуществляется за счет четырехкратного повторения двух световых реакций. Дальнейшая последовательность световых реакций заключается в транспорте протонов из стромальной к люминальной фазе. Образующийся протонный градиент является основной составной частью химического потенциала, необходимого для образования АТФ при помощи связанной с тилакоидом АТФазы.

К вышеизложенному следует добавить то, что каротиноидные светопоглощающие пигменты выступают в качестве сенсоров в фотосинтезе. Известно, что семейство каротиноидов является линейными полиенами и содержат два вида связывающих электронов. В качестве примера – β-каротин. δ-электроны, отвечающие за одинарные связи и половину каждой двойной

связи, локализованы в ограниченном малом пространстве между соседними атомами. Другой вид – π -электроны, дающие вклад в другую половину двойной связи, перемещаются по всей длине сопряженной системы (не ограничиваются пространством между соседними атомами). β -каротин имеет 11 сопряженных двойных связей, следовательно, 22 π -электрона.

Каротин – обычный спутник хлорофилла. В зеленом листе примерно на каждые 3 молекулы Хл приходится 1 молекула каротина. Наиболее удивительной особенностью строения каротина является длинная цепь чередующихся двойных и одинарных связей, что имеет важные последствия для функционирования молекулы. Во-первых, чередующиеся связи отражаются на форме молекулы, которая становится жесткой и теряет способность изгибаться; во-вторых, в растянутой цепи электроны связаны сравнительно слабо и могут легко возбуждаться даже под воздействием низкоэнергетического излучения. Его функция заключается, с одной стороны, в аккумуляровании энергии солнечного света (поглощение фиолетовой составляющей видимого света), не поглощенной Хл, а с другой – во взаимодействии с высокоэнергетическими молекулами O_2 и, таким образом, в защите растительных клеток от разрушения. Устойчивые каротиновые молекулы поглощают свет, когда молекулы Хл распадаются и не восстанавливаются.

Длина волны возрастает пропорционально квадрату длины и обратно пропорционально числу π -электронов. Поскольку длина π -системы линейно возрастает с числом π -связей, то с увеличением степени сопряжения длинноволновая полоса поглощения сдвигается в красную сторону (длинноволновую область). Спектр поглощения β -каротина идентифицируется с максимумом поглощения ~ 480 нм.

Итак, пигмент-белковые комплексы фотосистем I и II фотосинтетической мембраны являются элементами электронно-транспортной цепи. Эти комплексы обеспечивают использование энергии поглощенных квантов света для разделения зарядов; цитохромный комплекс регулирует сопряжение фотосинтетического электронного транспорта с трансмембранным переносом протонов (генерацией электрохимического потенциала), в дальнейшем используемых АТФ-синтазой для синтеза АТФ.

Для реализации квантомеханического акта электронного переноса необходима определенная, контактная конформация биомолекулярного комплекса. Главное: структурные группы белка, образующие электронную «тропу», имеют сродство к электрону и поэтому могут служить медиатором переноса электрона от донорной группы к акцепторной. Соответственно, барьер, преодолеваемый в процессе переноса, будет понижен вдоль электронной «тропы».

На примере комплекса «цитохромы – реакционный центр ФС II» показано, что для перехода этого комплекса из электронной контактной конформации в электронную неконтактную достаточно изменения взаимного расположения поверхностных групп, замыкающих между собой электронные «тропы» молекулы цитохрома с и молекул РЦ (среди молекул электронных «троп» в белках: наличие в белках железосерных кластеров или особым образом расположенных ароматических радикалов аминокислот Тир, Три, Фен, а также радикалов, содержащих серу).

Согласно современным представлениям белковые субъединицы светособирающего комплекса в процессе его синтеза первоначально собираются на мембране межгранальных тилакоидов, где происходит дальнейшая сборка всего комплекса с пигментами и липидами, а затем следует транспорт в стыкованную область. Синтез комплекса ФС II включает этап миграции ее зрелой формы из межгранальных тилакоидов в гранальные. Первичные процессы фотосинтеза включают поглощение света, миграцию энергии возбуждения с пигментов антенного комплекса на реакционные центры, разделения зарядов.

Поглощение света порфиринами в видимой области спектра объясняется тем, что они имеют состоящую, по меньшей мере, из 18-ти звеньев систему сопряженных двойных связей с π - и n -электронами, способными поглощать кванты с небольшой энергией.

Центральный атом магния в значительной степени влияет на спектральные свойства тетрапиррола. Магний обладает координационным числом 6, но обычно в фотосинтетических комплексах он пяти-координирован и образует четыре связи с атомами азота пиррольных ядер, например, бактериохло-

рофилла и одну связь с аксиальным лигандом из ближайшего белкового окружения.

Иными словами, реакционные центры (РЦ) как пигмент-белковый комплекс, в котором 6 молекул хлорофилловой природы встроены в белковую матрицу с повторяющейся точностью до десятых долей ангстрема, являются природными энергообразующими наноразмерными структурами. Замечательной особенностью этих бионаноконплексов – предельно высокая (~ 100 %) квантовая эффективность преобразования световой энергии в электрохимический потенциал с запасами энергии порядка 1,0–1,6 эВ. Очевидно, что физические механизмы процессов, обеспечивающих столь высокую эффективность работы РЦ, могут стать основой для создания нового поколения искусственных фотопреобразователей.

В свете современных исследований получены основные представления о путях движения электронов по молекулярным комплексам. Преобразование энергии солнечного света в электрохимический потенциал в РЦ фотосинтеза происходит посредством фотоиндуцированного многоступенчатого переноса электрона между донорами и акцепторами. Светособирающий комплекс растительных наноструктур – это модель фотонных технологий¹⁴.

На основании этих доказательств построены модели, которые используются для изучения механизмов регуляции фотосинтетических процессов. Модели электронного транспорта в комплексах фотосинтетической цепи могут быть использованы в конструкциях систем наноэнергетики.

Следует учитывать, что взаимодействие биологического объекта с окружающей средой предусматривает как поглощение, так и выделение электромагнитных и гравитационных квантов энергии (электронномагнитные и гравитационные поля энергии находятся во взаимноконкурирующих отношениях). Поглощение кванта электромагнитного излучения ($h\nu$) биоло-

¹⁴ Ризниченко Г. Ю. Математическое и компьютерное моделирование первичных процессов фотосинтеза / Г. Ю. Ризниченко, Н. Е. Беляева, И. Б. Коваленко, Б. А. Рубин // Биофизика. – 2009. – Т. 54. – Вып. 1. – С. 16–33.

гическим объектом сопровождается одновременным выделением кванта гравитационной энергии в окружающую среду. В дальнейшем в биообъекте происходит увеличение его массы и уменьшение заряда. Эта фаза взаимодействия внешнего поля энергии и биообъекта сопровождается забором извне кванта гравитационной энергии ($\tau\lambda$) и выделением кванта электромагнитной энергии в окружающую среду.

То есть, биологический объект является уникальным универсальным фотонгравитационным преобразователем энергии и ее использованием в процессе жизнедеятельности.

При использовании в наноконструировании энергопреобразующих систем растений следует учитывать принципы квантовой физики:

- свет, как электромагнитный процесс, испускается отдельными порциями – квантами и рассматривается как поток фотонов, основными характеристиками которого являются энергия и импульс (растение воспринимает свет в виде энергии кванта $h\nu$);
- принцип дискретности (при достижении некоторой пограничной величины энергии воздействия, фотосистема поглощает квант энергии и полностью «скачком» переходит в возбужденное состояние);
- миграция, диссипация энергии; энергия запасается и затем диссипирует в возбужденных структурах (поглощение кванта света приводит к перераспределению заряда в первичной фотоактивной паре и сопровождается конформационными переходами белковых компонентов комплекса фотореакционного центра, препятствующими обратному переносу электрона и потере энергии в процессе флуоресценции);
- энергезированное состояние поверхности, на которую посылаются $h\nu$ света (на свету образуется неравновесное распределение ионов между внутренней и внешней сторонами мембраны тилакоида; разрядка энергезированного состояния приводит к реакциям фосфорилирования);
- энергия фотона тем больше, чем больше его импульс, т. е. чем меньше длина электромагнитной волны (в литературе имеется достаточно данных относительно интенсивности фотосинтеза в зависимости от спектральных свойств).

На основании фотосинтетических структур растений и формируются подходы к созданию искусственных энергосистем. Несколько ранее созданные устройства, по сравнению с природными фотосинтетическими системами, перспектив не имели. Приведем для примера две концепции преобразования солнечной энергии с использованием наноматериалов:

- светоизлучающий диод на нанокристаллах CdSe с зависящим от напряжения спектром излучения в проводящей матрице из органического вещества;
- фотохимическая ячейка Грацеля с оптическим возбуждением заряженных молекул красителя.

Установлено, что эффективность использования энергии — не более 10 %.

Стремление найти альтернативные возобновляемые источники энергии привело к созданию кремниевых фотоэлементов, КПД которых может превышать 20 %.

Следующим этапом — использование каскадных фотоэлектропреобразователей на основе полупроводниковых наногетероструктур Ga In P / Ga In As / Ge (КПД превысил 40 %).

Такие системы должны быть созданы на основании подражания природным аналогам. По логике, следует использовать синтетические органические молекулы порфирина.

Известно, что порфириновая система представляет собой макроцикл, в котором четыре пиррольных фрагмента соединены одноуглеродными мостиками по положениям 2 и 5. Такая структура полностью насыщена и для нее на основании данных спектров ЯМР доказано существование кольцевого тока.

Четыре атома азота расположены для хелатирования катионов металлов и порфирины легко образуют комплексы со многими металлами. Порфирины встречаются в природе в виде металлокомплексных соединений. Порфириновые комплексы магния, железа, кобальта входят в состав бионеорганических соединений (цитохромы, витамин B₁₂, гемоглобин, хлорофилл, каталаза). Следует выделить, что цитохромы (железосодержащие белки) — это обязательный компонент всех электронно-транспортных биоэнергетических систем, а порфирины — уникальные природные хромофоры.

Свойства порфиринов, которые определяют перспективу их использования в наносистемах, следующие:

- поглощение света в видимой области спектра; порфирины – эффективные фотосенсибилизаторы с высоким квантовым выходом образование их триплетного состояния и большое значение констант скоростей переноса энергии возбуждения с триплетного состояния на кислород;
- низкая конформационная подвижность макроциклов-порфиринов, имеющие в растворе плоскую конформацию; значительное нарушение этой конформации требует затрат энергии сопряжения в 16-членном макроцикле, которые составляют 1600 кДж/моль (в газовой сфере); наличие валентных связей и молекулярных орбиталей вызывают повышенную стабильность молекул;
- способность к специфическим взаимодействиям, которые определяются наличием в молекулах порфиринов и металлопорфиринов разнообразных центров специфической сольватации, к которым, в первую очередь, следует отнести сопряженную π -систему макроцикла, реакционный центр лиганда порфирина, центральный атом металла в составе металлопорфиринов, гетероатомы, входящие периферийных заместителей;
- самосборка супрамолекулярных порфириновых систем, в основе которой – донорно-акцепторные взаимодействия, содержащие электроннодонорные группы на периферии макроцикла с координационно ненасыщенными металлопорфиринами; последние легко вступают в окислительно-восстановительные реакции и рассматриваются в качестве молекулярных систем, обеспечивающих эффективный фотоперенос электрона и стабилизацию состояния с разделенными зарядами; молекулы порфирина и их металлоаналоги способны обратимо присоединять и отдавать электроны.

Наноразмерные мультимолекулярные структуры на основе порфиринов и их металлокомплексов, характеризующиеся эффективными светособирающими свойствами (миграция энергии) и направленным фотоиндуцированным электронным транспортом, играют принципиальную роль в управлении природными процессами (фотосинтез и фоторецепция). Самоорганизация

порфиринов в супрамолекулярные ансамбли может происходить за счет одновременного вклада координационных взаимодействий металл-лиганд и водородных связей между заместителями, расположенными на периферии молекулы (структура, состав и устойчивость комплексов порфиринат-лиганд в значительной мере определяются природой металла. Установлено, что порфирилаты Zn легко связывают азотсодержащие лиганды и значительно слабее координируют кислород – и серосодержащие молекулярные лиганды). Именно возможность многоцентровых взаимодействий различной природы определяют способность порфиринов распознавать малые органические молекулы: аминокислоты, пуриновые основания, сахара, каротин и др. В большинстве случаев между порфириновым рецептором и молекулой субстрата образуется, как минимум, одна координационная (Zn-N) и одна водородная связь, причем наибольшей селективностью обладает водородная связь¹⁵.

Наносистемы Zn-порфиринов способны включать в свою полость такие крупные молекулы, как фуллерен C₆₀, диаметр которого близок к 1 нм (фуллеренами называют класс молекул, состоящих из атомов углерода и образующих оболочки 12 – пятиугольными и двумя (или более) шестиугольными кольцами).

В научной литературе значительное внимание уделяется изучению порфирин-фуллереновых диодов, способных к эффективному фотоиндуцированному разделению зарядов (сочетание порфирина и фуллерена (C₆₀) рассматривается как донорно-акцепторная пара, ибо в результате их комбинации реализуются возможности ускорения фотоиндуцированного переноса электрона и медленной рекомбинации зарядов, приводящие к генерации с высоким квантовым выходом долгоживущих состояний с распределенными зарядами (порфирины рассматриваются как доноры, фуллерены – как акцепторы)).

Хорошими «строительными блоками» для создания мультипорфириновых систем с высокой степенью связывания являются

¹⁵ *Квантово-биологическая теория : монография / под общ. ред. В. В. Бойка и М. А. Красноголовец. – Х. : Факт, 2003. – 968 с.*

порфирины с фенантролиновыми фрагментами, которые координируются ионом цинка (Zn^{2+}) с образованием линейных димеров.

Для порфиринов, содержащих карбоксильные заместители, характерная самоорганизация в олигомеры посредством водородных связей. Эти связи в таких олигомерах могут играть роль мостика, участвующего в фотоиндуцированном переносе электронов от донора к акцептору (например, в линейном димере донором электронов служит цинковый, а акцептором – Fe (III) – комплекс тетраарилпорфирина).

В последнее время порфириновые структуры начали использовать в производстве молекулярных запоминающих устройств (по механизму усвоения энергии хлорофиллом). Известно, что биологическая активность природных металлопорфиринов определяется их способностью к образованию так называемых экстракомплексов с молекулами и ионами, и появление макроциклического эффекта. Молекулы порфирина способны к самоорганизации или самосборки на поверхности кремниевой пластины; кремний – биологически совместимый, при этом образуются мультипорфириновые наноструктуры, которые способны окисляться и восстанавливаться (теряя или присоединяя электроны, соответственно). Эти процессы являются устойчивыми, воспроизводимыми и обратимыми, что позволяет использовать такие поверхности в электронных устройствах. Более того, такая среда не только может хранить информацию достаточно долго, но и позволяет записать значительно больший объем информации, чем обычные диски, благодаря возможным пространственным конфигурациям (каждая молекула имеет 8 разных устойчивых состояний).

Итак, путь моделирования фотосинтетических процессов – это реальный и перспективный путь в нанотехнологиях (в частности, энергетике). Более того, процесс фотоинициирования переноса электрона в системе темнового разделения заряда с высокой константой скорости позволяет использовать эти процессы для применения в быстродействующих устройствах молекулярной электроники. Поиск систем, в которых энергия электронного возбуждения преобразуется по аналогии с фотосинтезом, представляет актуальную задачу и является предметом многочисленных исследований.

При конструировании электронно-транспортных цепей следует учитывать «активные формы кислорода», которые образуются в этих системах (кислород в возбужденном синглетном состоянии, супероксидный анион-радикал, радикал, пероксид водорода). Для создания структур с переносом электрона исключительно важным является получение заданной функциональности системы путем выстраивания органических молекул, наночастиц и других компонентов в определенном порядке, который поддерживает электронный перенос и способен единичный акт переноса электрона довести до однонаправленного смещения зарядов на макроскопическое расстояние.

Важность вопросов, связанных с фотосинтезом, как моделью фотонных технологий, обусловлено тем, что будущее зависит от понимания и умения пользоваться колоссальным потенциалом света. Свет – как волновой процесс распространения в пространстве электрических и магнитных полей, а одиночный фотон – как волновой пакет и квантово-механический объект.

Нет сомнений в том, что углубленное понимание физической основы фотосинтетических реакций будет использовано в наноконструировании.

В заключении целесообразно обратить внимание на работу Т. С. Джабиева и А. Е. Шилова¹⁶. По мнению авторов, для создания устройств «искусственного фотосинтеза» следует учитывать:

- устройство эффективного сбора квантов света с разными длинами волн и доставка их в активный ПЦ;
- фотоиндуцированное разделение и стабилизация разноименных зарядов (электронов и дырок);
- каталитическое окисление воды одноэлектронными окислителями;
- восстановление воды до водорода одноэлектронными восстановителями.

Не вызывает сомнения в том, что механизмы природного фотосинтеза будут использованы нанотехнологами в осуществлении искусственных фотосинтетических процессов.

¹⁶ Джабиев Т. С. Биомиметическая утилизация солнечной энергии / Т. С. Джабиев, А. Е. Шилов // *Успехи химии*. – 2012. – Т. 81. – № 12. – С. 1146–1158.

1.3. Модельные системы «Бактериородопсин» и АТФ-синтаза – это ключ для проектирования научного эксперимента в области наноэнергетики

Перспективными в реализации научных проектов в области наноэнергетических устройств является тематика не только фотосинтеза, но и «Бактериородопсин» и «АТФ-синтаза»¹⁷.

Фотопроизводство водорода может быть организовано по принципу механизма превращения энергии пурпурным пигментом (бактериородопсином) галофильной бактерии *Halobacterium halobium*. Бактериородопсин (БР) вмонтирован в мембрану клетки; белковая часть представлена одной полипептидной цепью средней длины, не содержащую других коферментов и простетических групп, кроме ретиналя (ретиаль – светочувствительная часть пигмента), поглощающая квант света и запускающая каскад фотохимических и термических превращений, ведущих в конечном счете к переносу протона из цитоплазмы на внешнюю сторону мембраны. Ретиаль представляет собой сопряженный полиен, присоединенный ковалентно, через шиффово основание, к аминокислотному остатку Lys 216, расположенному в средней части трансмембранной спирали G-белка.

Молекулы БР, имеющие рекордную для белковых молекул термостабильность, могут быть охарактеризованы как «ионные насосы» со смещением активного центра при внутримолекулярных движениях протона, или в физических терминах, с двумя устойчивыми состояниями, обусловленными конформационными изменениями молекулы. Существенно, что в БР избыточная энергия запасается (в результате фотоцикла) в виде градиента электрохимического потенциала ионов водорода. Очень важно, что фотоцикл БР не включает каких-либо окислительно-восстановительных реакций, т. е. не сопровождается отрывом и пере-

¹⁷ Новиков Г. В. Классификация структур родопсинового рецептора современными методами структурной биоинформатики / Г. В. Новиков, В. С. Сивожелезов и др. // Биохимия. – 2012. – Т. 77. – Вып. 5. – С. 544–554.

носом электронов между различными молекулами. Последнее означает, что все изменения в системе БР достигаются в результате внутримолекулярных перестроек и поляризации ближайшего окружения ретиналя (хромофора белка).

БР относят к белковому «генератору» электрического тока. Встроенный в искусственную фосфолипидную пленку, белок направленно транспортирует протоны в ответ на вспышку света. Поглотив фотон, ретиналь переходит из *trans*- в *cis*-форму. При этом он изгибается (конформация белкового тела также незначительно меняется) и переносит протон с одного конца семи-спирального бактериородопсинового пучка на другой. Затем ретиналь разгибается и возвращается в предыдущее положение без протона. Полный цикл фотоактивации родопсина сопровождается значительным смещением внутриклеточного конца шестой спирали рецептора на 5-6 Å по направлению от плоскости α -спирального пучка. Конформационные изменения в трансмембранном фрагменте рецептора приводит к открытию щели в цитоплазматической области данной молекулы в которую впоследствии мог входить G-белок (GPCR-G-protein coupled receptors), относящийся к наиболее обширному классу трансмембранных рецепторов.

Для практических применений БР существенно то, что все переходы между конформационными состояниями этого белка регулируются кулоновскими взаимодействиями, в частности, в области активного центра (т. е., процесс тесно связан с внутримолекулярным переносом протона).

Использование молекул БР для создания систем хранения и обработки оптической информации является наиболее перспективным в сочетании с фотонными кристаллами (ФК – искусственные структуры, которые содержат компоненты с разными показателями преломления). Структуры ФК – это оптическая среда, в которой происходит периодически в одном, двух или трех измерениях изменение коэффициента преломления на масштабе, сопоставим с длиной волны света видимого или ближнего инфракрасного диапазона. Наличие запрещенной зоны в спектре электромагнитных возбуждений ФК способствует тому, что в заданном спектральном диапазоне свет любой поляризации не может войти в кристалл или выйти из него в каком-

либо направлении (фотонные стоп зоны – спектральные области, в которых запрещено распространение фотонов). С помощью ФК открывается возможность управлять скоростью оптического излучения и локализацией электромагнитных волн. Фотонные кристаллы, как объекты нанофотоники, привлекают внимание в качестве поиска принципиально новых технологий для создания элементной базы систем связи, генерации и детекции излучения и оптоэлектронных устройств. Природа уже создала разнообразные материалы с фотонно-кристаллическими свойствами, среди которых пыльца крыльев бабочек, хитиновый покров жуков, перламутр раковин, в основу роста которых заложена самоорганизация. Ярким примером организмов, в основе метаболизма которых лежит самоорганизующийся процесс биоминерализации, служат глубоководные стеклянные морские губки, у которых существует механизм избирательного накопления кремния из воды и за счет функционирования белков создавать «ажурную» скелетную систему из наноструктур диоксида кремния.

Уникальные характеристики БР: эффективность фотоэлектрической конверсии, фотовольтаические и фотохромные свойства, высокая степень ориентации молекул. Максимальная степень упорядоченности может быть достигнута в самосогласованных ансамблях типа супрамолекул в оптически активных материалах. В межсферические пустоты кубических упаковок наносфер SiO_2 (опаловые матрицы) вводят БР и на основе БР, содержащих опаловые нанокompозиты, создаются нейросетевые системы обработки оптической информации.

Итак, методический подход к созданию модели энергопреобразующей системы следующий: биомембраны, содержащие до 100.000 молекул родопсина (родопсин состоит из бесцветного белка опсина, к которому ковалентно присоединена хромофорная оболочка (ретиналь)) фиксируют на особой подложке, которая должна обладать всеми свойствами для обеспечения тока протонов, а не других ионов. В частности, для этих целей вполне пригодными являются пористые подложки, пропитанные липидами, которые, сливаясь с мембраной, сплошным слоем покрывают поверхность фильтра. Мембранные фрагменты можно смешивать и с акриламидом (образование геля). Вместо создания плотных слоев, молекулы БР и липиды могут обра-

зовывать протеолипосомы, которые встраивают в структуры, обеспечивающие эффективное перекачивания протонов¹⁸⁻¹⁹.

Вышеизложенное свидетельствует о том, что бактериородопсин (БР) является перспективной основой для разработки различных устройств. В дополнение отметим, что:

- БР способный под действием солнечного света генерировать электрический ток;
- способствует разложению воды на H_2 и O_2 ;
- выполняет регуляторные функции.

БР рассматривается как элемент технических приспособлений в связи с тем, что:

- белково-липидный комплекс – пурпурные мембраны обладают чрезвычайно высокой устойчивостью;
- высокая цветовая лабильность – между различными спектральными формами пигмента происходят обратимые переходы в результате внешних воздействий (освещение, изменение влажности, рН среды, присутствие электрического поля);
- функционирование БР сопровождается электрогенными процессами;
- под воздействием света происходят циклические изменения состояния молекулы и, как следствие, – циклические изменения оптико-физических характеристик: показателей преломления и поглощения, значений фототока и фотопотенциала.

В заключение следует акцентировать внимание на то, что материалы на основе БР характеризуются хорошей пороговой чувствительностью ($0,01 \text{ Дж/см}^2$), оптическим разрешением, наивысшей, среди известных фотохромных материалов, циклическостью ($> 10^6$). Более того, эти молекулы объединяются в минимальные стабильные фрагменты – тримеры ($< 10 \text{ нм}$).

¹⁸ Гребенков Е. П. Бактериородопсин в опаловых матрицах / Е. П. Гребенков, М. И. Самоилович, Ю. В. Орловский // *Нано-и микросистемная техника*. – 2009. – № 6. – С. 39–66.

¹⁹ Орехов Ф.С. Расчет спектральных сдвигов мутантов бактериородопсина гибридными методами квантовой механики /молекулярной механики/ Ф. С. Орехов, А. К. Шайтан, К. В. Шайтан // *Биофизика*. – 2012. – Т. 57. – Вып. 2. – С. 221–231.

Перечень свойств гибридных материалов на основе БР указывает на перспективу использование в области нанофотоники и нанoeлектроники, в частности, в комбинированных оптоэлектронных устройствах, для которых входным сигналом является свет, а выходным – электрический ток. Более того, БР представляет собой «сконструированной» самой Природой структуру аналога фитогормона, иммобилизованного на белковой молекуле БР.

