

УДК 573.3, 541.186

НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА И ЖИДКИЕ КРИСТАЛЛЫ ДНК

Ю.М. Евдокимов

(Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН; e-mail: yevdokim@eimb.ru)

Рассмотрено действие наночастиц золота малого размера на холестерические жидкокристаллические дисперсии, образованные двухцепочечными молекулами ДНК высокой молекулярной массы. Показано, что так же, как и в случае жидких кристаллов, образованных соединениями низкой молекулярной массы, это действие приводит к нематизации пространственной структуры частиц дисперсии и встраиванию наночастиц золота малого размера в «свободное» пространство между молекулами ДНК, образующими квазинематические слои частиц дисперсии. В результате этих процессов формируется «интегрированная структура» («твердая» пространственная структура ДНК), обладающая уникальными свойствами.

Ключевые слова: структура и свойства наночастиц золота, жидкокристаллические дисперсии ДНК, взаимодействие наночастиц золота с одно- и двухцепочечными ДНК, круговой дихроизм, атомно-силовая микроскопия.

В нанотехнологии формируется направление, связанное с созданием новых материалов в системе наночастицы – жидкие кристаллы низкомолекулярных соединений [1]. Первыми наночастицами в этой системе были углеродные нанотрубки, которыми обрабатывали жидкие кристаллы [2–4], кроме того, достаточно часто использовали наночастицы такого благородного металла, как золото (нано-Au) или наночастицы, имеющие «ядро» из Au [5–7]. В результате такой обработки меняются физико-химические