Одним из самых совершенных молекулярных машин, обратимо конвертирующий энергию трансмембранного потенциала, создаваемого потоков электронов в электронно-транспортной цепи в химическую энергию, является АТФ-синтаза (КФ 3.6.1.34). Этот фермент, как главный производитель АТФ в клетке, рассматривается как механо-химическое устройство (клеточный молекулярный «роторный» мотор).

Рассмотрим функционирование АТФ-синтазы с позиций Э. Дрекслера (специалиста в области энергетических нанотехнологий)²⁰. АТФ-синтаза составлена из двух частей F_1 и F_0 . Первая содержит три пары доменов белковых $\alpha_3\beta_3$ и эксцентрический вал γ , который вращается, сжимая периодически каждую пару доменов. Каталитические сайты, где происходит и гидролиз, и синтез АТФ, локализованы в белковых β -субъединицах. Вторая часть (F_0) вмонтирована в мембрану и является «ротором», который вращает вал γ в статоре $\alpha_3\beta_3$. Когда происходит гидролиз, вал γ вращается вместе с ротором против часовой стрелки (взгляд со стороны F_0) и выкачивает протоны из митохондрии, т. е. действует как протонный насос, совершая работу по увеличению протонного градиента и трансмембранного потенциала. Напротив, когда АТФ-синтаза работает как протонная турбина, протоны двигаются внутрь митохондрий и протондвигущаяся сила вращает ротор F_0 и вал γ по часовой стрелке; это движение сопровождается синтезом АТФ в статоре $\alpha_3\beta_3$.

Следовательно, АТФ-синтаза рассматривается как двухступенчатая обратимо работающая электромеханическая машина

²⁰ Молекулярная нанотехнология. Подход Э. Дрекслера. Нанотехнологии: Наука и производство. – 2009, 1 [2]. – С. 56–61.

(каждая из ступеней – электромеханическая и механохимическая – характеризуются своим КПД а полный коэффициент полезного действия есть произведение коэффициентов; он определяет ту часть энергии трансмембранного потенциала, которая превращается в химическую (при синтезе или, наоборот, при гидролизе АТФ).

Молекула АТФ легко отдает фосфат-ион, поскольку существует электростатическое отталкивание между отрицательно заряженными фосфатными группами.

АТФ-синтаза – расшифрованное природное наноустройство, но рассматривая работу этого механизма, нанотехнологи не учитывают состояние мембранного образования, значимость субъединиц (в частности, субъединицы С: компонент F_o митохондрий клеток животных содержит C_{12} ; в клетках бактерий – C_{10} , а хлоропласты растений – C_{14} . Не учтены типы конформации субъединицы β_1 , циклические переходы и другое).

В работе А. Н. Огурцова, Н. Ю. Масалитиной²¹ более обоснованно изложен принцип работы АТФ-синтазы (комплекс F_oF_1). В частности, субъединицы с компонента F_o (мембранный компонент) образуют кольцо в плоскости мембраны, а интегральные мембранные белки а и в прочно связаны между собой. Субъединицы с (компонент F_o) и субъединицы γ и ϵ (компонент F_1) рассматриваются как ротор молекулярного механизма; а и в субъединицы (F_o), σ и $(\alpha\beta)_3$ гексамер (F_1) – прочно связанная структура в мембране (своеобразный «статор»).

Гипотетически синтез АТФ происходит в связи с конформационными изменениями каталитических субъединиц β и вращением субъединицы γ (О-конформация приводит к непрочной связи АДФ и $P_{неорг.}$; более сильная связь АДФ и $P_{неорг.}$ – L-конформация и T-конформация формируют АТФ). Авторы поэтапно излагают каталитический цикл АТФ-синтазы. Допускают, что молекулы АТФ или АДФ могут связываться с регуляторными центрами на трех α -субъединицах, что обеспечивает изменение

²¹ Огурцов А. Н. Структура и аналитические методы исследования биомембран / А. Н. Огурцов, Н. Ю. Масалитина. – Х. : НТУ, «ХПИ», 2010. – 240 с.

скорости синтеза АТФ. Стимуляция синтеза АТФ происходит при конформационных изменениях нижней части каждой β -субъединицы по отношению к верхней, которая является неподвижной.

Принцип работы компонента F_0 (в качестве «мотора» этого механизма) рассматривается в двух вариантах (движение, вызванное потоками протонов или ионов натрия).

Цилиндрический «ротатор» «мотора» F_0 может совершать произвольные скачки в обоих направлениях, стимулированные тепловым движением. Для обеспечения однонаправленного вращения необходимо разрешать повороты в нужном направлении и блокировать повороты «ротатора» в обратном направлении. Отрицательно заряженные радикалы аспарагиновой кислоты в центрах связывания протонов «ротатора» не позволяют ему свободно вращаться в мембране. Через полуканал в «статоре» протоны из области с повышенной концентрацией протонов проходят к «ротатору». В области, закрытой от мембраны «статором», аспартаты «ротатора» могут протонироваться, нейтрализуя тем самым свой отрицательный заряд. Нейтрализованные домены «ротатора» могут затем вращаться внутри мембраны. После завершения оборота протонированный аспартат снова попадает в экранированную от мембраны «статором» область. Здесь находится второй полуканал, выходящий на противоположную сторону мембраны, где концентрация протонов ниже. Протон диссоциирует с аспартата и выходит через полуканал, а оставшийся заряженный аспартат не позволяет «ротатору» вращаться в обратном направлении. Весь этот процесс обратим.

Самопроизвольно «мотор» F_0 будет захватывать протоны из полуканала, где их концентрация высока, и высвобождать их в полуканал, где концентрация протонов низка. Однако, если приложить к «ротатору» постоянный вращательный момент в противоположном направлении, то «ротатор» не сможет вращаться до тех пор, пока он не захватит протон из полуканала с низкой концентрацией протонов. Завершив оборот, «ротатор» высвободит протон в полуканал с высокой концентрацией протонов. В этом случае под действием внешней силы «мотор»

будет работать как протонная «помпа», перекачивающая протоны через мембрану.

Целесообразно рассмотреть особенности структурно-функциональной организации компонента F_1 , изложенные в работе А. В. Карговского с сотр.²²

Белковый комплекс F_1 содержит каталитические центры, в которых происходят реакции синтеза и гидролиза АТФ. В режиме синтеза АТФ трансмембранный перенос протонов через компонент F_0 обеспечивает вращение «ротора» АТФ-синтазы, благодаря чему в каталитических центрах F_1 происходят конформационные изменения, приводящие к синтезу АТФ. В режиме гидролиза АТФ фермент работает как протонная «помпа». За счет энергии при гидролизе АТФ происходит вращение «ротора» в обратном направлении и генерация трансмембранной разности протонных потенциалов.

F_1 -АТФ-синтаза является обратимым молекулярным «мотором» (направление вращения ротора сопряжено с режимом работы). Все три каталитических центра имеют разные конформации и согласованное изменение конформаций этих центров связано с гидролизом АТФ и приводит к вращению «ротора», который представлен центральной γ -субъединицей. Авторы излагают функционирование активного центра в зависимости от концентрации АТФ в среде, состояние β -субъединиц.

Ротор, как совокупность γ - и ε -субъединиц, имеет искривленную вытянутую винтообразную форму, напоминающую форму хиральных анизотропных молекул в низкомолекулярных жидких кристаллах. Синтез АТФ происходит на β -субъединицах, которые образуют неподвижный статор «мотора». Субъединицы γ и ε вращаются внутри цилиндра, образуемого субъединицами α и β попеременно. Это вращение, которое управляется ионным током, индуцирует структурные изменения в субъединицах β , что приводит к периодическому изменению каталитической способности разных субъединиц. ε -субъединица локализована

²² Карговский А. В. F_1 -АТФаза как автоколебательная система / А. В. Карговский, Ю. М. Романовский, А. Н. Тихонов // Биофизика. – 2009. – Т. 54. – Вып. 1. – С. 5–12.

в области ножки компонента F_1 и вовлечена в механизм передачи сигналов между F_1 и F_0 .

Синтез АТФ, как считает автор²³, происходит в два этапа. Первый этап включает в себя перенос протонов через мембрану, осуществляемый гидрофобной частью АТФ-синтазного комплекса, F_0 . При этом трансмембранная разность электрохимических потенциалов протонов преобразуется в механическую энергию вращения блока с-субъединиц и связанных с ним γ - и ϵ -субъединиц. На втором этапе последовательное взаимодействие специфических аминокислотных остатков вращающейся γ -субъединицы с аминокислотными остатками каждый из β -субъединиц вызывает конформационные изменения каталитических центров, приводящие к связыванию АДФ и фосфата, их превращению в АТФ и его диссоциации. Таким образом, второй этап включает в себя превращение механической энергии «ротора» в химическую энергию макроэргических связей АТФ.

В обзоре актуальных проблем Ю. М. Романовский и А. Н. Тионов изложили современные представления о физико-химических механизмах функционирования протонной АТФ-синтазы – одного из главных макромолекулярных устройств, катализирующих образование молекул АТФ – основной «энергетической валюты» живой клетки. Особенности функционирования этого устройства следующие:

1. АТФ-синтазный комплекс, встроенный в мембрану клетки, работает как энергопреобразующая макромолекулярная машина и приводится в действие за счет трансмембранной разности электрохимических потенциалов ионов водорода (ΔM_{H^+}).
2. Электрический ток, проходящий через мембранный комплекс F_0 (носителями электрического тока являются протоны), обеспечивает вращение «ротора» механо-химического мотора F_1 , вращение которого обеспечивает синтез АТФ (из АДФ и $P_{неорг.}$).

²³ Мальян А. Н. Роль коротких консервативных участков α - и β -субъединиц, связывающих каталитические и некаталитические центры F_1 -АТФазы / А. Н. Мальян // Биохимия. – 2010. – Т. 75. – Вып. 1. – С. 99–104.

3. F_0F_1 -АТФ-синтаза – обратимая молекулярная «машина» (как синтез, так и гидролиз АТФ). При вращении «ротора», «мотора» F_1 в направлении, противоположном вращению ротора электромотора F_0 , F_0F_1 -АТФ-синтаза работает как протонная помпа, генерирующая ΔM_{H^+} .
4. F_0F_1 -АТФ-синтаза характеризуется высокой эффективностью преобразования энергии (к. п. д. ~ 90 – 100 % за счет тесного сопряжения химических и механических стадий каталитического цикла с минимальной потерей энергии в тепло).

Молекулярный «мотор» F_0F_1 -АТФ-синтаза включает субъединицы α , β , γ и ϵ ; синтез АТФ происходит на β -субъединицах. Субъединицы γ и ϵ вращаются внутри так называемого цилиндра, образуемого субъединицами α и β . Это вращение, управляемое ионным током, индуцирует структурные изменения в субъединицах β , расположенных на угловых расстояниях 120° друг от друга, что приводит к периодическому изменению каталитической способности разных субъединиц²⁴.

Вышеизложенное свидетельствует о сложности моделирования биологических структур, имитирующих природные энергозависимые процессы.

Кроме АТФ-синтазы, производящей АТФ, относятся и киназы. Эти ферменты рассматриваются как линейные механохимические машины, действующие по принципу «насоса»; они периодически сжимают каталитический сайт, в котором находятся реагенты: один из них – АДФ, а другой – молекула фосфорилированного субстрата, которая при сжатии сайта передает свою фосфат-группу к АДФ. Этот тип фосфорилирования – субстратный и в качестве субстратов могут выступать фосфокреатин (катализ при помощи креатинкиназы), фосфоцицерин (субстрат глицерофосфаткиназы), фосфопируват (его использует пируваткиназа).

²⁴ Романовский Ю. М. Молекулярные преобразователи энергии живой клетки. Протонная АТФ-синтаза – вращающийся молекулярный мотор / Ю. М. Романовский, А. Н. Тихонов // Успехи физических наук. – 2010. – Т. 180. – № 9. – С. 931–956.

А. Л. Бучаченко, Д. А. Кузнецов²⁵ указывают на зависимость этих ферментов от ионов магния, которые стимулируют механохимическое образование АТФ. Магний является одним из наиболее распространенных элементов в клетке; имеет три стабильных изотопа ^{24}Mg , ^{25}Mg и ^{26}Mg (природное соотношение ~ 79, 10 и 11 %). Из них только ^{25}Mg – магнитный изотоп (имеет ядерный спин = 5/2); ^{24}Mg и ^{26}Mg – немагнитные изотопы (ядерный спин 1 = 0). Катион Mg^{2+} – обязательный кофактор ферментов синтеза и гидролиза АТФ, а также выполняет регуляторные функции в ряде других клеточных процессах. Магнитный изотоп ^{25}Mg существенно ускоряет адаптацию клеток к стрессовым условиям.

В реакциях ферментативного фосфорилирования магнитный изотоп магния ^{25}Mg в 2–4 раза увеличивает скорость образования АТФ. Для объяснения магнитных изотопных эффектов ^{25}Mg в ферментативном фосфорилировании авторами предложен ион-радикальный механизм присоединения фосфатной группы АДФ с участием иона Mg^{2+} . Ключевым моментом этого механизма является перенос электрона с концевой фосфатной группы АДФ на магний и образование ион-радикальной пары (ИРП) в синглетном состоянии, из которой возможен обратный перенос электрона с восстановлением исходных диамагнитных реагентов. Ядерный спин изотопа магния ^{25}Mg , присутствующий в активном сайте фермента и связанный сверхтонким взаимодействием с одним из неспаренных электронов ИРП, переводит ее в триплетное состояние, из которого обратный перенос электрона невозможен в силу строгих спиновых запретов. Поэтому из триплетной ИРП возможно только продолжение прямой реакции, т. е. образование продукта, например АТФ. Таким образом, ядерный спин магнитного изотопа способен увеличивать выход продукта ферментативной ион-радикальной реакции, уменьшая вероятность обратного переноса электрона. Этот механизм может быть использован в процессах конструкции наноэнергетических систем.

²⁵ Бучаченко А. Л. Ядерно-магнитное управление синтезом энергоносителей в живых организмах / А. Л. Бучаченко, Д. А. Кузнецов // Вестник Российской АН. – 2008. – Т. 78. – № 7. – С. 579–583.

К молекулярным транспортным машинам конвейерного типа следует отнести функционирование рибосомы при биосинтезе белка. Известно, что рибосома осуществляет два сопряженных процесса пространственного перемещения макромолекулярных лигандов: прогон компактных глобул тРНК и протяжку линейной цепи мРНК сквозь межсубъединичный канал. Эта функция обеспечивается взаимной подвижностью двух рибосомных субъединиц и их структурных модулей. Анизотропная тепловая подвижность и химически индуцированные изменения сродства связывающих центров рибосомы к их лигандам – тРНК, мРНК и ГТФ – возможно и определяют все направленные перемещения в транслирующей рибосоме²⁶.

Однако, с рибосомой прочно ассоциирована активность пептидилтрансферазы, которая катализирует перенос растущей полипептидной цепи от одной тРНК к аминогруппе следующей аминоацил-тРНК, как того требует считывание мРНК. Участок рибосомы, связывающий аминоацил-тРНК в процессе трансляции – аминоацильный сайт (А-сайт).

Рибосома рассматривается в качестве биологического субстрата в производстве наносистемы с атомарной точностью (3D свернутые полимеры с 10^3 количеством атомов в конечном продукте); эффективного образца «молекулярной машины», с которой начинается усложнение биологических систем (рибосома как самостоятельная «молекулярная машина» изучена хорошо).

Универсальность превращений молекулы АТФ (процессы фосфо- и дефосфорилирования) указывают на то, что эта наносистема перспективна для оптимизации современных технологий в области энергопреобразующих устройств. Более того, эти реакции – эффективные факторы аллостерических переходов, которые являются составляющими сенсорных систем.

²⁶ Spirin A. A. *Ribosome as a molecular mashine* / A. A. Spirin // *FEBS Letters*. – 2002. – Vol. 514. – P. 2–10.

1.4. Молекула ДНК как перспективный объект наноконструкций

Интерес к молекулам ДНК, как к «строительному блоку» создания наноконструкций, предопределен наличием уникальной структуры и свойств этих молекул:

- 1) ДНК обладает технологическими возможностями благодаря конструкции молекулы, которая представляет собой закрученную вправо двойную спираль, сформированную двумя антипараллельными молекулярными цепочками по принципу комплементарности. Плоская проекция: каждая такая цепочка состоит из сахарофосфатного остова, вдоль которой перпендикулярно располагаются пуриновые (аденин, гуанин) и пиримидиновые (цитозин, тимин) азотистые основания, соединенные между собой водородными связями. При этом нуклеотид аденин одной цепи всегда соединяется двумя водородными связями только с нуклеотидом тимина противоположной цепи, а нуклеотид гуанин – с тремя водородными связями цитозина. Чередование пар нуклеотидов, имеющих различные энергии ионизации и, соответственно, образующих определенный потенциальный рельеф, на пути движения дырок (как основных носителей заряда) вдоль молекулы ДНК, приводят к образованию периодической структуры, в которой гуанин-цитозин пары оснований выполняют функцию потенциальных ям, а аденин-тимин пары – барьеров (уотсон-криковские пары располагаются внутри спирали, а заряженные фосфаты обращены наружу).
- 2) ДНК имеет свойство молекулярного распознавания и на ее полинуклеотидных цепочках – химически активные концы. Это позволяет создавать на ее основе молекулярные устройства, используя принципы самоорганизации (ДНК функционирует как самоорганизующий комплекс).
- 3) ДНК – природный полианион; благодаря высокой плотности заряженных фосфатных групп и их регулярному расположению на жесткой двойной спирали ДНК; последняя обладает преимуществами перед остальными анионными компонентами клетки в электростатическом связывании с поликатионами.

Образование металлокомплексов ДНК и конформационные переходы, индуцируемые связыванием молекулы с положительно заряженными соединениями, – это эффективный путь использования НК в новых технологиях.

- 4) ДНК относится к оптически активным веществам – соединениям, которые способны изменять площадь поляризации света. Молекулы НК имеют в своем составе ассиметрические атомы углерода, которые содержат четыре различные функциональные группы. Каждый такой атом может существовать в двух изомерных формах (стереоизомеры), которые имеют одинаковые физико-химические свойства за исключением оптической активности; при одинаковых условиях один стереоизомер поворачивает площадь поляризации света в одну сторону, а другой – в противоположную.
- 5) Правоспиральные двухцепочечные ДНК существуют в разных пространственных формах (A – B – Z: линейная, кольцевая, суперспиральная и др.), заметно различающихся по своим физико-химическим свойствам. Изменение внешних условий инициирует переход между этими формами.

Но, в удвоенных спиральных НК оптическая активность обусловлена не только наличием ассиметрических углеродов (ДНК при формировании остова используют только D-сахара (dexter-правый), а и спиральностью молекул, которые не имеют площади симметрии.

Вышеизложенные свойства и определяет перспективу использования ДНК в наноразмерных устройствах. Более того, ДНК относят к широкозонным полупроводникам и ДНК оказалось удобной моделью изучения переноса заряда^{27–28}.

²⁷ Виноградова О. А. Принципы ДНК-архитектоники – конструирование нанобъектов на основе ДНК / О. А. Виноградова, Д. В. Пышный // Успехи химии. – 2012. – Т. 81. – № 2. – С. 130–157.

²⁸ Астахова Т. Ю. Перенос энергии и заряда в биологических системах на большие расстояния / Т. Ю. Астахова, В. Н. Лихачев, Г. А. Виноградов // Химическая физика. – 2012. – Т. 31. – № 12. – С. 45–55.

В литературе доминируют теории туннелирования и прыжковый механизм переноса заряда (Charge Transfer). Существенный интерес к этим процессам определяется потребностями изучения окислительной леструкции ДНК. Совсем недавно появилось сообщение о том, что перенос заряда в искусственно полученном фрагменте ДНК, состоящим из 100 пар оснований (34 нм), происходит с очень высокой вероятностью (ДНК способно переносить заряд, но каков механизм этого переноса?). В работах использован подход, который предполагает захвата солитоном (который создан в результате тепловых флуктуаций или локального возбуждения), электрона и образованием связанного состояния – солектрона. Эти исследования проводились с ДНК ее в виде одномерной решеточной модели, состоящей из «частиц» (моделировался эксперимент по переносу заряда после фотовозбуждения). Дано объяснение тому, каким образом в биосистемах заряд и энергия могут одновременно переноситься на большие расстояния. Доказано, что солектрон способен переносить энергию и заряд через десятки оснований ДНК. Предложенная концепция способствует объяснению явлений переноса в таких системах как фотосинтез, фотопреобразователи энергии (скорость переноса энергии зависит от амплитуды солитона и температуры; колебательное возбуждение, возникающее при фотовозбуждении, приводит к образованию солитона).

Известно, что перенос энергии и заряда играет важную роль в биосистемах и обладает рядом преимуществ по сравнению с объемными системами за счет меньшего размера, меньшей потребляемой мощности и гибкости. ДНК и их искусственные фрагменты, а также протеины, могут найти применение в солнечных преобразователях энергии, гибких ТВ-дисплеях, логических цепях, применением их в молекулярной электронике. В настоящее время считается, что поляроны могут быть ответственны за перенос заряда в биосистемах. Авторами²⁹ предложена модель поляронов (малого и большого радиусов),

²⁹ Лихачев В. Н. Поляроны в одномерной решетке. I. Неподвижный полярон / В. Н. Лихачев, Т. Ю. Астахова, Г. А. Виноградов // *Химическая физика*. – 2013. – Т. 32. – № 4. – С. 3–14.

которая допускает объяснение переноса заряда в ДНК на большие (> 30 нм) расстояния.

Вышеотмеченные уникальные свойства и структуры этого соединения способствовали созданию нанотехнологического устройства на основе ДНК (1997) и разработке механизма соединения углеродных нанотрубок с ДНК (2002).

Общепризнано, что интерес к молекулам этой кислоты обусловлен прежде всего процессами самосборки. Молекула имеет большой отрицательный потенциал, что можно использовать для построения из нее различных структур. Функциональная активность ДНК (репликация, транскрипция, рекомбинация) связана с топологической перестройкой структуры.

При формировании наноструктур на основе этих молекул следует использовать либо принцип комплементарности, либо принцип самоорганизации, либо возможность направленной модификации электростатических взаимодействий.

В обзорной работе коллектива акад. Ю. Д. Третьякова³⁰ рассматривается процесс электростатического осаждения ДНК на полупроводниковые нанокристаллы CdSe/ZnS (квантовые точки, КТ). Последовательность этого процесса следующая:

- первоначально стабилизируется оболочка КТ для последующего электростатического взаимодействия (стабилизирующим веществом служит тиогликолевая кислота; это соединение в кислой среде, адсорбируясь на поверхности КТ, может способствовать устранению поверхностных дефектов и, следовательно, увеличению возбужденного состояния);
- поверхность КТ приобретает положительный заряд за счет того, что карбоксильные группы на поверхности активируются при помощи конденсирующего агента – 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) – карбодимида (ЭДС) и эфира N-гидроксисукцинимид (NHS); присоединение белка лизоцима

³⁰ Кочергинская П. Б. Модифицирование квантовых точек нуклеиновыми кислотами / П. Б. Кочергинская, А. В. Романова, И. А. Прохоренко, Д. М. Иткис, В. А. Коршун, Е. А. Гудилин, Ю. Д. Третьяков // *Успехи химии*. – 2011. – Т. 80. – Вып. 12. – С. 1265–1277.

способствует образованию положительного заряда на поверхности;

- полидентатное присоединение происходит в результате добавления раствора ДНК к раствору положительно заряженных КТ.

Следует отметить, что характерной особенностью эукариотических ДНК является ее высокий уровень компактизации.

Итак, молекула ДНК выступает не как биополимер – носитель генетической информации, а как удобный материал наноконструирования (обсуждаются эффективные модели использования ДНК в нанотехнологиях).

Одним из наиболее привлекательных подходов к созданию наноконструкций с использованием ДНК является стратегия, излагаемая в работах Ю. М. Евдокимова с сотр.³¹ Построение наноконструкций за счет последовательной модификации исходных, линейных нуклеиновых кислот и наноконструкций с использованием линейных молекул (или их комплексов), фиксированных в пространственной структуре частиц жидкокристаллических дисперсий. Ими разработан подход в наноконструировании с использованием не единичных молекул нуклеиновых кислот (НК), а структур, самопроизвольно возникающих при фазовом исключении этих молекул из водно-солевых растворов. Авторами предложены методы превращения «жидких» частиц дисперсии НК в «твердые» наноконструкции. В качестве наномостиков для соединения соседних молекул ДНК использованы молекулы антрациклинового антибиотика и ионов меди. Этот процесс способствовал возникновению трехмерной пространственной структуры, которая может содержать в своем составе высокую концентрацию других молекул. Т. е., создан новый тип биоматериала, свойствами которого можно управлять (основным фактором стабилизации частиц наноконструкции является число и «прочность» наномостиков). «Чувствительным элементом» наноконструкции ДНК является каждый наномостик.

³¹ Евдокимов Ю. М. От жидких кристаллов к наноконструкциям ДНК / Ю. М. Евдокимов, В. И. Саянов, С. Г. Скуридин // Молекулярная биология. – 2009. – Т. 43. – № 2. – С. 309–326.

В качестве «строительных блоков» все чаще рассматривают ДНК-дуплексы, содержащие в своем составе дополнительные модифицированные элементы, которые придают молекулам двухцепочечной ДНК недостающую им гибкость.

Предложены подходы к организации разветвленных ДНК-блоков, связанные с использованием дополнительных конструктивных элементов, например белков или фрагментов РНК, а также остатков органических молекул, которые, выполняя роль молекул-скрепок, способствуют построению ДНК-блоков отличной от линейной формы. Например, для получения ДНК-наноструктур в качестве скрепляющих компонентов используют РНК-фрагменты, которые легко могут быть введены в гибридный НК-блок в процессе его автоматического синтеза или за счет взаимодействия цепей нуклеиновых кислот с формированием гибридного комплекса ДНК – РНК. Наличие специфических РНК-доменов в таких случаях обеспечивает возможность привлечения уникальных типов межмолекулярных взаимодействий, присущих РНК-молекулам, для сборки супрамолекулярных комплексов.

ДНК-фрагменты в комплексе с белковыми молекулами могут изменять свою нативную конформацию: образовывать стабильные точки разветвления и (или) изгиба.

Итак, дополнительными конструктивными элементами ДНК-наноструктур могут быть использованы РНК, белок, нуклеотидные остатки (органических соединений, металлов и т. д.) и этим самым можно придать уникальные свойства структуре и расширить возможность структурной ДНК-нанотехнологии.

Переход от «жидкостной» структуры частиц олестерической жидкокристаллической дисперсии ДНК к «твердой» пространственной структуре возможен с использованием катионов редкоземельных элементов, которые нейтрализуют отрицательные заряды фосфатных групп ДНК и взаимодействуют с парами оснований линейных молекул двухцепочечной ДНК и этим самым вызывают локальные (наноразмерные) изменения вторичной структуры этих молекул. В частности, используются ионы гадолиния, которые усиливают взаимодействие между молекулами (или фрагментами) ДНК, имеющими разную конформацию в квазинематических слоях, инициируют переход «жидкостной»

структуры частиц холестерической жидкокристаллической дисперсии в «твердое» состояние. В условиях насыщения гадолинием, молекулы теряют свою растворимость (комплекс ДНК-Gd³⁺) и в силу своего положительного заряда гадолиний нейтрализует отрицательные заряды фосфатных групп ДНК. «Твердые» частицы несут на себе остаточный (некомпенсированный) положительный заряд, который препятствует их агрегации (гадолиний относится к лантаноидам, элемент – поглотитель нейтронов с большим сечением захвата)³².

Обнаруживается механизм высвобождения вращающего момента, присутствующего в молекуле ДНК на молекулярном уровне, который активируется энзимом – топоизомеразой IV. Молекула ДНК представляет собой веревочную лестницу, скрученную по оси, перпендикулярной ступеням. В таком положении ДНК аккумулирует механический момент. Подобные системы, созданные человеком, называются торсионными. Они используются в машинах и механизмах, где нужно аккумулировать механический момент.

Одну из функций, необходимую для разворачивания цепей молекулы, обеспечивает энергия, сохраненная в торсионной системе ДНК. Торсионные силы зачастую контролируют весь процесс разворачивания и сворачивания молекулы. Установлено, что энзим топоизомераза IV разрезает одну цепь молекулы. При этом освобождается торсионный механический момент и молекула вращается в активном центре энзима до тех пор, пока разорванная цепь не соединится вновь. Эти исследования позволяют разрабатывать новые методы использования энзимов в качестве молекулярных машин для приведения в движение наносистем на основе молекул ДНК.

Следует отметить, что важную роль в организации нанотехнологических производств должны сыграть ДНК-технологии с использованием ДНК-чипов и ДНК-микроматриц, которые представляют собой устройства; различные цепи молекулы

³² Виноградова О. А. Принципы ДНК-архитектоники – конструирование нанобъектов на основе ДНК / О. А. Виноградова, Д. В. Пышный // Успехи химии. – 2012. – Т. 81. – № 2. – С. 130–157.

закреплены в микроскопическом формате на твердотельном носителе (стекло, кремний, пластик и прочее). ДНК-матрицы могут включать от 100 до 100 тыс. различных сайтов (малых участков) ДНК на поверхности чипа. Электронно активные микроматрицы ДНК, которые создают регулируемые электрические поля на каждом сайте, перспективны в нанотехнологиях. Молекулы ДНК можно применять для сборки запланированных двумерных структур (конструктивные матрицы состоят из жестких пластинок ДНК площадью около 60 nm^2 , образованных антипараллельными цепями ДНК, которые соединены двойными перекрестными связями).

Итак, синтез объемных биоматериалов путем сборки нуклеиновых кислот – это созданный новый тип наноматериала.

В контексте вышеизложенного, следует указать и на то, что к прогнозируемому потенциалу производства материалов атомарной точности относят структурное ДНК, конструирование и активность полимераз для синтеза полимерных соединений с 10^6 количеством атомов в конечных продуктах^{33–34}.

В последнее время используются биосенсоры на основании нуклеиновых кислот (амперометрический ДНК-сенсор, ДНК-зонд). Известно, что НК обладают собственной электрохимической активностью, обусловленной способностью нуклеотидов восстанавливаться или окисляться под действием приложенного к электроду потенциала (эти свойства и могут быть применены в биосенсорах).

Разработаны различные типы ДНК-сенсоров, основанных на радиохимических, ферментативных, флуоресцентных, электрохимических, оптических и акустических принципах (преимущественно используются оптические ДНК-сенсоры).

Одним из наиболее впечатляющих достижений ДНК-технологий – использование фрагментов молекул ДНК как компо-

³³ *Нанотехнологическая дорожная карта США // Российские нанотехнологии. – 2009. – Т. 4. – № 3–4. – С. 31–35.*

³⁴ *Евдокимов Ю. М. Нанотехнология на основе нуклеиновых кислот / Ю. М. Евдокимов, М. А. Захаров, С. Г. Скуридин // Вестник Российской АН. – 2006. – Т. 76. – № 2. – С. 112–120.*

ментов нанoeлектроники, где они играют роль проводников тока, вентиляей, логических и запоминающих элементов, т. е. отдельные фрагменты ДНК – функциональные элементы нанoeлектронных устройств.

Электронная структура нуклеотидных пар (в частности, аденин-тимин, аденин-урацил) изучается по спектрам комбинационного рассеяния, возбуждаемые лазерным излучением (длина волн 266, 240, 218 и 200 нм).

Реакции спаривания оснований или комплементарности – это реальные подходы к новым технологиям. Наноконструирование на основе двойной цепи молекул ДНК – это целенаправленное создание пространственных конструкций (наноструктур, наноконструкций, нанобиоматериалов, «строительными» блоками которых являются двойные цепи ДНК или их комплексы).

Важность использования успехов молекулярной генетики наноконструкторами определяется и тем, что многие признаки, которыми характеризуются живые системы, имеют свои аналогии и в неживой природе.

1.5. Перспектива использования биомембран и ферментов в конструкции наносистем

При формировании наноструктур с уменьшением размерности на первый план выходят поверхностные явления (эффекты). К ним относятся не только химическое и биологическое распознавание но и, прежде всего, межфазное распределение, т. е. именно те явления, которые чаще всего определяют селективность аналитической системы. С уменьшением размера структурных составляющих значительно возрастает роль поверхностей раздела. Поверхностные слои рассматриваются как важные функциональные подсистемы, базовая роль этих наномасштабных структурных уровней определяет структурные превращения. Наноструктуры имеют чрезвычайно развитую поверхность, размерами которой нельзя пренебречь по сравнению с размерами «объемной» части. Даже однородная по составу наноструктура должна рассматриваться как некая квази-гетероструктура (объемная и поверхностная области), в которой энергия связи сопоставима с энергией «объемных» и поверхностных атомов.

Для наночастиц характерно крайне высокая удельная поверхность (более $60 \text{ м}^2/\text{см}^3$), так что значительная часть образующих их атомов или молекул (и, соответственно, реактивных групп) экспонируются на их поверхности. Эта особенность, а также чрезвычайно высокая кривизна поверхности, громадная избыточная свободная поверхностная энергия и крайне высокие величины напряженности электрического поля у поверхности порождает появление новых физико-химических и функциональных свойств, которые существенно отличаются от свойств более крупных частиц того же состава (поверхностное натяжение – свободная энергия на единицу площади или сила на единицу длины поверхности).

В многочисленных исследованиях макроскопических процессов поверхностные явления, обусловленные наличием атомов и молекул, не учитываются. Однако, для наноструктур многие свойства обусловлены наличием развитой поверхности. Количество атомов поверхности и их энергия сопоставимы с аналогичными характеристиками объемных атомов. Системы поверх-

ностных атомов объединяются под общим названием явления поверхностного натяжения. В работе (И. Ф. Головнев и др.)³⁵ представлены предварительные исследования о механизме проявления свойств поверхностных атомов:

- сжатие нанокластера системой поверхностных атомов без внешних воздействий;
- накопление упругой энергии системой поверхностных атомов, отличие от объемных атомов при деформации полной системы;
- энергия, необходимая на образование новой поверхности при разрушении материала.

Подтверждением важной роли поверхностей являются мембраны со структурными элементами, которые довольно часто определяют активность функционирования нанобразующих систем. Например, мембраны клеточных структур, как природные наноразмерные образования (в среднем толщина ~ 7 нм), выполняют, в первую очередь, барьерную функцию, основанную на их низкой проницаемости для полярных молекул и ионов. В некоторых структурах, например, в хлоропластах, имеется тип мембран (тилакоиды – внутривнутрихлоропластные включения), которые являются не только барьером, определяющие внутриклеточную отсеку от других, но также и важнейшими преобразователями энергии.

Следует отметить, что любая деформация биомембран влечет за собой перераспределение электрических зарядов на их поверхности. Эти изменения конфигураций или деформация поверхностных структур неизбежно влечет за собой изменение плотности электрического заряда, которая возрастает в местах наибольшей кривизны поверхности и уменьшается в местах, где радиус кривизны увеличивается.

Биологическую поверхность с квантовых позиций можно рассматривать как энергетическое поле, волнообразно распространяющееся во времени и пространстве.

³⁵ Головнев И. Ф. Молекулярно-динамическое исследование поверхностного натяжения наноструктур / И. Ф. Головнев, Е. И. Головнева, В. М. Фомин // *Механика твердого тела*. – 2010. – № 3. – С. 45–55.

Биомембраны являются принципиально анизотропными системами, построенными из молекул, лишенных плоскости и центра симметрии. Анизотропность мембран позволяет сопрягать скалярные (скорость химической реакции) и векторные (перенос веществ) процессы.

В работе акад. В. П. Скулачева³⁶ рассматриваются мембранные биоэнергетические системы как конвертируемая энергетическая «валюта» (в том числе митохондрий и хлоропластов).

К свойствам мембранных образований (и растительных), которые учитываются в процессах наноконструирования, выделяются следующие:

- пространственное разделение структур;
- участие в активном транспорте веществ, идущего в направлении противоположным градиенту химического или электрохимического потенциалу;
- синтез АТФ (функционирование F_1F_0 -АТФ-синтазы сопряжено с мембранными образованиями);
- конформационные свойства (подвижность мембранных липидов и фазовые переходы);
- генерация биопотенциалов;
- рецепция (гормон-рецепторные взаимодействия; механическая с участием биомембран).

На основании современных исследований трудно переоценить функциональное значение белков мембранных образований: они являются клеточными рецепторами; обладают ферментативной активностью; выступают в качестве молекулярных триггеров различных метаболических процессов. Эти белки вовлечены в процессы межклеточного взаимодействия (наиболее современным методом определения структуры мембранных белков – рентгенокристаллография)³⁷.

³⁶ Скулачев В. П. *Энергетика биологических мембран* / В. П. Скулачев. – М. : Наука, 1989. – 568 с.

³⁷ Зайцев С. Ю. *Мембранные наноструктуры на основе биологически активных соединений для бионанотехнологии* / С. Ю. Зайцев // *Российские нанотехнологии*. – 2009. – Т. 4. – № 7–8. – С. 44–55.

Общепринятая в настоящее время модель строения биологических мембран – жидкостно-мозаичная модель. Структурную основу биомембран образует двойной слой фосфолипидов, в котором располагаются белковые молекулы. Липиды находятся при физиологических условиях в жидком агрегатном состоянии. Это позволяет сравнить мембрану с фосфолипидным «морем», по которому плавают белковые «айсберги». Фосфолипиды клетки формируют липидные бислои самопроизвольно в результате процесса фазового разделения, при котором понижается свободная энергия раствора фосфолипидов в воде. Углеводородные «хвосты» фосфолипидов обоих слоев бислоя образуют гидрофобную часть биомембраны толщиной ~ 3–4 нм – гидрофобный углеводородный слой (в качестве модельной структуры бислоистой мембраны используется дипальмитоилфосфатилхолин, ДПФХ).

Одним из элементов биологических мембран – наличие ионно-селективных каналов, имеющих следующие особенности:

- аномальная ионная селективность (имеются каналы, которые обеспечивают пропускание ионов большого размера и не пропускают ионы малого размера; каналы, в которых выполняется обратная закономерность);
- наличие продольного ускоряющего электрического поля с большой напряженностью;
- присутствие в объеме канала водной среды, которая влияет не только на величину ускоряющего электрического поля, но и на структуру и форму транспортируемых ионов и взаимодействие между ними и стенками канала;
- относительно малая скорость каналируемых ионов (сохранение неизменности заряда и структуры электронных оболочек ионов).

Системообразующими связями в биологических мембранах, как жидких кристаллах, являются ковалентные и водородные связи, гидрофобные и электростатические взаимодействия. Самая сильная из них – ковалентная связь; её энергия колеблется в пределах 50–100 ккал/моль; энергия водородной связи ~ 6 ккал/моль. Близка к этим величинам энергия гидрофобных и электростатических взаимодействий. Низкоэнергетические связи

определяют такое понятие как «жидкость» мембран. Это дает возможность мембраносвязанным белкам участвовать в латеральном смещении, что очень важно при формировании кластеров, участвовать в трансмембранном переносе различных соединений (эндоцитоз, фагоцитоз).

Типичными структурами мембранных белков – α -спирали или β -структурный тяж (под влиянием биологически активных соединений и др. факторов в мембраносвязанных белках важную роль играют переходы клубок \rightarrow α -спираль; клубок – β -структура). Примерами таких структур – молекулы бактериородопсина (БР) и порина. Молекула БР содержит пучок из семи долгих α -спиралей, перемычки между которыми выходят из мембраны в полярное окружение. В середине пучка образуется канал, на внутренней поверхности которого содержится небольшое количество полярных остатков. В канале также размещается кофактор небелковой природы – ретиналь, при помощи которого через канал проводится протон.

Молекула порина образует широкий β -цилиндр, внутренняя поверхность которого полярная, т. е. канал является мембранной щелью малой селективности (внутренний диаметр цилиндра $\sim 15 \text{ \AA}$)³⁸.

Мембранные технологии сопряжены с разделением белковых молекул и их иммобилизацией. В частности, такие мембранные методы, как ультрафильтрация (размер пор фильтрующих мембран составляет от 1 до 100 нм) и обратный осмос (поры мембран имеют размеры от 1 нм до 10 \AA) являются необходимыми процессами при использовании биологического материала в наноконструировании. Мембранные технологии – это востребованная задача практического применения (модельные структуры мембран, изучение включений, пор и других образований).

Процесс создания гетерогенных катализаторов путем связывания ферментов с носителями различной химической природы получил название иммобилизации. В результате этого процесса на носителе фермент оказывается прочно фиксированным в новой

³⁸ Финкельштейн А. В. Физика белка : курс лекций / А. В. Финкельштейн, О. Б. Птицын. – М. : КДУ. – 2002. – 375 с.

для него химической среде. По утверждению автора, эта среда влияет на параметры ферментативной реакции, которые определяют локальные концентрации субстрата, ионов водорода и кофакторов. Носитель может концентрировать или отталкивать компоненты ферментативного процесса, влияя на равновесное распределение веществ между раствором и матрицей. Особенно ярко это проявляется в случае ионов водорода при иммобилизации ферментов на матрицах, несущих электростатические заряды. Если носитель заряжен положительно, то он будет отталкивать протоны, уменьшая концентрацию ионов водорода в области активного центра; наоборот, отрицательно заряженная матрица концентрирует ионы водорода.

Для того чтобы носитель был использован для иммобилизации фермента, он должен отвечать требованиям, среди которых: носитель не должен подвергаться биологическому разрушению; обладать высокой внутренней поверхностью и проницаемостью для фермента в этом процессе; способствовать связыванию субстрата с активным центром фермента и свободному протеканию субстрата через слой катализатора. Принципиально важно то, что носитель должен иметь химически активные группы, обеспечивающие химическое связывание (хемосорбцию) фермента с поверхностью носителя.

Иммобилизация белковых структур, как известно, связана с адсорбцией на твердой поверхности. Адсорбция «жестких белков», в молекулах которых существуют сильные внутримолекулярные связи (например, рибонуклеаза), определяются электростатическими и гидрофобными взаимодействиями, а также дегидратацией поверхности и белковых молекул. При адсорбции «мягких белков» (например, альбумина) возникает дополнительная движущая сила этого процесса, связанного со структурными изменениями молекул белка, которая может превысить вклад электростатического отталкивания. В результате, в отличие от «жестких белков», они могут адсорбироваться на гидрофильной поверхности с одноименным зарядом.

Методы связывания ферментов с носителем:

- адсорбция фермента на поверхности носителя;

-
- химическое связывание белковой глобулы с функциональными группами носителя;
 - включение в массу носителя или мембранную систему, доступную для диффузионного массообмена.

Адсорбционное связывание макромолекул ферментов с поверхностью носителя является наиболее доступным и простым методом получения стабилизированных биокатализаторов.

Преимущество иммобилизованных ферментов по сравнению со свободными молекулами:

- они являются гетерогенными катализаторами, т. е. легко отделяются от среды, используются многократно, обеспечивают непрерывность каталитического процесса;
- иммобилизованные ферменты продолжительно сохраняют активность и субстратную специфичность;
- в процессе иммобилизации образуются новые ковалентные связи между ферментом и носителем (носители, которые имеют гидроксигруппу или аминогруппы, или активированные производные карбоксильные или сульфгидрильные группы).

С помощью технологии иммобилизации ферментов создаются более активные и стабильные катализаторы. Примером такой технологии – получение ковалентно иммобилизованного препарата растительной пероксидазы (КФ 1.11.1.7), сохраняющая стабильность и активность в течении продолжительного времени в широком диапазоне рН. Перспективными носителями для иммобилизации этого фермента являются хитозан и гидрат-целлюлозная мембрана «Диацелл» (хитозан – полидисперсный по молекулярной массе полимер D-глюкозамина, содержащий 5–20 % ацетамидных групп, получаемый путем дезацетилирования хитина как ближайшего по своей структуре аналогом целлюлозы). Хитозан – водорастворимый полимер обладающий биосовместимостью, малой токсичностью, высокой реакционной и сорбционной способностью. Наличие реакционноспособных функциональных групп в макромолекуле хитозана обеспечивает возможность разнообразных химических модификаций, позволяет усиливать присущие ему свойства или придавать новые в изменяющихся условиях. Модификацию такого полимера

можно проводить с помощью введения наночастиц металлов. Авторами ³⁹ получена макромолекулярная система на основе карбоксиметилхитина и наночастиц серебра (размер этих частиц не превышал 5 нм). Дополнительная стабилизация наночастиц серебра в этой системе получена в присутствии галловой кислоты.

Методика изучения каталитической активности этого фермента изложена в работах ^{40–41}.

В качестве носителей для иммобилизации ферментов могут быть использованы криогели поливинилового спирта (ПВС), которые обладают хорошими механическими, диффузионными и теплофизическими свойствами, кроме того они биосовместимы. Емкость криогеля, как носителя, составляет в расчете на единицу массы или объема 1–10 мг/г (мл), что характерно для крупнопористых матриц.

При оптимизации соответствующим режимам, как отмечено в работе ⁴², криогели ПВС используются для иммобилизации ферментов, когда частицы нерастворенного ферментативного препарата включаются в матрицу криогеля в виде дисперсного наполнителя.

Одним из методов иммобилизации – включение водных растворов фермента в липосомы, представляющие собой сфери-

³⁹ Александрова В. А. Нанокмозиты серебра и карбоксиметилхитина / В. А. Александрова, Л. Н. Широкова, Г. Н. Бондаренко, А. С. Петросян // *Высокомолекулярные соединения. Серия А.* – 2013. – Т. 55. – № 2. – С. 176–183.

⁴⁰ Веселова И. А. Повышение каталитической активности и стабильности пероксидазы хрена за счет включения её в полиэлектролитный комплекс с хитозаном / И. А. Веселова, А. В. Кирейко, Т. Н. Шеховцова // *Прикладная биохимия и микробиология.* – 2009. – Т. 45. – № 2. – С. 143–148.

⁴¹ Романовська І. І. Окиснення фенолу ковалентно іммобілізованою пероксидазою хрону / І. І. Романовська, О.В. Осійчук, С. С. Дєкіна та інші // *Біотехнологія.* – 2011. – Т. 4. – № 6. – С. 31–35.

⁴² Шаскольский Б. А. Применение криогелей поливинилового спирта в биотехнологии / Б. А. Шаскольский, М. С. Фогораси, М. В. Станеску // *Биотехнология.* – 2009. – № 1. – С. 71–82.

ческие или ламеллярные системы двойных липидных бислоев (~ 50 нм). Для получения липосом из раствора липида (чаще всего лецитина) упаривают органический растворитель. Оставшуюся тонкую пленку липидов диспергируют в водном растворе, содержащем фермент. В процессе диспергирования происходит самосборка бислойных липидных структур липосомы, содержащих включенный раствор фермента (гидрофобная часть липидных молекул липосомы обращена во внутрь сферы, а гидрофильная – наружу).

В мембрану липосомы можно включать несколько функционально активных белков и при этом формируются искусственные белково-липидные структуры протеолипосомы, обладающие электрогенными свойствами. Один белок образует в мембране катионпроводящие поры, а второй – анионпроводящие поры. Такие структуры при действии электрического тока обладают способностью генерировать импульсы, подобные потенциалам действия.

Липосомы можно применять в качестве подложки для биоселективной матрицы при создании биосенсоров. Молекулы чувствительных красителей могут быть включены во внутреннее пространство липосом и использованы в системе усиления сигнала, а сами липосомальные сенсоры вводят в клеточное пространство без повреждения мембран и других структур. Поэтому, липосомы рассматриваются как перспективные системы для разработки подложек с улучшенными свойствами. Это пример разработки наноструктурированных молекулярных систем с новыми возможностями.

Итак, иммобилизация водорастворимого фермента приводит к нерастворимой форме, и гомогенный катализатор преобразуется в гетерогенный. В результате такого превращения катализатор приобретает принципиально новые свойства.

(В учебнике С. Д. Варфоломеева⁴³ приведены методы, позволяющие перевести фермент из раствора на носитель; рассмотрены специфичность действия ферментов и др. вопросы,

⁴³ Варфоломеев С. Д. *Химическая энзимология: учебник* / С. Д. Варфоломеев. – М. : Академия, 2005. – 480 с.

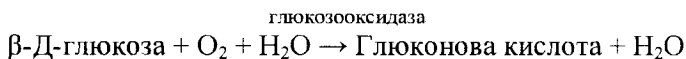
которые необходимы для практического использования этих биологических образований для наноконструирования).

Достигнуты значительные успехи в создании наносенсоров на основании ферментов искусственно связанных с нерастворимыми носителями, но сохраняющие свои каталитические свойства. В общем случае биосенсор состоит из транзьюсера (преобразователя сигнала) и иммобилизованного биологического элемента. Схема действия биосенсора включает несколько стадий:

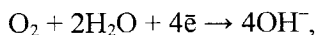
- 1) распознавание биоэлементом субстрата из многокомпонентной смеси;
- 2) преобразование транзьюсером информации о протекании реакции в форму электрического или другого (например, оптического) сигнала;
- 3) преобразование электрического (или другого) сигнала в нужную форму для последующей обработки.

Достижения биоэлектрохимии и биомолекулярной электроники ориентированы в основном на создание биологических датчиков и биоаналитических устройств. Биосенсорика стала важной и независимой областью аналитической химии (биосенсорная технология может рассматриваться как основа, на которой начала свое развитие нанобиотехнология).

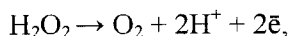
Итак, биосенсоры – это устройства, которые способны превращать биологический сигнал на физический. Биологические сенсоры, действие которых основано на чувствительности и избирательности биологических молекул, отличаются простотой и экспрессивностью. Например, для функционирования амперометрических сенсоров необходимым условием является образование окислителей или восстановителей, которые реагируют на поверхности анода или катода. Главный элемент этих сенсоров – мембрана с иммобилизованным ферментом. Действие таких биосенсоров можно проиллюстрировать на примере определения глюкозы. Первая стадия процесса – биокаталитическое преобразование глюкозы под действием глюкозооксидазы, иммобилизованной на поверхности мембраны за схемой



Основой анализа является реакция на катоде



которая сопровождается уменьшением концентрации кислорода, реакция на аноде



в результате которой содержание кислорода увеличивается. Сенсор фиксирует окислительно-восстановительный потенциал, который коррелирует с концентрацией субстрата. Следовательно, в основании работы глюкозного биосенсора – ферментативная реакция. Глюкозооксидаза (КФ 1.1.3.4) расщепляет глюкозу на перекись водорода и Д-глюконогалактона, который гидролизуется с образованием глюконовой кислоты. Это соединение диссоциирует на остаток кислоты и протон (изменяется pH среды).

К преимуществам использования биосенсоров по сравнению с другими методами относятся:

- использование небольшого количества материала (в нанограммовом диапазоне);
- возможность исследования разнообразных систем;
- отсутствие мечения и низкие требования к чистоте препарата;
- возможность изучения кинетики связывания в реальном времени.

Но главным является то, что оптические схемы биосенсоров обладают высокой чувствительностью и избирательностью для одновременного анализа взаимодействий между тысячами молекул; позволяют исследовать внутримолекулярные взаимодействия с разным уровнем сродства в самых различных условиях.

С позиции биокомпьютеров эта последовательность – путь вывода информации. Биосенсоры удобно классифицировать как по типу трансдюсеров, так и по типу элемента, осуществляющего «биоузнавание». Типы трансдюсеров определяются физико-химическими основами их действия и позволяют разделить биологические сенсоры на следующие основные категории: электрохимические, оптические и гравиметрические. По утверждению автора, бесспорное преимущество за электрохимическими. Электро-

химические датчики преобразуют биохимический сигнал сразу в электрическую форму, которая является системой обработки информации. Эти датчики менее зависимы от влияния среды по сравнению с оптическими устройствами⁴⁴.

Схема биосенсора на основе электродов, модифицированных берлинской лазурью, представлена в этой работе. Выбор этого соединения обусловлен тем, что она способна образовывать электроактивные покрытия на поверхности электродов (использование ее в качестве электрокатализатора). Ферментный электрод конструируется путем иммобилизации фермента или группы ферментов на поверхности электрода.

Существует несколько основных способов иммобилизации ферментов:

- ковалентное связывание фермента и матрицы;
- электростатическое взаимодействие противоположных заряженных групп фермента и матрицы;
- связь фермента и матрицы за счет невалентных взаимодействий (H-связей, гидрофобно-гидрофобных и др.);
- инкапсулирование ферментов (например, в липосомы);
- включение фермента в гель.

Наиболее распространенными способами иммобилизации являются ковалентное связывание фермента с матрицей и включение его в гель.

Выбор способа иммобилизации биокатализаторов зависит от наличия функциональных групп на поверхности мембраны и фермента, активных центров сорбции и пористости структуры мембраны.

Сущность иммобилизации ферментов состоит в присоединении их в активной форме к нерастворимому основанию или включении в полупроницаемую мембранную систему.

Существует широкий набор носителей, пригодных для иммобилизации энзимов: органические полимерные носители

⁴⁴ Карякин А. А. Биосенсоры и биомолекулярная электроника. Нано- и микросистемная техника. От исследований к разработкам // Сборник статей / под ред. д. т. н. проф. П. П. Мальцева. – М. : Техносфера, 2005. – С. 471–477.

(полимеры – полисахариды, липиды); однако они способны к биодegradации и имеют достаточно высокую стоимость. К синтетическим носителям относятся полимеры на основе стирола, акриловой кислоты, поливиниловые спирты и др. Большинство из них обладает механической прочностью, а при образовании структур обеспечивают возможность варьировать в широких пределах величины пор и введения различных функциональных групп.

Выбор полимера-носителя определяется параметрами полимерной наночастицы:

- способность к эффективному включению активного ингредиента;
- скорость выделения этого ингредиента;
- свойства поверхности;
- скорость биодegradации.

Например, знак заряда полимера (обращенного к водному раствору) влияет на иммобилизацию ферментов. Это подтверждается исследованием относительно протеолитического фермента α -химотрипсина. Фермент в большом количестве связывался с анионными (т. е., отрицательно заряженными в условиях эксперимента) поверхностями (активность фермента была в несколько раз выше активности фермента, покрывавшего катионную поверхность)⁴⁵.

Ковалентное связывание осуществляют, чаще всего, с помощью какого-либо химического «мостика», так называемого много- или бифункционального реагента, молекула которого имеет по меньшей мере две реакционноспособные группы: одну – для взаимодействия с матрицей, другую – для связывания с ферментом. Примером такого рода соединений может служить глутаровый диальдегид ($\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-\text{COH}$). При ковалентном связывании фермент оказывается на химическом «поводке» у нерастворимого носителя.

⁴⁵ *Малинин А. С. Активность фермента, иммобилизованного на полиэлектролитных мультислоях / А. С. Малинин и др. // Высокомолекулярные соединения. – 2011. – Сер. А. – Т. 53. – № 4. – С. 54–59.*

Следует использовать методы физического включения фермента в матрицу. Полимер образует вокруг фермента сетеподобную (ячеистую) матрицу, размеры пор которой настолько малы, что молекулы фермента не могут освободиться из нее, но в то же время достаточно велики для проникновения низкомолекулярных субстратов.

К типичному примеру следует отнести адсорбционные слои глюкозооксидазы (КФ 1.1.3.4) на поверхности монослоев различных ПАВ (полиакриловых веществ) или липидов и создание на их основе ферментных электродов. Замечено, что этот фермент сильнее адсорбируется на монослоях положительно заряженных смесей липидов (например, на основе цетил-триметиламмоний бромида), нежели на отрицательно заряженных липидах; жесткий полимерный монослой липида предотвращает постепенное вымывание фермента с поверхности электрода. Таким образом, тонкопленочной технологией получен биосенсор, способный определять концентрацию глюкозы. В биосенсорах используется иммобилизованная на поверхности биопористых носителей пероксидаза, которая отличается повышенной активностью и устойчивостью.

Разработан биосенсор глюкозы, в котором массив углеродных нанотрубок прикреплен к платиновому субстрату и этот массив связан с глюкозооксидазой; достигнут прямой перенос электронов с фермента на платиновый электрод.

Наиболее технологическими оказались устройства, изготовленные на пьезоэлектрических кристаллах (кварц, германат висмута, ниобат лития).

Значительный интерес представляют мембраны, которые сформированы методом Ленгмюра-Блоджетт, как активные элементы биоспецифических сенсоров. В частности, иммобилизации α -хемотрипсина или уреазы (КФ 3.5.1.5), нанесенных на пленку с холестерил-моноэфира яблочной кислоты, достигнута высокая сенсорная активность соответственно к этиловому эфиру N-ацетилтирозина и мочеvine.

Ленгмюровская технология используется для изучения последовательного процесса формирования упорядоченных двумерных и трехмерных структур, т. е. для исследования поэтапной организации полимера от двумерного до блочного состояния.

(Технология Ленгмюра-Блоджетт основана на многократном переносе оргсоединений с поверхности раздела вода / воздух на поверхность твердой подложки. Основное преимущество получаемых пленок состоит в упорядоченном расположении молекул в монослое. Недостатком этой технологии в ряде случаев является нестабильный перенос монослоев на твердую поверхность в связи со слабой адгезией с поверхностью молекул органических веществ, входящих в монослой).

Итак, принципиальной особенностью систем, в которых работают ферменты в иммобилизованном состоянии, является их гетерогенный характер (на кинетику процесса, как правило, влияет перенос субстратов и продуктов реакции).

При моделировании мембранных структур, включающих ферменты, следует учитывать принцип геометрического соответствия, который является определяющим в активности и селективности ферментов. Согласно этому принципу каталитическая реакция зависит от пространственного соотношения между строением активного центра на поверхности катализатора и геометрическими параметрами той части молекулы, которая превращается в ходе реакции (эта часть молекулы в мультиплетной теории имеет название «индексной группы»).

Изучение ферментативной активности белка показывает, что в эту функцию активно вовлечена небольшая часть белковой глобулы, в то время как остальная ее часть служит каркасом, обеспечивающим «правильное строение закрепленного на нем активного центра».

При использовании белков-ферментов в наноконструировании следует учитывать связь общих принципов архитектуры молекул с их свойствами как диэлектрической среды реакций переноса заряда (например, гидролиз амидных связей или цис-трансизомеризация ненасыщенных соединений осуществляются последовательным присоединением и отщеплением протонов). Как известно, пептидные группы, как основные элементы структуры, обладают большим дипольным моментом. Плотная упаковка пептидных звеньев и полярных боковых цепей внутри определенных структур сильно ограничивает способность диполей белка изменить свою ориентацию под действием внешнего электрического поля. Отсюда, диэлектрический отклик белка на

внешнее электрическое поле оказывается весьма слабым. И эта особенность структуры белков в том, что существует постоянное внутрибелковое поле. Перенос электрона может осуществляться по механизму сверхобмена, при котором имеет место перекрытие волновых функций верхних занятых или нижних свободных орбиталей молекул, расположенных между донором и акцептором. В белках, обладающих разветвленной системой ковалентных связей, дальний перенос электронов встречается часто. Это является существенной особенностью белков как среды реакций переноса электронов. В прочном межбелковом комплексе перенос электрона на большие расстояния связан с энергией активации процесса переноса и с энергией, затрачиваемой на изменение взаимной ориентации двух белков. Расчет энергии реорганизации переноса заряда в белках для ряда систем различного типа представлен в работе⁴⁶. Внешний перенос заряда рассмотрен на примере цитохрома *c*, внутриглобулярный перенос электрона – с использованием модифицированного цитохрома *c* и ферредоксина, перенос электрона во внутримембранных белковых комплексах – на примере бактериального РЦ фотосинтеза, межбелковый перенос исследован на примере реорганизации реакции цитохрома *b₅* с цитохромом *c*. Внутрибелковое поле стабилизирует переходное состояние структуры при большом числе параллельных путей переноса заряда, а водное окружение существенно влияет на эти процессы.

В природе сформировалась модель индуктивного соответствия фермента и субстрата, согласно которой субстрат вызывает изменение конформации фермента (индуцированное соответствие достигается путем мелких локальных деформаций). Поэтому, биокатализаторы есть образцом для создания активных каталитических систем и это дает толчок для развития нового направления в катализе-биомиметика, т. е., образование синтетических катализаторов, способных моделировать ферменты и выполнять их функции.

⁴⁶ Кристаллик Л. И. Белки как специфическая среда процессов переноса заряда / Л. И. Кристаллик // Успехи физических наук. – 2012. – Т. 182. – № 12. – С. 1275–1300.

Биомиметика, копирующая природные сенсоры и процессы, стимулирует разработку сенсорных матриц (биочипов).

При модулировании сенсорных систем целесообразно использовать свойства кальциевых сенсорных белков и сигнальные пути, которые заложены в растительных структурах. К триггерным (сенсорным) белкам относятся около 600 (эстафетные сенсоры и сенсоры-респондеры), к ним относятся и Ca^{2+} -зависимые протеинкиназы. Взаимодействие с ионом кальция приводит к конформационной перестройке сенсорного белка (образуется активный комплекс, который переводит белок-мишень из неактивного в активное состояние). В работе И. Д. Волотовского⁴⁷ детально рассмотрены последовательности реакций участия Ca^{2+} -сенсорных белков. Они представлены как природная модель трансформации специфических сигналов, как ключевые компоненты сигнальных путей.

Кроме сенсорных устройств, это направление связано с исследованием многих искусственных структур, имитирующих найденные в биологических системах. В частности, используется подход в разработке технологий создания пленок способом, подражающим последовательному адсорбированию материалов в Природе, с помощью которого осуществляется биоминерализация поверхностей. Известно, что этот процесс состоит во включении неорганических соединений, например, кальцийсодержащих, в мягкие живые ткани для их преобразования в более твердую форму (установлено, что костная ткань содержит множество палочкообразных неорганических кристаллов с характерными диаметром 5 нм и длиной в пределах от 20 до 200 нм).

Конструкции сенсорных устройств, включающие ферментный биосенсор, является соединением двух функциональных составляющих биоселективной мембраны, которая содержит в себе иммобилизованный фермент и физического преобразователя, который отвечает за трансформацию биохимического процесса в электрический.

⁴⁷ Волотовский И. Д. Роль ионов кальция в процессах фотосигнализации в растительной клетке / И. Д. Волотовский // Биофизика. – 2011. – Т. 56. – Вып. 5. – С. 800–812.

Анализ данных показывает, что большая часть разработанных в настоящее время биосенсоров создана на основе ферментов (биосенсоры рассматриваются как аналитические системы с биочувствительной поверхностью, сигнал от которой передается на соответствующий трансдьюсер). Необходимым условием создания биосенсора является успешная иммобилизация фермента на поверхность трансдьюсера.

При этом следует учитывать тот факт, что обязательным компонентом мембранных сигнальных систем животных являются G-белки (гуанин-связывающие белки), которые «включаются» при связывании с ГТФ и «выключаются» гидролизом ГТФ до ГДФ. Гидролиз ГТФ ускоряется группой белков, активирующих ГТФ_{азу} (GTF_{ase} – activating proteins). Принято считать, что после гидролиза ГТФ происходит сборка неактивного G α , β , γ тримера. Молекулярная гетерогенность этих белков дает возможность организовать гибкую высокоадаптивную систему. Эти белки биомембран состоят из большой α -субъединицы, которая обладает ГТФ_{азной} активностью. В состав белков входят β - и γ -субъединицы, которые связаны между собой; последняя – с мембранной цепью углеродных атомов (20 атомов). Посредством связей комплекс G-белка удерживается в плоскости мембраны и способен двигаться в ней. Эти мембранные белки активируются после взаимодействия с ГТФ, участвуя в передаче сигнала от клеточных рецепторов к ферментам на внутренней поверхности мембран⁴⁸.

Создание сенсорных устройств на основе биоаналитических платформ – это приоритетное направление. При проектировании таких оптических устройств необходимо принимать во внимание следующее:

- чувствительность на соответствующей длине волны;
- скорость отклика для желаемой полосы частот;
- стабильность.

Экспериментально установлено, что связывание водорастворимых ферментов с мембраной является общим элементом

⁴⁸ Смит К. Ю. М. *Биология сенсорных систем* / К. Ю. М. Смит; пер. с англ. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2005. – 583 с.

процессов их трансмембранного переноса, а также способствует «сборке» полиферментных и фермент-транспортных структур. Перевод водорастворимой молекулы в мембранную форму основан на введении в белковую молекулу гидрофобного «якоря», образованного, например, группами небелковой природы (фосфолипидами, жирными кислотами). Искусственно гидрофобизованные ферменты (например, химическая модификация α -химотрипсина и трипсина хлорангидридами стеариновой и пальмитиновой кислот) с целью придания им мембраноактивных свойств – это пример создания новых материалов.

Расшифрованные структуры ферментов – в базе данных белков (Protein Data Bank, <http://www.pdb.org>).

При использовании ферментов в наноконструкциях, следует учитывать факторы, определяющие способность ферментов ускорять химические реакции (сближение и ориентация; напряжение и деформация, индуцированное соответствие; общий кислотно-основной катализ, специфичность аминокислотных остатков, которые являются донорами или акцепторами протонов; ковалентный катализ – образование нестабильных ковалентно-связанных ферментсубстратных комплексов. Известные нам ферменты состоят с L-аминокислот (leaves-левый), такая форма способна поворачивать плоскость поляризации света в одном направлении. Короткие полипептиды с D-аминокислотами (dexter-правый) существуют, например, нейропептиды, но это не структурные, а сигнальные белки. Для информационных функций организмы могут использовать D-аминокислоту. Одновременная сборка полимеров из смеси L- и D-формы невозможна).

Как предполагают, в будущем гидрогеназу следует использовать в качестве компонента молекулярной машины для обратимого преобразования химической энергии молекулярного водорода в поток электронов до конечного акцептора по термодинамическому градиенту. Этот фермент рассматривают в различных модельных системах для преобразования энергии на основе водорода. Способность гидрогеназы к электрохимическому сопряжению с различными токопроводящими материалами позволяет создавать на ее основе водородный ферментный электрод. «Нанизывание» фермента на углеродную нанотрубку способствовало сохранению стабильного электрического контакта между

ними. Очищенную гидрогеназу можно использовать в синтезе специфических химических соединений требующего участия водорода в качестве восстановителя, получения водородно-кислородных топливных ячеек.

Имеются сведения о том, что целлобиозодегидрогеназа (ЦДГ, КФ 1.1.99.18) может непосредственно взаимодействовать с электродами через гемовый домен (фермент адсорбировали на графитовых электродах). На основе этого фермента был разработан анод для биотопливной ячейки. Он был соединен с платиновым катодом для восстановления кислорода при параллельном окислении лактозы. В полученной биотопливной ячейке на обоих электродах происходил прямой перенос электронов.

Следует учесть факт быстрого переноса электрона между донорными и акцепторными центрами в некоторых ферментах, которые разделены расстояниями 10–20 Å. Это характерно для многих окислительно-восстановительных реакций (в качестве примера, окисление этанола до ацетальдегида алкогольдегидрогеназой).

Принципиальным для наноконструкций является и то, что фотоэнергопреобразующие мембраны осуществляют свою функцию благодаря наличию в них уникальных природных образований – хромофор-белковых комплексов, обладающих уникальным набором свойств (фотохромизм, электрохромизм, электрогенный характер функциональных реакций, естественная поляризация компонентов), что позволяет наметить пути использования этих образований в биоэлектронике.

Перспективным направлением в создании наноматериалов является использование биополимерной матрицы жгутиков бактериального происхождения для размещения заданного лиганда с целью производства функциональных волокон. К свойствам, которые следует учитывать, относят:

- жгутики архей имеют повышенную устойчивость к диссоциирующим воздействиям;
- жгутики состоят из нескольких типов субъединиц, сборка которых координируется специальными механизмами, что представляет возможность модифицировать их различным образом для получения полифункциональных материалов;
- галофильный археон *H. solinarum* имеет несколько десятков жгутиков на клетку (длина составляет до 1 мкм; доля

белка, формирующего внешние нити жгутиков, приближается к 20 % от суммарного клеточного белка);

- филаменты способны к упорядоченной ассоциации друг с другом боковыми поверхностями с образованием так называемых «супержгутиков» длиной до 100 мкм, что также представляется важным для их применения;
- жгутики архей обладают адгезивными свойствами к определенным типам поверхностей.

Исследователи С. Н. Безсонов с сотр.⁴⁹ предлагают использовать в нанотехнологических целях жгутики галофильного археона *Halobacterium salinarum* как надмолекулярные белковые структуры. В основе этих работ лежит идея использования биополимеров в качестве матриц для выведения на поверхность составляющих биополимер субъединиц некой дополнительной петли пептидной природы. Авторы допускают, что этот природный материал может быть использован для синтеза нанотрубок, обладающих проводящими, магнитными, каталитическими и др. свойствами (наибольшим и самым мощным белковым мотором является жгутиковый мотор бактерий).

В настоящее время формируется новое направление, связанное с использованием микроорганизмов для синтеза нано- и микрочастиц металлов и их соединений.

К наукоемким перспективным отраслям производства относятся практическое применение таких наноструктур как углеродные нанотрубки (УНТ)^{50, 51, 52}. Нанотрубка – это молекула из

⁴⁹ Безсонов С. Н. Жгутики архей как матрицы для создания новых материалов / С. Н. Безсонов, М. Г. Пятибратов, О. В. Федоров // *Российские нанотехнологии*. – 2009. – Т. 4. – № 5–6. – С. 144–148.

⁵⁰ Хабашеску В. Н. Ковалентная функционализация углеродных нанотрубок: синтез, свойства и применение фторированных производных / В. Н. Хабашеску // *Успехи химии*. – 2011. – Т. 80. – Вып. 8. – С. 739–760.

⁵¹ Раков Э. Г. *Нанотрубки и фуллерены: учебное пособие* / Э. Г. Раков. – М.: Университетская книга. Логос, 2006. – 376 с.

⁵² Раков Э. Г. *Углеродные нанотрубки в новых материалах* / Э. Г. Раков // *Успехи химии*. – 2013. – Т. 82. – № 1. – С. 27–47.

более чем миллиона атомов углерода, представляющая собой трубку с диаметром ~ 1 нм и длиной несколько десятков микрометров; топологическая форма наночастиц в виде полого стержня. Бездефектные УНТ представляют собой цилиндрические частицы из свернутых графенов-листочков из атомов углерода, расположенных по углам сочлененных шестиугольников (графены – плоские сетки из атомов углерода, расположенных в углах правильных шестиугольников на расстоянии 0,1418 нм; диаметр 0,7–3,0 нм) однослойные УНТ содержат лишь один свернутый графеновый слой.

УНТ склонны к образованию сростков, содержащих от нескольких до нескольких сотен УНТ. При определенных условиях самопроизвольно замыкаются в кольца, диаметр которых составляет 250–550 нм, а толщина сростков в кольцах – обычно 5–15 нм.

Функционализация УНТ позволяет получению структуры, которая обеспечивает более сильное взаимодействие наполнителя с матрицей, улучшая механические свойства материала. Различают два вида функционализации – с присоединением функциональных групп к открытым кончикам трубки, либо к ее боковым поверхностям. По прочности связи процессы присоединения к УНТ бывают с образованием прочных ковалентных связей и без образования таких связей (за счет гидрофобного взаимодействия, образование водородных связей). К оксидным группам УНТ удастся присоединить наночастицы с образованием ковалентных связей и получением новых функциональных материалов для оптоэлектронных устройств.

Заполнение внутренних полостей УНТ (инкапсулирование) рассматривается как матричный метод синтеза наноструктурированных веществ и материалов с определенной формой и размером, а также как средство изменения электронных свойств трубок. Заполнителями могут быть отдельные наночастицы, в том числе и ДНК.

Получены аминокислотные производные УНТ с присоединенными фрагментами цистеина, которые обладает повышенной растворимостью в воде, этиловом спирте и др. растворителях, что может быть полезным в совместительстве с биосистемами, в процессах биораспознавания и пептидном синтезе. Концевые карбоксильные группы в этих соединениях могут быть использованы для получения новых производных.

Нековалентное связывание УНТ с ДНК использовано для матричной укладки трубок на подложке. Сначала к Si-подложке «привязывают» двухцепочечные ДНК, затем вводят бифункциональный реагент гидрохлорид-1-пиренметиламин, который связывался с ДНК, за счет электростатического взаимодействия, и с УНТ, вследствие наличия у него пиреновой группы.

При контакте с белками образуется ковалентная связь с аминокеттогруппами белков, в частности, лизином. Такой прием используют для иммобилизации на УНТ большого числа белков. Например, фермент α -амилаза может обволакивать УНТ. Такое обволакивание, а также самосборка биомолекул на поверхности трубок, способствует их солюбилизации, позволяет собирать из них структуры (солюбилизация – это функционализация, ведущая к образованию растворимых УНТ; образованию устойчивых коллоидных растворов). Биомолекулы используются для удлинения однослойных УНТ: к карбоксильным группам трубок присоединяют β -галактозидазы, содержащие концевые аминокеттогруппы, а молекулы моносахарида связывают между собой лектинами.

При создании биологических сенсоров с использованием одностенных УНТ возникает необходимость решения вопросов, связанных с процессами распознавания мишени на поверхности одностенных УНТ с иммобилизованным ферментом. Для этих целей авторы иммобилизовали глюкозооксидазу на поверхность сетки нанотрубок. В качестве молекулярного интерфейса был применен сукцинимидный эфир 1-пиренбутановой кислоты, бифункциональная молекула которого обеспечивает химическую связь с оболочкой фермента, а вторая её часть (пиреновая) адсорбируется на поверхность нанотрубки. Использование такого молекулярного интерфейса исключает, с одной стороны, прямую адсорбцию фермента на поверхности нанотрубки, которая снижает его активность, а с другой, обеспечивает локализацию фермента вблизи нанотрубки⁵³.

⁵³ Карачевцев В. А. Иммобилизация глюкозооксидазы на сетку одностенных углеродных нанотрубок / В. А. Карачевцев, А. Ю. Глазман, Е. С. Заруднев и др. // Украинський фізичний журнал. – 2012. – Т. 57. – № 7. – С. 700–709.

В работе⁵⁴ изложен подход по изготовлению объемных нанокomпозиций с участием белка. Многослойные УНТ (диаметр от 3 до 30 нм) вводились в водный, коллоидный раствор альбумина. Рабочий раствор диспергировался в ультразвуковой бане в течение нескольких часов. Облучение раствора – с помощью диодного лазера АС-97. Полученный наноматериал представлял собой объемную квазипериодическую структуру из круглых и торообразных глобул.

Итак, модифицировать УНТ можно с помощью биомолекул (например, ДНК или сложный белок введением во внутреннюю полость открытых трубок, или адсорбцией биомолекул на срезках УНТ, или присоединением их к кончикам раскрытых УНТ, или к их боковой поверхности).

В обзоре⁵⁵ обсуждаются свойства модифицированных УНТ с помощью биополимеров. Следует полагать, что углеродные нанотрубки – это материалы востребованные благодаря высокоорганизованной наноструктуре, химической устойчивости и совместимости с биомолекулами. Следовательно, использование УНТ – это один из путей интеграции нанотехнологии с биологией и биотехнологией.

В заключение необходимо указать на то, что перспектива использования белков (белков-ферментов) в конструировании устройств определяется и тем, что они участвуют в процессах переноса зарядов (электронов, протонов) или могут быть средой, предопределяющей условия их транспортировки. Однако, при проектировании вновь создаваемых нанобразований следует учитывать общие принципы структурной организации молекул – фиксацию большого числа высокополярных групп в рамках довольно жесткой структуры.

⁵⁴ Подгаецкий В. М. Получение объемных нанокomпозиций на основе водного раствора альбумина под действием лазерного излучения / В. М. Подгаецкий, В. В. Савранский, М. М. Самуник, М. А. Конопов // *Квантовая электроника*. – 2007. – Т. 37. – № 9. – С. 801–803.

⁵⁵ Бадаמיлина Э. Р. Модифицирование углеродных нанотрубок и синтез полимерных композитов с их участием / Э. Р. Бадамилина, М. П. Гафурова, Я. И. Эстрин // *Успехи химии*. – 2010. – Т. 79. – № 11. – С. 1027–1064.

1.6. Гибридные нанокompозитные системы

Интерес к созданию нанокompозитных систем, в которых в качестве полимерной составляющей используются биологические структуры, как уже неоднократно отмечалось, обусловлено возможностью их использования в молекулярной электронике, сенсорных устройствах, фотопреобразователях и др.; биологические молекулы рассматриваются как основа создания новых материалов и устройств с улучшенными заданными или новыми уникальными свойствами и характеристиками.

1.6.1. Примером гибридных наносистем может быть система квантовых точек (КТ) с ядерным комплексом фотосистемы II (ФС II).

Полупроводниковые нанокристаллы КТ поглощают свет в широком оптическом диапазоне от УФ до ближней инфракрасной области. Уникальные флуоресцентные свойства КТ имеют целый ряд преимуществ над обычно используемыми в биологии органическими флуорофорами:

- широкий спектр поглощения КТ дает большую свободу в выборе длины волны возбуждения донора; узкие и симметричные полосы флуоресценции (ширина полосы на полувысоте спектра 20–35 нм); КТ всех размеров можно возбуждать одним источником света (синий или УФ); время жизни флуоресценции более 10 нс;
- высокая фотостабильность (в 50–10000 раз стабильнее органических флуорофоров);
- узкий и симметричный пик эмиссии (отсутствует наложение сигналов эмиссии донора и акцептора);
- сравнимые величины квантового выхода (более 20 %) и более высокие значения молярного коэффициента экстинкции ($\sim 10^5$ – 10^6 М⁻¹см⁻¹), что позволило получить системы для визуализации единичных молекул с хорошей чувствительностью и яркостью изображения;
- возможность реализации методов модификации поверхности с помощью дополнительных покрытий или способов посадки на нее различных реакционных групп, в частности и бионанообъектов.

Известно, что ФС II – это электронно-транспортная цепь фотосинтетической системы; все компоненты этой цепи локализованы в реакционном центре (РЦ). Ядерные комплексы ФС II содержат молекулы хлорофилла **a** и сохраняют способность к фотоиндуцированному выделению O_2 , обладают индукцией флуоресценции хлорофилла (ФС II осуществляет разложение H_2O и перенос электрона в пул хинонов).

КТ и ядерные комплексы ФС II способны образовывать гибридные структуры с высокоэффективным переносом энергии возбуждения от КТ к ФС II. Перенос энергии позволяет увеличить светосбор фотосистемы в УФ и видимой областях спектра. Авторы исследований полагают, что наличие отрицательно заряженных групп на внешней поверхности оболочки КТ способствует образованию структуры за счет электростатических взаимодействий с положительно заряженными аминокислотными остатками белков ФС II (КТ CdSe/ZnS с диаметром кристалла 5,2 нм; ядерные комплексы ФС II мембранных фрагментов). Гибридные структуры способствовали увеличению скорости восстановления первичных акцепторов электронов (эффективность преобразования энергии в гибридной системе КТ + ФС II приближается к эффективности функционирования светособирающего комплекса растений)^{56, 57, 58}.

Подобные гибридные системы могут быть использованы в светосборах фотопреобразователей за счет передачи энергии возбуждения по индуктивно – резонансному механизму.

⁵⁶ Звездин К. В. Новые гибридные фотохромные материалы с переключаемой флуоресценцией / К. В. Звездин, Н. Т. Беликов, А. В. Лантев и др. // *Российские нанотехнологии*. – 2012. – Т. 7. – № 5–6. – С. 112–118.

⁵⁷ Максимов Е. Г. Гибридные системы из квантовых точек и ядерных комплексов фотосистемы 2 / Е. Г. Максимов, В. Р. Курашов, М. Д. Мамедов, В. З. Пащенко // *Биохимия*. – 2012. – Т. 77. – Вып. 6. – С. 767–774.

⁵⁸ Олейников В. А. Полупроводниковые флуоресцентные нанокристаллы (квантовые точки) в белковых биочипах / В. А. Олейников // *Биоорганическая химия*. – 2011. – Т. 37. – № 2. – С. 171–189.

1.6.2. Пептиды рассматриваются как перспективные для получения неорганических наноматериалов. Пептиды (характерные размеры индивидуальных молекул составляют 2–30 нм) обладают способностью к самоорганизации, биосовместимостью, возможностью направленной модификации свойств. Например, пептидные филаменты формируют пространственные сетки, которые служат основой для получения гидрогелей как перспективных функциональных материалов. Структуры, образуемые пептидными филаментами (например, самокомплементарный пептид (ArgAlaAspAla), восстанавливаются после разрушения геля. Пептидные везикулы, дендримеры, нанотрубки, как синтетические наноструктуры, используют в качестве матриц для формирования инженерных центров связывания ионов – мишеней. Вследствие чего получены пептиды, синтезирующие наночастицы ZnO и ZnS звездчатой формы, гексагональные пластинки Ag, наночастицы Pt контролируемой формы и размера, монокристаллы Ga₂O₃. На внешней поверхности самособирающихся пептидных филаментов была создана нанопроволока Au. Получен трехслойный коаксиальный наностержень (внутри пептидной нанотрубки расположен сердечник из Ag, а на внешней поверхности – слой Au). По утверждению автора⁵⁹, эти материалы могут найти применение в электронных или фотонных устройствах.

1.6.3. ДНК – нанотехнология, как область знания, способствует использованию ДНК в качестве конструкционного материала. При создании новых материалов учитывается главное свойство этой молекулы – самосборка (молекулы, при взаимодействии между собой, принимают пространственную композицию без управления из внешнего источника). В обзорной работе⁶⁰ проанализирована информация об использовании ДНК в качестве основы для материалов с новыми свойствами. Рассмотрены возможное применение ДНК-поверхности в качестве

⁵⁹ Родина Е. В. *Наноматериалы на основе пептидов* / Е. В. Родина // *Высокомолекулярные соединения. Серия С.* – 2012. – Т. 54. – № 7. – С. 1056–1064.

⁶⁰ Зверева М. Э. *ДНК – как наноматериал* / М. Э. Зверева, А. Н. Малайко, О. А. Донцова // *Высокомолекулярные соединения. Серия А.* – 2012. – Т. 54. – № 7. – С. 1106–1115.

подложки для сборки комплексов и основы для расположения биомолекул, наночастицы металлов и других наноструктурных образований в пространстве. С этой целью различные наночастицы дополнительно модифицируют одноцепочечным ДНК-адаптером. Нуклеотидная последовательность адаптера определяет к какому месту ДНК – поверхности будет присоединена структура. Двойная спираль, между ДНК-адаптером нанообъекта и одноцепочечным участком ДНК – поверхности, позволяет изучать взаимодействия между различными структурами. Примером расположения других наночастиц в пространстве – блочная сборка ДНК – поверхности с регулярно выступающими свободными одноцепочечными участками, которые обеспечивают «посадку» наночастиц металлов (создание сеток). ДНК-нанотрубки могут служить основой для расположения в пространстве наночастиц металлов.

Для создания структурных материалов, используют подходы с применением ДНК-ориг (метод ДНК-ориг основан на взаимодействии длинной цепи с более короткими, комплементарными к тем или иным участкам длинной цепи). Собранные структуры ДНК-оригами используются в качестве шаблона для другого материала или композиционного материала.

Использование ДНК, в качестве основы для создания новых материалов, как указывалось выше, имеет потенциал развития в наноэлектронике, сенсорных устройствах, клеточной и тканевой инженерии и создание материалов для биомедицины.

1.6.4. Новый композитный нанопленочный биоматериал на основе комплексов биогенного полиамина спермина и коллоидных магнитных наночастиц магнетита F_3O_4 размером ~ 10 нм – это пример создания композитных материалов на основе природных биоструктур и неорганических частиц. Такие нанопленочные структуры могут адсорбироваться на различные поверхности и модифицировать их⁶¹.

1.6.5. Одним из перспективных методов при создании наногибридных структур с участием биомолекул является

⁶¹ Холматов Г. Б. Биомиметические наносистемы и новые композитные нанобиоматериалы / Г. Б. Холматов // Биофизика. – 2011. – Т. 56. – Вып. 5. – С. 881–898.

использование оптического биосенсора, основанного на эффекте поверхностного плазмонного резонанса (Surface plasmon resonance). Этот метод позволяет изучать белок – белковые взаимодействия для выяснения функции неизвестных белков при взаимодействии с другими белками, функции которых известны (подход назван интерактомикой). На поверхность оптического чипа закрепляется аффинный реагент для связывания целевого белка; пропускается через измерительный канал биосенсора смесь белковых соединений. Данный белок может быть «пойман» путем связывания с другим известным белком («молекулярная рыбалка»; molecular fishing).

Белок-«наживка» – белок, который используется в экспериментальных методах для «вылавливания» и идентификации неизвестных белков по принципу белок – белковые взаимодействия; белок-«добыча» – неизвестный белок, который экспериментально идентифицируют как белок, взаимодействующий с белком-«наживкой».

Такой подход может быть полезен и при изучении наногибридов на основе (или с участием) белковых соединений⁶².

В дополнение к вышеизложенному, перечислим биоинформационные подходы, которые могут быть полезными при конструировании наногибридных устройств:

- подходы, основанные на геномной информации;
- подходы, основанные на первичной (или третичной) структуре биомолекул;
- подходы, основанные на взаимодействии молекул в клеточных структурах;
- подходы, основанные на информации о белковых доменах; использование системы PreSPI (Prediction System for Protein Interaction, <http://prespi.icu.ac.ru/>) и базы данных PID (Potentially Interacting Domain pairs, <http://www.biointeraction.org/>).

⁶² Иванов А. С. Технологии белковой интерактомики / А. С. Иванов, В. Г. Згода, А. И. Арчаков // *Биоорганическая химия*. – 2011. – Т. 37. – № 1. – С. 8-21.

1.7. Экологические вопросы, связанные с использованием наноматериалов

Должны быть использованы принципы экологического нормирования, в частности, принципы опережения (т. е. проведение исследований влияния вновь создаваемых наноустройств на окружающую среду перед началом внедрения этого устройства) и принцип «джиу-джижу» (т. е. максимальное использование внутрисистемных процессов устройства, способных действовать в положительном направлении по отношению к среде обитания живых существ).

Пример: наночастицы золота, стабилизированные НАД-Н и НАДФ-Н – зависимых нитратредуктаз, способны переносить электроны между биокатализатором и электродом.

...Мы не можем бесконечно долго бездумно нарушать великую гармоничность Мироздания. Экологические процессы, происходящие по тем же законам, четко показывают, что неправильное развитие, начавшись единожды, приобретает все большее ускорение и наконец достигает той точки, когда катастрофа неизбежна (д-р Рихард Штайнпах, 1991).

Различные направления развития нанотехнологий (каждое направление) необходимо оценивать не только по техническим параметрам, но и по экологическим. Экологический аспект природопользования – активный переход к поиску принципиально новых научных решений в условиях сформированного искусственным путем внутрисистемного антагонизма природно-хозяйственных формаций. Поэтому XXI столетие становится столетием экологии как биоцентрической междисциплинарной науки, а экологическое образование – философией и целью образовательного процесса как возможного способа сохранения, продолжения и развития человеческой цивилизации. Без экологических исследований не может быть апробирована ни одна из современных технологий. Это имеет прямое отношение и к нанотехнологиям. Ведь одна с наиболее важных парадигм экологической этики основывается на симбиозе антропо- и эоцентризме, согласно которому, все, что существует в мире, имеет внутреннюю ценность.

Развитие нанотехнологий и использование наноматериалов явно опережает исследования их безопасности для человека и окружающей среды. Нанотехнологии во всем мире рассматриваются как новое направление высокотехнологического бизнеса и фактор экономического роста, но по мере развития встают вопросы о том, как материалы нанотехнологических процессов взаимодействуют с окружающей средой и живыми организмами. Скорее всего, взаимодействие с наночастицами не происходит для клетки без последствий. Некоторые продукты нанотехнологий могут оказаться новыми загрязнителями, хотя и не оказывающие деградирующего воздействия на биологические объекты. Поэтому в экологической экспертизе любого нанотехнологического проекта необходимо предусмотреть оценку его влияния на средообразующие функции природных биосистем. Вопросы, связанные с поведением наноматериалов в окружающей среде и их влиянием на живые организмы и экосистемы, требуют планомерных исследований.

Рассматривая вопросы нанозологии, С. К. Максимов, К. С. Максимов⁶³ акцентируют внимание на значимость поверхностной функциональности наночастиц, которая изменяется не только с изменением размеров частиц, но также с изменением их структур (фундаментальное свойство наноматериалов – зависимость структурно-морфологических характеристик наночастиц от их размеров). Весовые, объемные доли наночастиц или число активных структурных единиц, находящихся на поверхностях контакта, и определяют свойства этих структур. Исследователи предполагают, что эффективный контроль в технологиях наночастиц может быть обеспечен только в результате:

- обнаружения всех структурно-морфологических фракций, которые возникают для конкретных типов частиц при конкретных технологиях;
- физическое выделение этих фракций;

⁶³ Максимов С. К. Принципы стандарта безопасности и производственного контроля в технологиях наноразмерных частиц / С. К. Максимов, К. С. Максимов // Нанотехника. – 2009. – № 3 [19]. – С. 3–11.

- последующего изучения окислительно-восстановительных и метаболических реакций, а также перестроек на молекулярном уровне в тканях и субстанциях живого организма, наблюдающихся при контактах живой материи с частицами каждой из фракций.

Высокая химическая активность наночастиц приводит к увеличению активных форм кислорода (АФК), в том числе свободных радикалов. АФК были найдены в результате воздействия разных типов наноматериалов, включая фуллерены, УНТ, металлические наночастицы и наночастицы оксидов металлов. Окислительный стресс является одним из главных механизмов токсичности наночастиц (повреждение белков, ДНК и мембран).

АФК – это свободные радикалы: диоксид $O_2^{\bullet -}$ и гидроксильный радикал HO^{\bullet} , а также перекись водорода и синглетный кислород 1O_2 . Основным источником диоксида является цепь переноса электронов в митохондриях. Это сильный окислитель, повреждающий многие биомолекулы. Коротко живущий гидроксильный радикал обладает высокой химической активностью; он инициирует перекисное окисление липидов мембран, разрушает пуриновые и пиримидиновые основания НК. Перекись водорода – более слабый окислитель, но из нее в биосистемах в присутствии ионов металлов переменной валентности образуется активный гидроксильный радикал. При этом электрон катиона переносится на молекулу перекиси. Синглетный кислород образуется в присутствии фотосенсибилизаторов и при тепловом воздействии разрушает биологические структуры.

Примером могут служить сведения о том, что наночастицы серебра в виде суспензии при взаимодействии с дегидратированными группами ДНК способствуют разрушению спиральной структуры нуклеиновой кислоты⁶⁴. УНТ, содержащие в своем составе примеси железа, способны индуцировать в лимфоцитах

⁶⁴ Глибоцький Г. М. Взаємодія ДНК з наночастинками срібла / Г. М. Глибоцький, В. В. Джерелалі, М. О. Семенов // Український фізичний журнал. – 2012. – Т. 57. – № 7. – С. 695–699.

человека избыточное образование активных форм кислорода, что приводит к нарушению структуры мембран⁶⁵.

В обзоре⁶⁶ рассматривается характер влияния наноматериалов на рост и развитие растений. Отмечается, что важную роль воздействия на растительный организм имеет размер и поверхностные характеристики наночастиц, как факторов, что могут вызвать фитотоксичность. Механизм токсического влияния УНТ исследователи связывают с генерированием оксидантного стресса на растительные структуры.

В сборнике⁶⁷ излагаются сообщения относительно вредного воздействия углеродных нанотрубок на дыхательные пути живого организма. Углеродные нанотрубки причиняли значительное повреждение легких животных и даже вызывало смерть некоторых из них. Аэрозоль углеродных нанотрубок приводит к прорастанию волокон и утолщению соединительной ткани в легких животных. Попадая в эпидермальные ткани, нанотрубки вызывают выделение поверхностными клетками цитокина, который является модулятором воспалительных процессов. Воздействие было связано и с тем, что клетки иммунной системы захватывают нанотрубки и затем погибают.

Опыты на грызунах, подвергшихся воздействию нанотрубок, продемонстрировали значительное повреждение ДНК, которое продолжалось, по меньшей мере, 6 месяцев. Контактируя в течение минуты с капиллярами дыхательных путей легких животных, углеродные наночастицы начинают поступать через

⁶⁵ Жорник Е. В. Индукция активных форм кислорода и структурная модификация мембран лимфоцитов человека под влиянием углеродных нанотрубок / Е. В. Жорник, Л. А. Баранова, А. М. Струкова и др. // *Биофизика*. – 2012. – Т. 57. – Вып. 3. – С. 446–453.

⁶⁶ *Наноматериалы. Нанотехнологии. Наносистемная техника. Мировые достижения за 2005 год : сб. / под. ред. д. т. н., проф. П. П. Мальцева*. – М. : Техносфера, 2006. – 152 с.

⁶⁷ Бурлака О. М. Вуглецеві нанотрубки та застосування їх для генетичної трансформації рослин / О. М. Бурлака, Я. В. Пірко, А. І. Ємець, Я. Б. Блюм // *Наноструктурное материаловедение*. – 2011. – №2. – С. 84–101.

межклеточное пространство в капилляр. Отрицательно заряженные наночастицы улавливаются красными кровяными клетками, которые в организме имеют положительный заряд. Смена знака заряда на поверхности клетки приводит к существенным изменениям в кровотоке.

В работах⁶⁸ обобщены сведения о влиянии инженерных наночастиц на водные организмы, при их поступлении и аккумуляции в организме, их токсического воздействия, биотрансформации и миграциям по пищевым сетям.

Как отмечает Л. Фостер⁶⁹, серьезные проблемы могут возникнуть, когда углеродные нанотрубки начнут массово использоваться в электронных устройствах, например, при производстве компьютерных чипов, причем не в период эксплуатации (когда такие чипы изолированы внутри вычислительных схем), а позднее, когда они поступят в переработку или просто на свалки. Никто не может предсказать последствий наличия в окружающей среде значительного количества нанотрубок и их воздействия на здоровье населения.

Касаясь экологических вопросов, еще раз следует обратить внимание специалистов, что безопасность нанопродуктов (в том числе и для человека) будет обеспечена если исходным материалом будут служить биологические структуры, которые созданы самой Природой.

Например, природным исходным материалом могут быть гумусовые вещества как органический «модификатор» для наночастиц. Гумусовые вещества – ассоциаты относительно низкомолекулярных компонентов, возникающих при деградации и разложении биологического материала, динамически объединенные и стабилизированные, в основном, слабыми связями. Именно это является главным в структуре этих веществ. Они

⁶⁸ Крысанов Е. Ю. *Наночастицы в окружающей среде и их влияние на гидробионтов* / Е. Ю. Крысанов, Д. С. Павлов, Т. Б. Демидова, Ю. Ю. Дзебуадзе // *Известия РАН. Серия биологическая.* – 2010. – № 4. – С. 478–485.

⁶⁹ Фостер Л. *Нанотехнологии. Наука, инновации и возможности* / Л. Фостер. – М. : Техносфера, 2008. – 352 с.

представляют собой супрамолекулярные структуры, стабилизированные слабыми, а не ковалентными связями. Гидрофобные взаимодействия, ван-дер-ваальсовы и водородные связи ответственны за формирование супрамолекул гумусовых веществ большого размера.

Гумусовые вещества, как кислотнo-щелoчные соединения, имеются в почвах, торфяных отложениях, естественных водах и образуются в результате разложений растений, остатков животного происхождения. В почвах существуют частицы гумусовых веществ размером 2–4 нм, которые, по-видимому, представляют собой фульвокислоты. Частицы размером 8–12 нм могут являться гуминовыми кислотами (фульвокислоты присутствуют в кислом экстракте, гуминовые – осадок в этом экстракте). Эти кислоты содержат разнообразные функциональные группы (карбокисильные, карбонильные, ацетогруппы) и за счет этих групп в структуру внедряются наночастицы и образуются, в частности, магнитоактивные препараты (с магнитными наночастицами оксида железа).

Итак, важным свойством гуминовых кислот – их способность к хелатированию, связыванию металлов. Эти вещества являются не токсичными и весьма распространенными в окружающей среде. Более того, гуминовые вещества в качестве сорбентов ослабляют негативное влияние ароматических углеводов, попадающих в почву.

В некоторых исследованиях показаны минимальные изменения в строении и функции почвенных микроорганизмов в связи с использованием фуллерена (образцы почвы обрабатывали 1 мкг C_{60} /г почвы в водной суспензии или 1000 мкг C_{60} /г в гранулах; изучалась активность β -глюкозооксидазы, кислой фосфатазы (КФ 3.1.3.2), дегидрогеназы, уреазы и качественные изменения по профилю жирных кислот в составе фосфолипидов).

Результаты некоторых исследований по этой проблеме изложены в работе А. Данилова⁷⁰. Приводится пример, представляющий опасность для клеток. Некоторые культуры клеток, будучи

⁷⁰ Данилов А. Безопасность наноматериалов для медицины / А. Данилов // Российские нанотехнологии. – 2009. – Т. 4. – № 7–8. – С. 18–20.

подвергнуты воздействию фуллеренов, оказались неповрежденными. Клетки не были затронуты в присутствии наночастиц галловой кислоты, которая присутствует в растительных организмах. Однако, когда фуллерены и галловая кислота присутствуют в культуре совместно, они формируют соединения, которые прикрепляются к поверхности клетки и вызывают ее гибель. Приведенный пример показывает, как трудно выделить эффекты воздействия наночастиц на организм.

Автор исследований полагает, что наночастицы способны повреждать биомембраны, нарушать функции биомолекул, которые и приводят к гибели клетки. Механизм воздействия наночастиц на живые структуры, возможно, сопряжен с образованием в их присутствии свободных радикалов и комплексированием с нуклеиновыми кислотами.

Установлено, что токсичность зависит не только от концентрации наночастиц и площади их поверхности, но также от среды, в которой они находятся (не зависит от полной массы и объема). Токсичность возрастает с уменьшением размера частиц.

Следует учесть, что риски с наночастицами обусловлены их высокой проникающей и реакционной способностью. Очень высокая удельная (с расчета на единицу массы) поверхность наноматериалов увеличивает их адсорбционную емкость, химическую реакционную способность и каталитические свойства. Это может привести, в частности, к увеличению веществ со свободными радикалами и активных форм кислорода, которые разрушают биологические структуры. Таков механизм токсического действия наночастиц кварца двуокиси титана, оксидов алюминия, железа. Из-за высокоразвитой поверхности наночастиц двуокиси кремния и титана они способны поглощать на единицу своей массы во много раз больше веществ (ионов тяжелых металлов), нежели аналогичные макроскопические дисперсии. Остается открытым вопрос, какими участками пищевой цепи в большей степени аккумулируются наноматериалы.

В связи с этим возникает необходимость в разработке системы тестов, которые позволяют определить токсичность наноматериалов (использование биотестов – наиболее общий подход при скрининге).

Целесообразно использовать самые простые и доступные методы биомониторинга, как, например, метод ростового теста с использованием тест-культур. Фитотоксический эффект используемых наноматериалов определяется в процентах относительно массы растений, длины корневой и стеблевой систем, количества поврежденных растений или количества всходов. Эти данные учитывают по формуле

$$\Phi E = \frac{M_0 - M_x}{M_0} \times 100\%,$$

где M_0 – показатель для растений на контрольной почве; M_x – показатель для опытной почвы.

Биологическая индикация – это и метод оценки состояния наноструктур; биологические индикаторы (в качестве таких индикаторов – ферментативная активность структур) суммируют все без исключения экологически важные параметры среды, отражая ее состояние в целом.

Биосенсорные системы – современный подход к построению высокочувствительных средств и методов контроля природной среды. В этих устройствах биообъект используют в качестве первичного преобразователя информации о количественном составе исследуемых сред или об их качественных характеристиках. Они создаются на основе согласования биологических и технических элементов, охваченных единым контуром управления, и представляют собой комбинированные устройства из двух взаимосвязанных преобразователей биохимического и измерительного (или средства измерения). Первый распознает информацию о составе сред и преобразует ее в изменения каких-либо свойств биообъекта, а второй измеряет значение этой реакции (биохимические преобразователи на основе биологических мембран, ферментов и других органических молекул).

Для первичной оценки токсичности наноматериалов создаются модели биосенсоров. Примером такого датчика служит нанопленка с внедренными хлоропластами. Под воздействием солнечного света в них запускаются окислительно-восстановительные реакции, в ходе которых совершается перенос электронов, из-за чего на мембране возникает разность потенциалов. Эту разность

потенциалов можно регистрировать чувствительными микро-электродами, которые фиксируют изменения на мембране под влиянием загрязненности окружающей среды токсичными веществами. Предлагается использовать также стандартные лиофильно-высушенные биосенсоры системы «Эколюм» (тестсистема на основе бактериальной биолюминисценции).

В связи с использованием поверхностно-активных веществ, которые являются загрязнителями окружающей среды, возникает необходимость постоянного экологического мониторинга окружающей среды. Эти вещества, как загрязнители, способствуют растворимости и других токсических веществ, увеличивая их концентрацию в водной среде. Авторы работ⁷¹ предлагают использовать кондуктометрический биосенсор для определения этих веществ в водных растворах. В качестве кондуктометрического преобразователя – дифференциальная пара планарных тонкопленочных гребенчатых электродов нанесенных на керамическую подложку. Биоселективным элементом служит фермент ацетилхолинэстераза, иммобилизованная вместе с сывороточным альбумином животного на поверхность преобразователя. Исследования подтвердили, что биосенсор, в оптимально подобранных условиях, характеризуется высокой операционной стабильностью.

Перспективным методом анализа экологических применений являются люминесцентный анализ и водная электрогенерированная хемилюминесценция. Посылая лазерный луч определенной длины волны в исследуемую область и принимая поступающее люминесцентное излучение, можно изучать характер и степень состояния окружающей среды в определенном месте (исследуется спектр люминесцентных световых откликов).

Особенности люминесцентного анализа:

- метод анализа характеризуется очень высокой чувствительностью;

⁷¹ Кучеренко І. С. Кондуктометричний біосенсор на основі ацетилхолинестерази для визначення катіонних поверхнево-активних речовин у водних розчинах / І. С. Кучеренко, О. О. Солдаткін та ін. // Біотехнологія. – 2011. – Т. 4. – № 5. – С. 83–89.

-
- в процессе анализа исследуемое вещество полностью сохраняется;
 - анализ осуществляется очень быстро: посылается возбуждающий световой сигнал и регистрируется спектр люминесценции;
 - люминесцентный анализ может выполняться на расстоянии. Возможно использование некоторых ферментов для очистки от токсических элементов окружающей среды. Так, например, гидрогеназа удаляет тритий из воды, которая использовалась для охлаждения реакторов атомных электростанций.

Двумерные фотонные структуры макропористого кремния являются перспективным материалом для излучательных фото- и теплоприемных устройств, которые могут быть использованы для экологического мониторинга окружающей среды.

Различного рода ион-селективных мембран, каталитических систем на основе биомембран и ферментов возможно в будущем позволят обеспечить ресурсную и экономическую эффективность водородной энергетики. Именно водород в качестве энергоносителя дает возможность повысить экологическую чистоту окружающей среды.

Моделирование социальных последствий и экологических рисков от внедрения новых наноматериалов – это одно из направлений в нанотехнологиях (почти всегда экологический контроль над новыми технологиями запаздывал, что приводило к нарушениям, часто невозможным в живой природе).

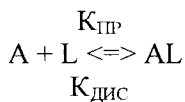
Перед нанозооэкологией (и нанотоксикологией) стоит задача и выявления возможных вредных воздействий на окружающую среду. Поэтому, к 2015 году в мировой практике планируется синтезировать нанопродукты в области экологии: мембраны, химические сенсоры, сенсоры/детекторы и разработка систем фотокатализа (переработка воды). Примером могут быть нанопористые материалы с размером пор от 10 до 100 нм для использования отделения мелкодисперсных загрязняющих агентов; нанотрубки используются в качестве эффективных сорбентов для удаления диоксинов.

Количественное описание и анализ экологических систем с использованием эмпирических данных, математических моделей

(в том числе статистических и вычислительных технологий) – это необходимые исследования.

Для примера приведем адсорбционную модель Ленгмюра, как наиболее простой и часто применяемой моделью физико-химических процессов, происходящих у поверхности структур (в том числе, биологических наноструктур). При этом следует учитывать расположенность лиганда в одном слое поверхности и равномерность распределения на этой поверхности. К прилегающей среде молекулы анализируемого вещества должны быть равномерно распределены, а концентрация этого вещества поддерживается постоянной. К одной молекуле лиганда может присоединиться не больше одной молекулы вещества. Вероятность присоединения не зависит от местонахождения лиганда и состояния соседних молекул.

Концентрация образующего соединения выражается уравнением:



(молекулы могут как присоединяться, так и отсоединяться).

Константы скорости присоединения ($K_{\text{пр}}$) и диссоциации ($K_{\text{дис}}$) входят как коэффициенты пропорциональности. Они показывают, насколько активно молекулы анализируемого вещества присоединяются к молекулам лиганда и насколько активно отсоединяются от них.

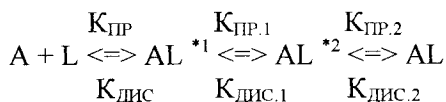
Скорость изменения концентрации комплексного соединения описывается соотношением:

$$\frac{dC_{AL}}{dt} = K_{\text{пр}}C_A(C_L - C_{AL}) - K_{\text{дис}}C_{AL},$$

где (C_{AL} – концентрация комплексного соединения; C_A – концентрация молекул анализируемого вещества; $(C_L - C_{AL})$ – концентрация свободных молекул лиганда).

Вышеизложенная модель не учитывает тот факт, что к одной молекуле лиганда могут присоединиться не одна, а несколько молекул вещества, в несколько слоев или на разных уровнях; присоединение происходит не в один, а в два и более этапов.

Такие процессы можно описать схематично:



(здесь учитываются константы скорости промежуточных химических преобразований).

Построение экологических моделей (включая разведывательные и прогностические), статистические исследования популяций и сообществ (включая как лабораторные системы, так и системы *in situ*), компьютерный анализ больших массивов эмпирических данных с целью выявить скрытые взаимосвязи и структуры – это и область исследования нанотехнологов.

В пособии авторов рассматриваются исследования сложных экологических процессов в виде нелинейности дифференциальных уравнений. Представлены математические основы имитационного моделирования динамических систем, модели эколого-экономической динамики (в том числе, кинетическая модель на примере оптимальной уборки урожая)⁷².

В обзоре работ⁷³ приведена информация о токсических эффектах наноматериалов, оценка рисков использования и их безопасности. Должны быть разработаны обоснованные рекомендации по определению параметров наночастиц, значимых для описания и прогнозирования их биологического действия. Минимальный набор параметров, необходимый для стандартизации наночастиц, должен включать: размер частиц; распределение по размерам; форму; кристалличность; наличие агломерации (агрегации); характеристика поверхностных свойств – площадь поверхностей; пористость, заряд, реакционную способность;

⁷² Ляшенко І. М. *Модельювання економічних, екологічних і соціальних процесів : навч. посіб.* / І. М. Ляшенко, В. М. Коробова, І. А. Горіцина. – К. : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2010. – 320 с.

⁷³ Гендриксон О. Д. *Методы детекции и идентификации техногенных наночастиц* / О. Д. Гендриксон, И. В. Сафенкова, А. В. Жердев, Б. Б. Дзантиев, В. О. Попов // *Биофизика*. – 2011. – Т. 56. – Вып. 6. – С. 965–994.

наличие дефектов; растворимость; термо- и УФ-стабильность. Первый сертифицированный стандартный наноматериал – препарат наночастиц диоксида кремния диаметром 20 нм (ERM-FD 100).

Должна произойти экологическая интеграция и в процессы наноконструирования.

Рыночные условия делают необходимым формирование, в том числе, у студентов-экологов мотивации к профессиональному развитию. В рамках Болонского процесса компетентный подход способствует развитию ключевых компетенций в процессе обучения, рассматривается как приоритетная ориентация на цели-векторы образования: обучаемость, самоопределение, самоактуализация, социализация и развитие индивидуальности. Наличие компетентности является необходимым условием успешного выполнения профессиональной деятельности. По мнению ряда авторов, к инструментальным компетенциям следует отнести способность специалиста применять знания на практике, использование информационных технологий; системные – это способность к самостоятельной работе, умение использовать на практике результаты научных исследований, формирование мотивации к самообучению, самообразованию; межличностные – соблюдение принципов этики; составляющей этической компетентности является экологическая культура.

Нам кажется очевидным, что к профессиональным компетенциям в деятельности будущего эколога-специалиста следует отнести:

- выбор тематики экологических исследований как базовой проблематики проекта;
- отбор и эффективное применение соответствующих методов и методологических подходов;
- генерирование творческих идей в контексте проекта;
- творческое применение ранее полученных знаний по смежным биологическим дисциплинам и соответствующим разделам физики, химии и математики;
- прогнозирование экологических ситуаций;
- социальная значимость исследуемых вопросов; экологическая этика;
- компьютерная презентация проекта.

При формировании учебной (научной) задачи возникает необходимость использования структурно-функциональных и математических моделей (например, каталитический цикл АТФ-синтазы, конформационные изменения в «F₁-моторе» этой молекулы, модельные системы на основе гидрогеназы, модели процессов самосборки структур и другие). Такие модели отражают теоретическую возможность в реализации прикладных задач.

Для примера можно представить научный (или студенческий) проект по экологии согласно перечню базовых компетенций. Если знания и в области экологии стали целью обучения, то в будущем решающим фактором станет понимание важности вопросов по экологии.

Учитывая, что поступление техногенных наноматериалов в окружающую среду будет увеличиваться, вопросы, связанные с поведением этих материалов в среде, их влияния на живые организмы и экосистемы требуют планомерных исследований. Например, углеродные наноструктуры, такие как фуллерены, углеродные нанотрубки, графеновые листы и их производные занимают важное место среди материалов вследствие их уникальных электронных, механических и химических свойств; имеют большой потенциал практического использования (оптические и электронные устройства, полимеры, композитные материалы, биосенсоры, устройства фокусирования пучков заряженных частиц и др.). К таким возможным вопросам, с точки зрения экологических исследований, следует отнести:

- вопрос о доступности этих материалов из окружающей среды для живых организмов;
- связь возможных токсических эффектов углеродных наноматериалов с размерностями и/или физико-химическими свойствами;
- биоаккумуляция этих структур; какие из звеньев пищевой цепи в большей степени аккумулируются наночастицами;
- возможна ли трансформация этих частиц в процессе миграции в окружающей среде;
- какие возможные пути существования биodeградации углеродных наноструктурных образований.

1.8. Методические подходы в нано-био-материаловедении

Развитие нанопромышленности способствует введению в систему биологического образования новых методов визуализации структур, изучение их свойств и манипулирование отдельными составными элементами.

В реализации методических подходов в области наноконструирования с использованием биологических объектов предопределяющим является определение свойств структуры с целью возможного ее использования в определенных конструкциях. Для реализации исследований целесообразно подобрать соответствующую модель, в которой свойства биологической структуры обобщаются и упрощаются. Моделирование может дать выход на прогностическое описание ожидаемых функциональных характеристик биологической системы, используемой в наноконструировании. В частности, модель АТФ-синтазы способствовала пониманию синтеза и гидролиза АТФ в хлоропластах растений, митохондриях клеток животных, клетках бактерий. Это дало возможность интегрировать знания о функционировании компонентов этого фермента (F_1F_0 -системы). Модели электронного транспорта в изолированных комплексах фотосинтетической цепи и другие приблизили нас к пониманию фотосинтетических процессов, которые имеют значение в вопросах наноэнергетики (некоторые свойства этих моделей рассмотрены в работе). Затем следует визуализировать исследуемые структуры с помощью разных видов сканирующих зондовых микроскопов (атомно-силовая микроскопия; балистическая электронно-эмиссионная; электрохимическая сканирующая туннельная; микроскопия электростатических сил; сканирующая ближнепольная оптическая; сканирующая микроскопия ионной проводимости; сканирующая туннельная микроскопия; фотонная сканирующая туннельная микроскопия и др.; новые сканирующие зонды не только определяют топографию поверхности, но предоставляют информацию об особенностях биопроцессов на наномасштабном уровне, структуре биомолекул и пр.). Основой всех типов сканирующих зондовых микроскопов – взаимодействие зонда с исследуемым объектом.

дуемой поверхностью благодаря их электрическим, магнитным и механическим взаимодействиям, которая возникает благодаря действию системы пьезодвигателя. Как правило, производится линейное развертывание квадратного или прямоугольного участка поверхности. Положение оптической иглы в каждой точке описывается двумя координатами тогда как исследуемый сигнал коррелирует с положением зонда. Отсюда существуют два метода исследования сигнала:

- метод постоянного взаимодействия (фиксация через систему обратной связи);
- метод постоянной высоты (постоянное расстояние между зондом и поверхностью образца).

Инструментом визуализации наноструктур: зондовая сканирующая микроскопия (атомно-силовая, атомно-силовая интерференционная микроскопия) и гелиево-ионная микроскопия (новый нанотехнологический прибор, сочетающий в себе все удобства растровой микроскопии, и позволяющий получать характеристики просвечивающей микроскопии).

Современным методом визуализации интактных оптически непрозрачных препаратов с высоким разрешением получаемого изображения (субмикронная точность) – конфокальная микроскопия. Этот метод однофотонной флуоресцентной микроскопии, в каждый момент времени регистрируется изображение одной точки объекта, а полноценное изображение строится путем сканирования; сложением оптических слоев можно реконструировать трехмерные изображения⁷⁴.

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) является одной из наиболее развивающихся областей зондовой микроскопии в биологии. Этот метод имеет ряд преимуществ:

- простое нанесение образцов на подложку;
- этот вид микроскопии позволяет изучать образцы как на воздухе, так и в жидкости;
- получать трехмерное изображение в режиме реального времени с молекулярным и субмолекулярным разрешением;

⁷⁴ Кучмий А. А. Методы молекулярной визуализации *in vivo* / А. А. Кучмий, Г. А. Ефимов, С. А. Недоспасов // Биохимия. – 2012. – Т. 77. – Вып. 12. – С. 1603–1620.

-
- АСМ извлекает оригинальную информацию о топографии и свойствах биообъектов, количественно изучает взаимодействие друг с другом и с различными поверхностями, исследует динамику протекания процессов;
 - АСМ позволяет механически воздействовать на биоструктуры (например, передвигать отдельные молекулы, а также создавать «отверстия» в мембранах и монослоях).

В распространенном методе АСМ коническое острие на кантилере (ленте длиной в сотни мкм, шириной в десятки мкм и толщиной в несколько мкм) прикреплено к кремниевому корпусу миллиметровых размеров. В настоящее время используются так называемые вискерные зонды (нитевидные кристаллы). Вершину острейшего зонда модифицируют, покрывая ее молекулами (или функциональными группами), в том числе аминокислотными, тиоловыми группами и др. Модифицируя зонд биологическими молекулами, возникает возможность исследовать распределение биологических объектов на покрытых ими поверхностях. При этом могут быть исследованы межмолекулярные силы взаимодействий между лигандами и рецепторами, между антигенами и антителами, между любыми парами молекул. Высокая разрешающая способность зондов с углеродными нанотрубками на растровом электронном микроскопе и сканирующем атомно-силовом микроскопе позволяет изучать наноструктуры вплоть до атомного разрешения.

Заметна тенденция совмещения АСМ с другими методами, как оптическая или лазерная сканирующая конфокальная микроскопия. Так называемая микродиссекция (использование лазера) способствует выделению интересующего элемента (например, макромолекулы определенного вида) из имеющегося биологического материала без его загрязнения и повреждения. Эта же технология позволяет производить изъятие интересующего элемента и транспортировку его с помощью специального контейнера. Примерная тематика использования АСМ на спецпрактикуме изложена в методическом пособии ⁷⁵.

⁷⁵ Тернавский А. И. *Биологические структуры – реальный исходный материал для нанотехнологий* / А. И. Тернавский. – К., 2011. – 55 с.

Перспективными в изучении биологических наноструктур являются эксимерные лазеры (лазеры на галогенидах инертных газов), как мощные и эффективные источники когерентного излучения в УФ области спектра. Наиболее значимыми – лазеры KrF (фторид криптона, 248 нм), XeCl (хлорид ксенона, 308 нм), XeF (фторид ксенона, 352 нм). Свойства этих источников излучения: УФ часть спектра, высокая пиковая мощность, короткий импульс излучения.

[Известно, что атом инертного газа легко ионизируется потому, что энергия связи этого электрона с атомом мала. Атом галогена имеет большую энергию сродства с электроном. Поэтому, возбужденный электрон атома инертного газа при столкновении с атомом галогена легко переходит на их общую орбиту, вследствие чего образуется эксимерная молекула. В активную среду галогенных лазеров вводят буферные газы, которые способствуют ионизации активной среды].

Методические подходы к реализации экспериментов в области наноконструирования с использованием биологических объектов следующие:

- во-первых, определить свойство выбранного биологического объекта с целью возможного его использования в определенной конструкции (в работе приведены примеры);
- во-вторых, подобрать соответствующую модель для реализации исследования. Ценность любой модели в том, что в ней объект и его свойства обобщаются и упрощаются. Модель позволяет логически определить целесообразность эксперимента, эффективность выполняемой работы (модель – это отображение объекта в виде описания или образа, имеющего с ним определенное соответствие, т. е. модель – это сокращенный систематический перевод на другой язык);
- в-третьих, визуализировать исследуемые структуры (более доступным и эффективным является зондовая сканирующая микроскопия).

Оптическая силовая микроскопия, главным рабочим инструментом в ней является «оптическая ловушка» (так называемый «оптический пинцет»). Принцип действия такого устройства основан на изменениях конформации органических молекул под

действием кванта света (как правило, в области нижнего ультрафиолета). При взаимодействии с электромагнитным полем, создаваемым светом, в исследуемой частице возникает дипольный момент, благодаря чему под действием градиента поля частица затягивается в перетяжку лазерного пучка. Для стабильного «захвата» необходимо, чтобы градиент электромагнитного поля доминировал над давлением света, что достигается путем правильно сконфигурированной оптической схемы. «Оптический пинцет» позволяет прилагать к частицам силы до 100 пН, что делает его идеальным инструментом для механического воздействия на различные биологические объекты и их измерения или отклика. Используются голографические установки с множеством «оптических ловушек», образованных лазерами с непрерывным к фемтосекундным излучением (функция «фемтосекундных ловушек» – осуществлять процессы, инициируемые многофотонным поглощением, а «непрерывных» – манипулировать, т. е. удерживать, перемещать, ориентировать, растягивать и др). Техника манипулирования одиночными молекулами основана на двух ключевых технологиях:

- визуализация одиночных молекул в нативных (естественных) условиях (например, методом флуоресцентной оптической микроскопии);
- наноманипуляция (захват молекулы оптическим пинцетом; величины молекулярных сил исследуются методами микроскопии силового поля).

В работе⁷⁶ следует, что «оптическая ловушка» представляет собой бусинки из полистирола размером 1 мкм. При освещении сфокусированным лазерным излучением бусинка втягивается в фокус с силой, зависящей от интенсивности света. Такая «ловушка», присоединенная к концу молекулы, вытягивает и деформирует ее. Методика изучения конформационных изменений молекулы – на примере ДНК. Один конец сегмента двойной спирали (несколько микрон или несколько десятков

⁷⁶ Евдокимов Ю. М. *Нанотехнология на основе нуклеиновых кислот* / Ю. М. Евдокимов, М. А. Захаров, С. Г. Скуридин // *Вестник Российской АН.* – 2006. – Т. 76. – № 2. – С. 112-120.

тысяч пар оснований) прикрепляется к стенке камеры, а другой соединяется химической связью с полистирольной бусинкой (диаметр порядка мкм или менее). Прикрепление органической молекулы к твердым стенкам можно осуществить с помощью никельнитрилукусной кислоты.

«Оптический пинцет» используется для того, чтобы захватить бусинку и сместить ее, растягивая ДНК до размеров, не превышающих предельное значение сил оптического захвата или химической связи на двух концах молекулы ДНК. Таким образом, полистирольная бусинка служит рукояткой для «оптического пинцета», позволяющей держать и растягивать образец ДНК без какого-либо прямого физического или механического контакта.

В стационарном состоянии бусинка блуждает вблизи своего равновесного положения, слегка смещенного относительно оптической оси. Равновесное положение бусинки определяется балансом потенциалов, один из которых определяется градиентом оптических сил, а второй – упругой силой, возникающей при растяжении молекулы ДНК. Флуктуация (движение) положения бусинки происходит в результате воздействия броуновских сил как на бусинку, так и на молекулы ДНК, а также вследствие конформационных изменений молекулы ДНК. При этом, растяжение и сжатие, а также скручивание и раскручивание двойной спирали молекулы, проявляются в виде поступательного и вращательного движения бусинки. Поступательное движение может быть прослежено с помощью квадрантного фотодетектора или любого другого детектора, чувствительного к изменению положения. Что касается вращательного движения, то оно может быть исследовано при использовании бусинки, обладающей двулучепреломлением, в сочетании с поляризационно-чувствительной системой детектирования⁷⁷.

Сканирующая микроскопия, в частности, атомно-силовая (АСМ), активно используется для визуализации нанобиоструктур.

⁷⁷ Колесов А. В. Кантилевые зонды для сканирующей зондовой микроскопии / А. В. Колесов, И. В. Яминский // Нано- и микросистемная техника. – 2007. – № 11. – С. 5–11.

Примером таких работ – методика получения изображений ДНК с использованием АСМ высокого разрешения на твердой подложке с минимальными поверхностными силами. В качестве подложки для нанесения образцов используется высоко ориентированный гидrolитический графит (ВОПГ). С целью адсорбции молекул ДНК графит модифицируют с помощью вещества «GM» (фирма Нанотюнинг, Россия), представляющее собой водный раствор полимеров и имеющих гидрофильную и гидрофобную части. При нанесении модификатора «GM» на поверхность графита формируется пленка толщиной 0,5–0,7 нм за счет взаимодействия гидрофобных участков полимеров с поверхностью графита, тогда как гидрофильные участки ориентированы в сторону водного раствора. За счет аминогрупп поверхность имеет положительный заряд, что способствует адсорбции молекул ДНК. Для визуализации нуклеиновой кислоты может быть использован прибор Solver P-47 bio фирмы «НТ-МДТ» (Россия); стандартные кантилеверы NSC15 с радиусом кривизны зонда 10 нм; прибор – в резонансном режиме (tapping mode); скорость сканирования 0,5–19 Гц; амплитуда колебаний 2–4 нм. (Для визуализации локальной области генного материала используют витальный краситель Хехст 33342, который флуоресцирует только в присутствии действующих молекул ДНК).

Сканирующие зондовые системы используются не только для визуализации различных структур, но и для модификации поверхности образца (упорядочивая атомы или молекулы на ней). Для таких целей создана модульная нанотехнологическая платформа НаноФаб 100. Многофункциональный сканирующий микроскоп FemtoScan позволяет проводить исследования по биологии, медицине, химии, физике на нанометровом уровне. Использование лазер-сканирующего конфокального микроскопа позволяет изучать автофлуоресценцию (собственную флуоресценцию) так называемых одноклеточных биосенсоров (например, вегетативные микроспоры хвоща полевого *Egusetum arvense* L.). Лазерно-оптические методы используются и при решении вопросов нанобиофотоники, в частности задач взаимодействия биологически важных молекул с наночастицами.

Сканирующие методы получают преимущества при использовании синхротронного излучения (СИ), которые имеют большую

плотность излучения и непрерывный спектр, и представляет возможность воздействовать селективно на любой уровень электронной структуры вещества, валентных электронов и супрамолекулярных связей. Особенно необходимый этот метод исследования в длинноволновом ИК-излучении (этот диапазон ИК-спектрокопии находится в области слабых межмолекулярных связей, характерных для биологических структур). Использование СИ позволяет исследовать структурную динамику в процессе реализации биологической функции (уникальные характеристики СИ – яркость, широкий спектр излучения, когерентность, позволяют получать структурную информацию об объектах в широком диапазоне размеров от долей нм до нескольких см).

Микроскопия ближнего поля становится эффективной с использованием зонда на основе оптического волокна (к важным свойствам этого волокна относятся фоточувствительность, как возможность локально изменить под действием УФ-излучения показатель преломления). В работе И. С. Осадько⁷⁸ изложены преимущества микроскопа ближнего поля (МБП) в исследованиях нанообъектов. Высокая разрешающая способность МБП объясняется следующим: молекулы, расположенные вдали от иглы (на свободном кончике иглы наводится поляризация, колеблющаяся с частотой лазерного излучения), возбуждаются электрическим полем намного слабее, чем молекулы, расположенные вблизи иглы в так называемой ближней зоне, размер которой существенно меньше длины волны прошедшего через иглу света. Возбужденные молекулы флуоресцируют, их излучение детектируется фотоэлектрическим умножителем (вероятность возбуждения наибольшая у молекул в ближней зоне; флуоресценция молекул вне ближней зоны теряется в шумах фотоприемника). Перемещая иглу вдоль исследуемой поверхности, в каждый момент времени детектируются преимущественно флуоресценция молекул, которые находятся непосредственно под иглой, т. е. в ближней зоне. Сканируется поверхность образца

⁷⁸ Осадько И. С. Микроскоп ближнего поля как инструмент для исследования наночастиц / И. С. Осадько // Успехи физических наук. – 2010. – Т. 180. – № 1. – С. 83–87.

с разрешением, превышающим длину волны возбуждающего света (используется кварцевая игла с металлизированным покрытием, конец которой свободен от покрытия и по диаметру меньше длины волны излучения).

Итак, процессы, идущие в микроскопе такого типа, следующие: молекулы, находящиеся в ближней зоне (на расстоянии менее длины волны от острия зонда), возбуждаются намного сильнее, чем молекулы в дальней зоне. Поэтому фотоумножитель зафиксирует флуоресценцию молекул, находящихся в ближней зоне, хотя излучение из острия зонда накрывает и молекулы дальней зоны. Это и приводит к разрешению, которое может быть в десятки раз лучше, чем у обычных оптических микроскопов.

Флуоресцентная микроскопия полного внутреннего отражения (TIRF-метод) дает возможность изучать отдельные молекулы или мембранные процессы (луч возбуждения, направленный под углом полного внутреннего отражения, проникает на небольшую глубину изучаемой структуры).

Наличие большого количества синтетических флуоресцентных зондов и меток, флуоресцентное излучение является основой флуоресцентной спектроскопии (например, этидий бромистый, широко используемый в молекулярной биологии, при экспозиции в УФ-свете флуоресцирует оранжевым цветом (590 нм), интенсивность которого многократно усиливается (в 20–25 раз) при его связывании с ДНК и РНК, что позволяет обнаружить эти соединения в клетках и тканях).

Известно, что акридиновые красители относятся к спектральным сенсбилизаторам, специфической особенностью которых является способность их молекул образовывать люминесцентные ассоциаты. Обработка ДНК катионным красителем акридиновый оранжевый способствует изучению спектров флуоресценции в зеленой ($\lambda_{\max} = 548$ нм) и красной ($\lambda_{\max} = 617$ нм) областях спектра. Спектры флуоресценции и возбуждения флуоресценции регистрируются на спектрофлуориметрах. Стабилизацию ДНК-акридиновый оранжевый проводят путем внесения в полимерные пленки добавок глицерина. В таких полимерных пленках краситель присутствует в виде наноразмерных актив-

ных центров, а молекулы биополимера сохраняют нативную двуспиральную структуру (методика изложена в работе)⁷⁹.

Среди разных флуоресцентных подходов – метод резонансного перенесения энергии. При этом используют метки, присоединенные к конкретным химическим группам молекулы; одна из меток является донором, другая – акцептором энергии. При возбуждении флуоресценции донора перенос энергии фиксируется по изменению интенсивности флуоресценции донора и/или увеличению флуоресценции акцептора. Измеряется расстояние в нанометровом диапазоне и изменения в этих расстояниях при структурной перестройке (для разных донорно-акцепторных пар расстояние в пределах 2–5 нм).

Метод индукции флуоресценции хлорофилла связан с пониманием работы электронно-транспортной цепи фотосинтеза и тех звеньев ее, которые нарушаются в условиях стресса. Известно, что S_1 -синглетное состояние (возбужденная форма) молекулы играет роль исходного уровня в формировании разнообразных фотофизических и фотохимических процессах (перераспределение электронной плотности при переносе электрона в возбужденном состоянии, внутримолекулярный перенос протона, образование водородной связи). Сочетание методов индукции флуоресценции с флуоресцентной оптической спектроскопией, лазерной сканирующей микроскопией и др. позволяет углубленно изучать первичные акты фотосинтеза. Необходимым условием для осуществления визуализации одной молекулы хлорофилла – использование явления флуоресценции.

Микроскопия флуоресцирующих микрогочек в определенных сегментах ДНК с присоединенным флуорофором. Флуоресцентные характеристики могут служить методической основой для оценки состояния наноструктуры. Флуоресцентная технология SMD (single molecule detection) позволяет зафиксировать в растворе отдельные биомолекулы. В последнее время внедряется

⁷⁹ Лантух Ю. Д. Спектроскопические свойства биополимерных пленок ДНК-акридиновый оранжевый / Ю. Д. Лантух, С. Н. Пашикевич, С. Н. Метута и др. // *Оптика и спектроскопия*. – 2011. – Т. 110. – № 6. – С. 932–937.

флуоресцентная наноскопия, что позволяет вычислить координаты флуоресцирующих молекул с субпиксельной точностью до 2 нм.

Все более необходимыми становятся методы неразрушающего, многопараметрового, экспрессного, локального определения свойств структур. К значимым свойствам мембранных структур следует отнести и базовые оптические свойства – показатель преломления и показатель поглощения (коэффициент экстинкции). Эти свойства связаны с существенной зависимостью оптических параметров от толщины структуры, условий получения, внешней среды и воздействий.

Для изучения сложных надмолекулярных комплексов рекомендуется использовать метод тритиевой планиграфии (замещение атомов водорода в С-Н-связи в углеводородном фрагменте молекулы на тритий в поверхностном слое макромолекулы на глубине 0,3–0,5 нм; возникает возможность получения информации о поверхности, ориентации и локализации белков в составе комплексов). Метод тритиевой планиграфии основан распределением тритиевой метки по пептидам (метод использован при выяснении пространственной структуры вируса табачной мозаики, х-вируса картофеля, экспонирование рибосомальных белков)⁸⁰.

Полезными для нанотехнологий являются методические подходы получения гибридных наносистем, содержащих биологический и неорганический компоненты. В работе Г. Б. Хомутова предложен метод получения наноструктурированных органико-неорганических комплексов на основе полиаминов и ДНК, содержащих наночастицы металлов (Pd, Fb); создание композитного нанопленочного нанобиоматериала на основе биогенного полиамина и коллоидных наномагнитных частиц магнетита Fe₃O₄ (размер ~ 10 нм). Изложены методы получения планарных организованных систем на основе лентгмюровской пленки, содержащих встроенную в структуру этой пленки упорядоченные

⁸⁰ Богачева Е. Н. Тритиевая планиграфия как инструмент структурной организации нанобиокомплексов / Е. Н. Богачева, А. А. Долгов, А. Л. Чуличков, А. В. Шишков // *Химическая физика*. – 2012. – Т. 31. – № 8. – С. 45-49.

ансамбли цитохрома с, нанокластеров металлов и др. неорганических металлических наночастиц. Метод послойной чередующейся адсорбции противоположно заряженных компонентов из водного раствора на поверхность подложки, способствует получению гетероструктур, включающих синтетические полиэлектролиты и биологические компоненты (ДНК, белки и целые клетки)⁸¹.

Разработка молекулярных сенсоров на основе органических молекул является быстро развивающимся междисциплинарным научным направлением. Так, например, тетрапиррольные соединения перспективны для практических применений, поскольку они сочетают свойства молекулярного рецептора и люминофора. Это позволяет для анатомического оптического сигнала обеспечить пространственное разрешение, сравнимое с размерами молекул (вплоть до 1–2 нм).

Объединение биоматериалов (ДНК, РНК, белков, биомембран, которые сравнимы с размерами наночастиц, нанотрубок, квантовых точек) с металлическими или полупроводниковыми частицами, фуллеренами или углеродными нанотрубками порождает новый класс материалов для создания уникальных электронных или оптических систем. По утверждению В. Д. Лахно⁸², можно ожидать появление совершенно новых устройств – ДНК-транзисторов, электронных нанобиочипов.

Биологические структуры стали необходимой предпосылкой в области создания биоэлектронно-механических устройств. Создан хороший задел для разработки лабораторий на чипе с использованием полупроводниковых нанокристаллов и пористого кремния.

Биочип – одно из ярких направлений развития медико-технологической науки для целей генетических технологий, которые являются одним из приоритетных направлений разра-

⁸¹ Хомутов Г. Б. *Биомиметические наносистемы и новые композитные нанобиоматериалы* / Г. Б. Хомутов // *Биофизика*. – 2011. – Т. 56. – Вып. 5. – С. 881–898.

⁸² Лахно В. Д. *Математическая биология и биоинформатика* / В. Д. Лахно // *Вестник Российской АН*. – 2011. – Т. 81. – № 9. – С. 812–818.

ботки новых медицинских технологий. Существует два принципиально разных способов синтеза биочипов: постсинтетическая иммобилизация (универсальный путь получения узкоспециализированных чипов, обеспечивающих, например, достоверное выявление ограниченного числа нуклеотидных маркеров) и синтез непосредственно на поверхности носителя (получение биочипов высокой плотности, например, несущих до нескольких миллионов олигонуклеотидных зондов).

Микрочипы представляют собой матрицу из микроячеек, расположенных на поверхности носителя. В каждой микроячейке иммобилизованы специфические зонды, способные распознавать биологически активные молекулы. Такими зондами могут служить олигонуклеотиды, фрагменты ДНК, РНК, белки и др. Основным преимуществом метода микрочипов является возможность проведения мультипараметрического анализа образца при минимальном расходе анализируемого материала и реагентов. В качестве носителей для микрочипов, в основном, используют стеклянные пластины с модифицированной поверхностью для ковалентной иммобилизации зондов (твердая обложка может быть представлена и пластиковой или кремниевой пластинками, на которые секционно наносят от нескольких десятков и сотен до нескольких тысяч и даже миллионов ячеек с зондами). В основе принципа работы всех биочипов лежит принцип молекулярного распознавания, в результате которого в ячейках микрочипа образуются специфические биологические комплексы. Для детекции этих комплексов на носителе в исследуемые молекулы вводится метка (используются флуоресцентные метки, которые являются высоко чувствительными).

При выборе оптимальной подложки должны быть оценены такие параметры, как размер и морфология точек (спотов), эффективность связывания с молекулами-зондами, фоновый сигнал, порог чувствительности, воспроизводимость результатов.

Флуоресцентное маркирование (в частности, в технологии биологических микрочипов используется маркирование циановыми красителями) обеспечивает высокую чувствительность и точность инструментальной регистрации на флуоресцентном анализаторе биочипов, снабженном промышленными полупроводниковыми лазерными источниками света с длиной волны 635 нм

(20 мВт) и 655 нм (40 мВт), обеспечивающие регистрацию флуоресценции на 670 и 690 нм соответственно.

Исследование кинетики люминесценции является одним из основных методов изучения свойств в возбужденных состояниях и позволяет получить информацию о путях и эффективности внутримолекулярных преобразованиях, энергии фотовозбуждения, межмолекулярных процессах переноса энергии и заряда, о структурных перестройках и других реакциях с учетом возбужденных электронных состояний. Для изучения кинетики люминесценции рекомендуют использовать лазерный флуорометр.

Рассмотрим технологию биочипов на примере ДНК-биочип. Метод ДНК-чипов (array based analysis) применяется для массового сканирования распространенных мутаций, представляющих собой однонуклеотидные замены (SNP). В обычном варианте чип – это твердая поверхность (стекло) маленьких размеров с нанесенными и зафиксированными на ней последовательностями ДНК, различными по своему составу (на 1 см² поверхности можно разместить до 10000 таких последовательностей).

Разработано три типа ДНК-чипов, которые отличаются друг от друга материалом, на котором фиксируют последовательности ДНК (стекло, агарозный гель), и способами фиксации (химический, под действием электрического тока).

В основу метода ДНК-чипов положен принцип гибридизации (реакция связывания). На подложке (стеклянной или кремниевой со слайд для микроскопии) зафиксированы, каждый в своей ячейке, тысячи фрагментов одиночной нити спирали ДНК, которые называют пробами (каждая ячейка в поперечном разрезе составляет десятки микрон). Место нахождения и последовательность нуклеотидов в каждой пробе известна заранее. Именно создание проб с известной последовательностью нуклеотидов в заданной ячейке является исходной технологической целью. Когда раствор из помеченных фрагментов одиночной спиральной нити ДНК омывают микроматрицу с фиксированными на подложке другими фрагментами ДНК (пробами), то они гибридизируются в случае, если основания нитей комплементарны (для возможности детектирования реакции гибридизации к одиночной нити дополнительно присоединяют флуоресцентные молекулы – флуоресцентные метки) и светящиеся

метки регистрируют фотодетектором. Известно, что нити ДНК настолько тонкие, что использование лучшей оптики не дает возможность их увидеть. Если к цепочке ДНК «прицепить» квантовые точки, то при облучении образца УФ-светом нить молекулы начинает светиться и микроскопически можно исследовать молекулу ДНК (квантовые точки обладают флуоресценцией). Главное достоинство биочипов – возможность выполнять параллельно тысячи индивидуальных тестов.

Метод флуоресцентной оптической спектроскопии требует введения флуорофора в анализируемый образец, что усложняет эксперимент и удорожает получаемую информацию. К методам детектирования комплексов, не требующих предварительной модификации анализируемого образца, относятся так называемые *label-free* (без использования флуоресцентных меток) подходы. К этим методам относят оптическую эллипсометрию, которая детально изложена в работе коллектива авторов⁸³. Преимущества эллипсометрии состояли в том, что в биочипе фиксировались все молекулы и фрагменты, иммобилизованные на поверхности, а эффективная толщина слоя при этом пропорциональна общему количеству иммобилизованных молекул (анализ гибридных взаимодействий нуклеиновых кислот и белок – белковых взаимодействий, происходящих на поверхности биочипов).

[Эллипсометры – приборы прецизионного неразрушающего контроля параметров тонких пленок и слоев (быстродействующий лазерный эллипсометр, спектральные эллипсометры и др.)].

Электронная структура нуклеотидных пар (в частности, аденин-тимин, аденин-урацил) изучается по спектрам комбинационного рассеяния, возбуждаемые лазерным излучением (длина волн 266, 240, 218 и 200 нм).

Одним из важных условий изучения наносистем (в том числе и биосистем) является их визуализация. Мощным инструментом

⁸³ Власов В. В. *Эллипсометрический мониторинг в микроциповых label-free биотехнологиях* / В. В. Власов, А. Н. Сняжков, Д. В. Пышный и др. // *Автоматрия*. – 2011. – Т. 47. – № 5. – С. 67–77.

визуализации – яркие квантовые точки. Эти наноструктуры практически универсальны; их можно использовать в биотехнологии, компьютерной технике, микроэлектронике. Примером таких квантовых точек являются CdSe/ZnS – нанокристаллы, которые представляют собой неорганические частицы, содержащие центральное ядро из CdSe и определяющие параметры флуоресценции, и оболочку из ZnS, обеспечивающую высокий выход флуоресценции. Широкий спектр диаметров нанокристаллов (2–8 нм дает возможность получать флуоресценцию в диапазоне длины волн от зеленой (510 нм) до красной (680 нм)). Уникальным свойством КТ является возможность регулирования спектральной области флуоресценции путем размера и химического состава КТ (возможность химического модифицирования их поверхности способствует получению наночастиц, способных связываться с различными биомолекулами). Квантовые точки (КТ) – это наночастицы полупроводников (например, селенид кадмия), ведущее себя как отдельные атомы. В литературе рассматривается перенос единичных электронов между КТ с помощью поверхностных звуковых волн, при условии, что КТ «настроены» на одноэлектронный режим. Между этими КТ расположен узкий канал, в котором и возбуждаются поверхностные звуковые волны. Эти волны захватывают электрон с одной КТ и переносят его на другую КТ. Они могут поглощать световые волны, перемещая электроны на более высокий энергетический уровень, и выделять свет при переходе электронов на низкоэнергетический уровень. Благодаря этому свойству их и используют в качестве флуоресцентных меток.

Технология следующая: квантовые точки обрабатывают, нанося на них специальное кремневое покрытие (кремний, как инертный материал, легко наносится на поверхность квантовой точки; предполагают, что кремниевая оболочка защищает флуоресцентные метки от контакта со средой), и добавляют специфические метки, которые позволяют им придавать различные свойства. Так, например, можно сделать квантовые точки флуоресцентными и использовать их для исследования живых тканей с помощью оптической микроскопии (квантовые точки, как наночастицы, состоят из ядра диаметром 2,2 нм, помещенные в кремневую оболочку, содержащую молекулы флуоресцентной краски;

диаметр всей структуры 25 нм; архитектура названа «ядро – оболочка»). Для повышения эффективности флуоресценции обычно применяют КТ – структуры ядро/оболочка, в которых флуоресцирующее полупроводниковое ядро (например, из CdSe) покрывают оболочкой из другого полупроводника с более широкой запрещенной зоной (например, CdS или ZnS). Введение оболочки значительно улучшает флуоресцентные свойства КТ и их химическую устойчивость. Наиболее часто используемые нанокристаллы из CdSe-ядра, покрытого ZnS-оболочкой, что определяется их высокой яркостью и высокими фото- и химической стабильностью.

Люминесцентные КТ можно соединять с биомолекулами; при этом обнаруживается высокоэнергетическое смещение максимума полосы люминесценции (на примере CdSe/ZnS). Эти смещения связывают с появлением механических напряжений, возникающих под влиянием биомолекул.

С помощью квантовых точек создаются наночипы. Они позволяют размещать миллионы точек на той же площади, которую занимала единственная точка в микрочипе. Ожидается, что уже в ближайшие годы будет сконструирован наночип, на который будет нанесен весь геном человека. Это позволит выявить любые мутации, определять активность множества генов, содержание определенных белков и метаболитов в одном единственном анализе.

Итак, основные направления исследований в области наноматериалов сопряжены с разработкой методов анализа. Ю. Д. Третьяков, Е. А. Гудилин⁸⁴ излагают современный подход в развитии методик, которые включают следующее:

- развитие методов диагностики наноматериалов;
- развитие современных методов с использованием синхротронного излучения;
- изучение взаимодействия наноматериалов с биомолекулами и клеточными структурами, влияние на активность ферментов, перекисидное окисление липидов;

⁸⁴ Третьяков Ю. Д. Основные направления фундаментальных и ориентированных исследований в области наноматериалов / Ю. Д. Третьяков, Е. А. Гудилин // *Успехи химии*. – 2009. – Т. 78. – Вып. 9. – С. 867–887.

-
- изучение биодеструкции наноматериалов в различных средах. Инструменты нанотехнологий, которые могут быть использованы в спецпрактикуме:
 - нанопинцет, служащий для «захвата», удержания и перемещения отдельной молекулы (сделан с углеродных нанотрубок);
 - оптический пинцет, осуществляющий аналогичные операции при помощи лазерного луча;
 - двухканальный лазерный пинцет для измерения сил взаимодействия между отдельными структурами в клетке;
 - прочный и острый ножичек для вскрытия единичных клеток под микроскопом (одностенная углеродная нанотрубка, натянутая между двумя вольфрамовыми иглами);
 - наносприц, способный дозировать вводить жидкие пробы через клеточные мембраны, не повреждая ее (заполненная углеродная нанотрубка диаметром 200 нм магнитной жидкостью, содержащей 10 нм частицы оксида железа, затем с помощью магнитного поля нанотрубку введено в канал стеклянного капилляра и герметизировано стык оптически);
 - нанопипетка, которая предназначена для контроля доставки макромолекул в систему;
 - «молекулярное сито» – мезопористый диоксид кремния для получения однородных по размеру наноструктур и большого числа функциональных композитных материалов.

Для практических занятий целесообразно использовать методы детектирования одиночных молекул с применением оптических и магнитных ловушек. При изучении биологических наноструктур, как известно, не существует одного единственного метода. Методические разработки излагаются в журналах Академии наук, в частности, «Биофизика», «Биохимия», «Оптика и спектроскопия», «Молекулярная биология», «Успехи современной биологии». Примером таких работ – методика получения изображений ДНК с использованием АСМ высокого разрешения⁸⁵.

⁸⁵ Клинов Д. В. Атомно-силовая микроскопия ДНК с высоким разрешением / Д. В. Клинов и др. // Биохимия. – 2009. – Т. 74. – Вып. 10. – С. 1410–1415.

В обзоре И. Н. Сердюка⁸⁶ представлены физико-химические методы, которые используются в настоящее время для изучения структурно-функциональных основ жизненных процессов. Все физические методы – комплементарны, однако каждый метод дает свое видение системы в пространстве и во времени. По мнению автора, в экспериментах доминирующими будут синхротронные источники и двумерная инфракрасная спектроскопия. При длине волны 180 нм поток синхротронного источника на четыре порядка больше оптического источника. Это – уникальный источник получения данных в области 140–190 нм, в области, в которой содержится информация о строении биомолекул. Особенность двумерной инфракрасной спектроскопии в том, что в этом методе сочетается высокая чувствительность к структуре молекулы с высоким временным разрешением. Более того, импульсные инфракрасные методы позволяют исследовать колебания в молекулах с разрешением до фемптосекунд. Использование физических методов и методических подходов в спецпрактикуме способствует подготовке специалистов и в области нанотехнологий.

⁸⁶ Сердюк И. Н. Физические методы и молекулярная биология / И. Н. Сердюк // Биофизика. – 2009. – Т. 54. – Вып. 2. – С. 343–381.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время лучшие образцы нанотехнологий уступают образцам, созданными **Природой**. Например, эффективность преобразования энергии в процессах фотосинтетических реакций растений значительно выше, чем в процессах, изобретаемых в технологиях; биологические сенсоры живых существ (органы обоняния некоторых животных) по чувствительности во много раз превосходят датчики, созданные в лабораториях. Природный материал паутина (паука крестовика) обладает прочностью с эластичностью (прочность на разрыв в пять раз выше, чем у стали; стальная проволока того же диаметра. При этом по эластичности – близка к резине; может растягиваться почти на треть от первоначальной длины) и многое др.

К сожалению, большинство природных соединений не обладают устойчивостью к факторам среды и разрушаются. В связи с этим использование аналогов биологических систем для создания упорядоченности наноструктур еще не нашло широкого применения.

Существует концепция нанобиоинформационной системы, которую условно можно разделить на три составные части:

- информационная составляющая биосистемы основывается на флуоресценции нанокристаллов (проникая внутрь детектируемой клетки, нанокристаллы окрашивают, заставляя светиться при облучении возбуждающим светом);
- биологическая составляющая наносистемы заключается в специфическом «узнавании» определенного вида клеток в анализируемом материале;
- нанополупроводниковая составляющая представляет собой кристаллы (например, кристаллы селенида кадмия, покрытых эпитаксиальной пленкой сернистого цинка; кристаллическая структура фиксируется стабилизирующей пленкой).

Итак, в наше время наступил период «современных междисциплинарных исследований» по приоритетным направлениям науки, включающие получение новых классов функциональных материалов, в том числе и биоматериалов.

В перечень научно-технических проектов в области наноиндустрии включены также: наноконпозиционные биоорганические материалы для медицины и биотехнологии; биомедицинские нанотехнологии (биочипы и биокластеры; сверхлокальная наноизбирательная диагностика, генная инженерия и др.).

В настоящее время происходит процесс конвергенции наук в рамках концепции NBIC: N(nano) – нанонаука и нанотехнология; B(bio) – биотехнология и биомедицина (включая генную инженерию); I(info) – информационные технологии (включая новейшие вычислительные и коммуникационные системы) и C(cogno) – когнитивистика, объединяющая науку о познании и включая теорию нейронных сетей мозга.

Сочетание возможностей наук и технологий – важнейший инструмент познания окружающего нас мира, метод проектирования новых устройств. Во многих случаях биологические методы и подходы используются для создания новых материалов, для разработки новых вычислительных методик.

Инженерный подход с использованием биологических наноструктурных образований способствует развитию новых направлений в нанотехнологиях. Получение функциональных наносистем и наноматериалов основано на принципах самосборки и самоорганизации. Как неоднократно отмечалось, эти процессы формируют высокоорганизованные молекулярные, сложные, супрамолекулярные и бионеорганические структуры (в том числе и структуры нанометровых размеров), отличающиеся совершенством в строении и исключительно высокой функциональной активностью. Поэтому, одним из основных подходов к созданию гибридных наносистем – повторение природных шаблонов и использование компонентов подобных природным соединениям. Следует отметить, что в ближайшие годы более 60 % мирового рынка нанотехнологий будут составлять наноэлектроника и непосредственно сами наноматериалы. К новым направлениям относятся биочиповая технология, наносенсорные устройства, биомиметические системы, создание оптических устройств, биомолекулярная электроника и др.

Биочиповая технология – современная нанотехнология анализа генетического материала, позволяющая проводить скрининг сложных смесей НК. С помощью биочипа можно наблю-

дать за структурой и функционированием всех генов в живом организме.

Наносенсорные устройства используют принцип связывания детектируемых молекул со специфическими молекулами — зондами, иммобилизованными на пористом носителе. К таким носителям относятся макропористый кремний, который, помимо легко осуществляемой функционализации внутренней поверхности, позволяет применить перспективный электрофизический метод регистрации. Создание нанокompозитных систем, к которым, в качестве полимерной составляющей используется ДНК, обусловлено возможностью их использования в различных типах биосенсоров, специфичных к некоторым видам биоактивных молекул. Для ковалентного закрепления молекул ДНК на поверхности могут быть использованы медиаторы. Так, для иммобилизации ДНК на поверхности УНТ используют тионин, при этом молекулы ДНК сохраняют свою вторичную конформационную структуру. На основе ДНК синтезированы нанокompозитные материалы с использованием кремнезема (к наноструктурным сенсорам относят и наноконсоли, и нано-консольные матрицы).

Биомиметическая система — превращение солнечной энергии с участием порфиринового центра между донором и акцептором электронов. Такой абсорбирующий свет — центр способен быть использован для синтеза АТФ и кофермента НАДФН⁺.

Создание оптических устройств связано с использованием оргструктур и неорганических матриц. Например, поверхностный слой кератина и кератинового компонента, который соединяет меланиновые слои в покровах некоторых птиц, служит участками для формирования наночастиц; матрицей при этом служит ZnO и фотолюминесценция наночастицами, размещенных в матрице в определенной последовательности.

Биомолекулярная электроника (условное название) связана с возможностью замены планарной технологии производства интегральных микросхем на технологию, подобную биосинтезу белков, использующую приемы матричного копирования, матричного кодирования и самосборки отдельных молекулярных белков в протяженное 1Д-, 2Д- или 3Д-структуры (биотехно-

логии ориентируют исследователей на развивающую базу нанoeлектроники).

Молекулярные наномоторы могут быть перспективными при создании систем силового привода. Известно, что «молекулярные моторы» выполняют транспортную функцию в клетке, создают условия движения и деления клетки. К цитоплазматическим «моторам» относятся миозины, кинезины и др. Кроме этих поступательных устройств в жизненных системах, существуют «роторные механизмы» (наиболее известная система – АТФаза).

Далеко не полный перечень направлений свидетельствует о перспективах использования природных соединений в теоретических исследованиях и практических внедрениях. Интерес нанотехнологов, в первую очередь, связан с возможностью получения веществ с физико-химическими свойствами, которые отличаются от свойств исходных макромолекулярных соединений.

В проектах и программах биологические структуры (как самоподдерживающиеся и воспроизводящие) рассматриваются как образцы экономичности, рациональности, безотходной техносферы. Ведь Природа за многие миллионы лет эволюции живого научилась строить наноконструкции и собирать из них большие самоподдерживающиеся и самовоспроизводящие системы, которые могут быть использованы создателями искусственной техносферы.

Убедительный пример – комбинация в Природе соединений органического (белки) и минерального происхождения (гидратированный оксид кремния) как перспективный для оптоэлектроники композитный наноматериал, сочетающий эластичность и прочность белка с упругостью и прочностью кремнезема. Такими свойствами обладают базальные спикулы стеклянной губки *Hyalonema sieboldi*. Скелеты таких морских организмов сформировались на основе кремнезема. Базальные спикулы состоят из большого числа аксиальных кристаллических слоев, каждый слой формируется из наночастиц SiO_2 в форме глобул размером ~ 50–120 нм разделенные между собой слоями белковой компоненты толщиной ~ 20–30 нм. Спикулы достаточно хорошо пропускают свет при $\lambda \sim 500\text{--}900$ нм (в этом диапазоне потери проходящего излучения оказываются приемлемыми и при $\lambda = 633$ нм, что составляет $\alpha \sim 0,1$ дБ/м для спикул с $d = 140$ мкм). Нелинейный характер зависимости спектра флуоресценции

и существенное снижение хроматической дисперсии при распространении сверхкоротких импульсов делает спикулы морских губок перспективным материалом для создания некоторых оптоэлектронных приборов, функциональных элементов фотоники (таких как волоконных усилителей, лазеров). Спикулы стеклянных губок являются новым типом самоорганизующихся природных фотонных кристаллов и перспективным объектом фотоники (человек сейчас пытается создавать и использовать фотонные кристаллы, а Природа создала волокна из двуокиси кремния задолго до появления человека)⁸⁷⁻⁸⁸.

К вышеизложенному следует отметить, что наличие периодических аксиальных цилиндрических слоев из двуокиси кремния в базальных спикулах приводит к образованию в них запрещенных фотонных энергетических зон, в результате чего спикулы глубоководных стеклянных морских губок представляют собой новый вид природных фотонных кристаллов. Недавно открытые белки силикатеины из этих губок перспективны с точки зрения использования в нанобиотехнологии благодаря их способности к полимеризации мономеров диоксида кремния. Силикатеины выполняют двойную функцию – энзиматическую и структурообразующую, что дает возможность получать упорядоченные нановолокна силикатов *in vitro*. Эти белки катализируют не только синтез силикатов, но и других материалов на основе оксидов некоторых металлов. Как утверждают авторы, с помощью силикатеинов можно получать нанотрубки, нановолокна или нанопленки как на основе кремнезема, так и других соединений, что делает возможным использования силикатеинов в технологиях энзиматического образования неорганических материалов для применения в полупроводниковых и оптоэлектронных устройствах.

⁸⁷ Кульчин Ю. Н. Спикулы стеклянных губок как новый тип самоорганизующихся природных фотонных кристаллов / Ю. Н. Кульчин, С. С. Вознесенский, О. А. Букин и др. // *Оптика и спектроскопия*. – 2009. – Т. 107. – № 3. – С. 468–473.

⁸⁸ Кульчин Ю. Н. Фотоника самоорганизующихся биоминеральных наноструктур / Ю. Н. Кульчин // *Успехи физических наук*. – 2011. – Т. 181. – № 7. – С. 891–896.

Итак, спикулы стеклянных губок перспективны в исследованиях, поскольку только они формируют длинные высокоупорядоченные структуры полимерного кремния.

Этот пример свидетельствует о возможной реализации нового направления – биотехнологической инженерии поверхности, которая является экологически чистой и малозатратной технологией. В работе коллектива авторов экспериментально подтверждена возможность биоинженерного формирования микро- и наноструктуры поверхности стекла с помощью механизма биосинтеза кремнистых наноструктур диатомовыми водорослями. Материал створок этих водорослей близок к плавленому кварцу. Диатомеи имеют скелеты, состоящие из наночастиц диоксида кремния с размерами 20–400 нм, которые самосформируются в процессе биосиликации. В осаждении кремния участвуют силаффины – пептиды, катализирующие поликонденсацию кремниевой кислоты. Белки диатомовых водорослей способны вызывать образование ядер кристаллизации неорганических соединений (этот процесс четко организован в пространстве и во времени)^{89–90}.

Примером гениальной биоинженерии для наноконструкторов является растительная фотосинтетическая единица, функционирующая в животном организме. Брюхоногий моллюск (морской слизень *Elysia chlorotica*, миллиметрового размера) при переваривании желто-зеленых эукариотических водорослей (*Vaucheria litorea*), «собирает» их хлоропласты и «переносит» их в специально образуемый фотосинтетический орган наподобие зеленого листа (размером в несколько см). За счет функционирования хлоропластов моллюск способен жить исключительно с помощью световой энергии (до 10 мес. своей жизни)⁹¹.

⁸⁹ Кульчин Ю. Н. Фотоника самоорганизующихся наноструктурированных биоминеральных объектов океанического происхождения и их аналогов / Ю. Н. Кульчин, В. А. Авраменко, В. П. Булгаков // Вестник Российской АН. – 2013. – Т. 83. – № 2. – С. 99–111.

⁹⁰ Саркисов П. Д. Инженерная биотехнология поверхности стекла / П. Д. Саркисов, Е. Г. Винокуров, Н. Б. Градова и др. // Теоретические основы химической технологии. – 2013. – Т. 47. – № 1. – С. 1822.

⁹¹ Скулачев В. П. Обнаружено фотосинтезирующее животное, способное месяцами жить за счет энергии света / В. П. Скулачев // Биохимия. – 2010. – Т. 75. – Вып. 12. – С. 1729–1731.

Следует еще раз подчеркнуть, что процессы самосборки и самовосстановления биологических структур, их химическая организация и свойства, кванторазмерные факторы, которые приводят к возникновению оптических, электро- и магнитных свойств, являются предопределяющими при использовании в наноконструировании.

Подходы, основанные на процессах самосборки и самоорганизации, – одни из наиболее эффективных для создания упорядоченных (наноконструктивных) систем. К теоретическим и практическим задачам выделены следующие:

- механизмы нековалентных взаимодействий и самоорганизации молекул в супрамолекулярных системах;
- иерархия и взаимосвязь нано-, мезо-, микро- и макроуровней структуры в наноматериалах;
- физикохимия взаимодействий металлических, магнитных и полупроводниковых наночастиц с компонентами биоактивных жидкостей и клеточными мембранами;
- формирование супрамолекулярных материалов, предназначенных для создания химических и биологических сенсоров и активных элементов микро- и оптоэлектроники.

Необходимо указать и на то, что в белковой молекуле существуют «спрятанные» пептидные участки аминокислотной последовательности («криптиды» или «криптеины»), которые обладают собственной биологической активностью (чаще всего никак не связанной с активностью исходного белка). Этот резерв биологического материала ещё не используется наноконструкторами.

Есть все основания полагать, что молекулярная биология определяет лицо нанотехнологического развития XXI века. Нанотехнологии должны способствовать объединению биологических и технических наук. Основой теоретического обеспечения нанопроектирования является, прежде всего, знание об энергии межмолекулярных взаимодействий, о выборе исходных элементов для наносборки и целенаправленности этой сборки.

Биологические науки открыли новые перспективы в наноконструировании и нанотехнологиях поскольку за миллионы лет эволюции биологические структуры (как молекулярно-биологические устройства) достигли совершенства. Еще раз необхо-

димо подчеркнуть, что такими совершенными системами являются фотосинтез (производство, передача и трансформация энергии), биосинтез белка, процессы регуляции экспрессии генома и другое. Существование механизмов компактизации (на примере ДНК) дает возможность использовать их в современных нанотехнических устройствах. Несмотря на некоторые потенциальные риски для экологии, наноконструкции на основе биологических структур могут быть ключевыми в технических решениях. Биомолекулярная инженерия – это природонаучный базис наноиндустрии, а биологическая структура – реальный исходный материал для нанотехнологий. Молекулярные единицы (аминокислоты), белки (коллаген, кератин и др.), полисахариды (хитозан и др.) и минералы, связанные с органической матрицей в биоминеральные композитные структуры, являются предметом междисциплинарных исследований, объединенных направлением материаловедения, называемым биомиметика. Следует учитывать то, что биологические структуры могут служить исходным материалом для наноустройств и нанотехнологий, которые являются процессом рационального использования природных и человеческих ресурсов с сохранением окружающей среды.

Нанонаука обещает стать генератором новых технологических приемов. Развитие нанотехнологий связано с научными вопросами в физике и химии конденсированных состояний, материаловедения, техники и биологии, так как молекулярные составляющие биологических систем являются примерами природных материалов, структура и свойства которых определяется в наномасштабах. Для практической реализации процессного подхода мне представляется важным согласованность общего подхода к образовательному процессу по вопросам, связанных с кванто-размерными эффектами, активностью функциональных групп в структурах, при выборе и использованию логических и математических моделей и прочее. Лишь междисциплинарные образовательные программы способны обеспечить полноценную подготовку по нанонауке и нанотехнологии.

На мой взгляд, биологическое образование должно быть базовой составляющей в подготовке специалистов в области нанотехнологии.

2. СЕМИНАРСКИЕ ЗАНЯТИЯ. ТЕСТКОНТРОЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ (Примерная тематика)

2.1. Рассмотрение исследований по теме «Конструирование нанообъектов на основе ДНК».

Евдокимов Ю. М. Принципы создания наноконструкций с использованием нуклеиновых кислот в качестве строительных блоков / Ю. М. Евдокимов, В. В. Сычев // Успехи химии. – 2008. – Т. 77. – Вып. 2. – С. 194–206.

Виноградова О. А. Принципы ДНК-архитектоники – конструирование нанообъектов на основе ДНК/ О. А. Виноградова, Д. В. Пышный // Успехи химии. – 2012. – Т. 81. – № 2. – С. 130–157.

Астахова Т. Ю. Перенос энергии и заряда в биологических системах на большие расстояния / Т. Ю. Астахова, В. Н. Михачев, Г. А. Виноградов // Химическая физика. – 2012. – Т. 31. – № 2. – С. 45–55.

Задание. Для получения нанокompозитной молекулярной системы необходимо использовать матрицы (основная цель настоящих исследований – создание матриц, как правило, в виде полимерных систем).

Известно, что матричный принцип рассматривается как парадигма генетики; матричные процессы включают такие этапы, как инициация, элонгация (копирование), терминация; для каждого из этих процессов характерна поливариантность и неоднозначность, способность к коррекции (репарации).

На Ваш взгляд, как эти матричные процессы согласуются с практическими подходами при конструировании объектов в наноразмерном диапазоне?

2.2. Биосенсорная технология – основа развития нанобиотехнологий.

Смит К. Ю. М. Биология сенсорных систем / К. Ю. М. Смит: пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2005. – 583 с.

Решетилов А. Н. Нанобиотехнология и биосенсорные исследования / А. Н. Решетилов, А. М. Безбородов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2008. – Т. 44. – № 1. – С. 3–8.

Олейников В. А. Полупроводниковые флуоресцентные нанокристаллы (квантовые точки) в белковых биочипах / В. А. Олейников // Биоорганическая химия. – 2011. – Т. 37. – № 2. – С. 171–189.

Слюсарева Е. А. Лазерный фотолиз флуороновых красителей в хитозановой матрице / Е. А. Слюсарева, А. Г. Сизых, М. А. Герасимова и др. // Квантовая электроника. – 2012. – Т. 42. – № 8. – С. 687–692.

Задание. Представить в виде краткого изложения материал на тему «Сенсорные белки».

Любой биосенсор состоит из двух принципиально важных функциональных элементов: биоселективной мембраны, использующей различные биоструктуры (ферменты, НК, рецепторы), и физического преобразователя сигнала (трансдюсера), трансформирующего концентрационный сигнал в электрический. Для считывания и записи информации используют электронные системы усиления и регистрации сигнала. Наибольшее развитие получили биосенсоры на основе ферментов.

Приведите три механизма переноса электронов биосенсора с участием ферментов.

Каков из этих механизмов Вы считаете доминирующим при конструировании гибридных наноструктур в области сенсорных систем?

Задание. Создание искусственных сигнальных систем на опыте функционирования живых систем, требует знания формирования сигнальных путей. Так, в иммунной системе функционируют белки (или отдельные фрагменты белков), которые определяют активацию сигнального пути.

В работе коллектива авторов излагаются функции белков-индукторов, белков-ингибиторов и рецепторные взаимодействия в клеточных сигнальных путях.

Кратко опишите выполняемые функции отдельных фрагментов белков-индукторов этих путей иммунной системы на примере NOD (Nucleotide and oligomerization domain – домен белков, связывающий нуклеотид и олигомеризующий белок).

Используя электронный ресурс Swiss PDB Viewer (<http://www.expasy.ch/spdbv/>) вычислите характеристики этих ферментативных белков (электростатический потенциал, площадь поверхности, участвующая в рецепции и др.).

Мецержакова Е. А. Сигнальные клеточные пути и белковые взаимодействия, индуцированные мурамоилпептидами (обзорная статья) / Е. А. Мецержакова, Т. М. Андропова, В. Т. Иванов // Биоорганическая химия. – 2010. – Т. 36. – № 5. – С. 581–595.

Задание. При разработке фундаментальных основ создания наноструктур с большим сенсорным сигналом, следует учитывать такие характеристики, как высокая воспроизводительность сигнала и хорошая операционная стабильность. При конструировании сенсорных устройств возникает необходимость вовлечения всех составляющих в единый процесс. Примером может служить система сигнальной сети клетки со многими биомолекулами, которые выполняют свои сигнальные функции. Так, в частности, в качестве сигнальных молекул, вовлеченных в передачу внутриклеточных сигналов, интермедиаторами

выступают активные формы кислорода (АФК; эти формы O₂ частично рассмотрены в вопросах экологии).

Каково взаимодействие АФК с другими сигнальными системами?

На Ваш взгляд, возможен ли такой подход в конструировании наносенсоров по образцу вышеуказанной функционирующей системы?

Креславский В. Д. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений / В. Д. Креславский, Д. А. Лось, С. И. Аллахвердиев, Вл. В. Кузнецов // Физиология растений. – 2012. – Т. 59. – № 2. – С. 163–178.

Дмитриев А. П. Сигнальные молекулы растений для активации защитных реакций в ответ на биотический стресс / А. П. Дмитриев // Физиология растений. – 2003. – Т. 50. – С. 465–474.

2.3. Основные подходы к разработке биомиметических технологий.

Хомутов Г. Б. Биомиметические наносистемы и новые композитные нанобиоматериалы / Г. Б. Хомутов // Биофизика. – 2011. – Т. 56. – Вып. 5. – С. 881–898.

Ефимов В. А. ДНК – миметики на основе пирролидина и гидроксипролина / В. А. Ефимов, А. В. Аралов, О. Г. Чахмахчева // Биоорганическая химия. – 2010. – Т. 36. – № 6. – С. 725–746.

Гудашева Т. А. Дизайн и синтез дипептидных миметиков мозгового нейротрофического фактора / Т. А. Гудашева, А. В. Тарасюк, С. В. Помогайбо и др. // Биоорганическая химия. – 2012. – Т. 38. – № 3. – С. 280–290.

Бурлака О. М. «Зеленый» синтез наночастинок металлов: потенциал биологических систем та перспективи його використання / О. М. Бурлака, Я. В. Пірко, А. І. Ємець, Я. Б. Блюм // Наноструктурное материаловедение. – 2012. – № 4. – С. 89–103.

Задание. Становится очевидным, что важнейшим направлением современных исследований в области нанотехнологий, является модификация природных соединений, синтез новых структур с целью их использования в качестве перспективного материала для применения в оптоэлектронике, для создания высокоскоростных вычислительных машин и прочее. Создание новых функциональных нанобиоматериалов таких как пептидо-нуклеиновые кислоты, антисмысловые олигонуклеотиды, рибозимы, дезоксирибозимы, малые интерферирующие РНК при попадании в окружающую среду могут существенно влиять на механизмы (системы) управления жизненными процессами.

На примере вновь синтезируемого вещества раскройте возможные негативные последствия (выбор вещества – на Ваше усмотрение; аргументация Ваших взглядов – с позиций молекулярной биологии).

2.4. Рассмотрение обзоров актуальных проблем, касающихся нанобиотехнологий:

- Белки как специфическая полярная среда процессов переноса заряда.

Кристаллик Л. И. // Успехи физических наук. - 2012. - Т. 182. - № 12. - С. 1275–1300.

- Применение микро- и нанозондов для анализа малоразмерных 3Д материалов, наносистем и нанообъектов.

Погребняк А. Д. / А. Д. Погребняк, А. Г. Пономарев, А. П. Шпак, Ю. А. Куницкий // Успехи физических наук. - 2012. - Т. 182. - № 3. - С. 287–321.

- Подходы к нормированию качества окружающей среды.

Рисник Д. В. / Д. В. Рисник, С. Д. Беляев, Н. Г. Булгаков и др. // Успехи современной биологии. - 2013. - Т. 133. - № 1. - С. 3–18.

2.5. Перспективы использования наногибридных образований на основе биомолекулярных структур.

Задание. В литературе рассматривается перспектива использования наночастиц диоксида титана (~ 5 нм) для создания нанокompозитов на основе биосовместимости. Поверхность наночастиц TiO_2 достаточно активна, что дает возможность проводить на ней ковалентную, нековалентную иммобилизацию различных биоструктур. Эти частицы проникают через клеточные мембраны.

Используя рекомендуемую литературу, изложите возможные механизмы образования наногбридов с участием TiO_2 .

Амирханов Н. В. Композиты пептидо-нуклеиновых кислот с наночастицами диоксида титана. 1. Создание нанокompозитов, содержащих ДНК/ПНК-дууплексы, и доставка их в клетки Hela / Н. В. Амирханов, Р. Н. Амирханов, В. Ф. Зарытова // Биоорганическая химия. - 2012. - Т. 38. - № 6. - С. 691–705.

Левина А. С. Создание TiO_2 -DNA-нанокompозитов, способных проникать в клетки / А. С. Левина, З. Р. Исмагилов, М. Н. Репкова и др. // Биоорганическая химия. - 2013. - Т. 39. - № 1. - С. 87–98.

Примечание. Варианты и тематика других семинарских занятий и тестконтрольных заданий изложены и в предыдущем пособии.

Междисциплинарная интеграция, как методология XXI в., в изучении нанобиологических образований

Междисциплинарный подход – это успех в изучении и создании наносистем. Вершиной развития нанотехнологий – создание структур по аналогии с тем, как это «делает» Природа в биосистемах. Отсюда, молекулярные биологические структуры являются неотъемлемой частью нанотехнологий. Справедливость этого утверждения доказывается использованием знаний основных концепций молекулярной биологии (структурных, композиционных, функциональных). Без этих знаний развитие основных направлений нанотехнологий (изготовление систем с элементами, размеры которых сравнимы с размерами молекул и атомов) не будет иметь успеха в правильном обращении с наноразмерными объектами и их использовании. В то же время без основ квантовой теории, физики и химии поверхностей, молекулярной оптоэлектроники не может развиваться молекулярная биология. Без понимания технологических основ силовой электроники, мы не можем использовать разработки зондовых технологий.

Важность междисциплинарного подхода можно рассмотреть на примере явления люминесценции (этот процесс частично рассмотрен в рубрике «Биологические науки как ведущие в области нанотехнологий»). Теоретическое объяснение этого процесса может быть проведено лишь в рамках квантовой механики. В частности, для возникновения люминесценции атомы люминофора (вещества, способного люминесцировать) должны быть выведены из состояния термодинамического равновесия, т. е. возбуждены любыми энергетическими воздействиями (например, возбуждение светом – фотолюминесценция). При люминесценции акты поглощения энергии системой и излучения квантов света разделены во времени промежуточными процессами, что приводит к относительно длительному существованию свечения люминофора после прекращения возбуждения. Интенсивность этого процесса зависит от относительного вклада излучательной и безизлучательной рекомбинации. Переход электрона на более низкий энергетический уровень с излучением кванта света может произойти и под влиянием фотонов (такая рекомбинация – вынужденная, индуцируемая или стимулированная). Безизлучательные рекомбинационные переходы значительно чаще связаны с локальными уровнями.

Следующим ярким примером междисциплинарного подхода является изучение гибридных нанокompозитов с использованием

биосенсорных систем (дополнение к вышеизложенному материалу по теме «Перспектива использования биомембран и ферментов в конструкции наносистем»). При проектировании, например, полевых транзисторов – биосенсоров, следует учитывать принципы построения биологических мембранных сигнальных систем; аллостерические переходы, определяющие поведение отдельных биомолекул; принципы детектирования структурами биообразований; сенсорная адаптация; сопряжение биоматериала с элементами технических структур и др.

Ниже приведен перечень направлений (темы, вопросы), которые связаны с развитием некоторых подходов нанобиологии.

1. Фотопреобразующие системы.
 - 1.1. Модели функционирования природных фотопреобразующих структур.
 - 1.2. Закономерности фотофизических процессов. Кинетика флуоресценции хлорофилла.
 - 1.3. Процессы переноса энергии и заряда. Особенности характеристик термодинамических и кинетических процессов.
 - 1.4. Фотометрия: энергетические и световые величины; фотоны и световые волны.
 - 1.5. Механизмы процессов самогашения флуоресценции. Квантовый выход флуоресценции.
2. Биосенсорные технологии.
 - 2.1. Преобразователи: оптические, электрохимические, механические, микроаналитические, пьезоэлектрические.
 - 2.2. Виды люминесценции, основные характеристики (спектральные, энергетический выход, кинетика).
 - 2.3. Полупроводниковые частицы (направленное модифицирование; перенос энергии флуоресценции).
 - 2.4. Рецепторные устройства.
 - 2.5. Зондовые технологии в разработке и применении сенсорных устройств.
3. ДНК-нанотехнологии.
 - 3.1. Формирование упорядоченных структур из наночастиц.
 - 3.2. Энергетические уровни циклических систем.
 - 3.3. Технологические подходы создания нанокомпозитов.
4. Наногибридные устройства.
 - 4.1. Физическая адсорбция.
 - 4.2. Химическая модификация наноструктур.
 - 4.3. Природа химической связи (валентная связь, молекулярные орбитали, кристаллическое поле).

-
- 4.4. Оптические модуляторы.
 - 4.5. Теория конфигурационного взаимодействия.
 - 5. Экологические вопросы и нанотехнологии.
 - 5.1. Общие подходы при скрининге (методология аналитического контроля).
 - 5.2. Принципы функционирования сенсорных устройств.
 - 5.3. Вычислительная экология и основные принципы, лежащие в основе экологического нормирования.

УЧЕБНОЕ ИЗДАНИЕ

Тернавский Анатолий Иванович

**Биологические структуры
как компоненты
наукоемких технологий
в наноразмерном диапазоне**

Учебно-методическое пособие

В авторской редакции.
Компьютерная верстка – Биткова А. В.

Підписано до друку 16.08.2013 р. Формат 60x84 1/16. Папір офс. Друк офс.
Умов.-друк. арк. 8,14. Обл.-вид. арк. 7,38. Тираж 32 прим. Замовл. № 27.

Видавництво та друк – ТОВ “Видавництво “Знання України”.
03680, м. Київ, вул. Велика Васильківська (Червоноармійська),
57/3, к. 314. Тел. 287-41-45, 287-30-97.

Свідоцтво про внесення суб’єкта видавничої справи до державного реєстру
видавців, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК №217 від 11.10.2000 р.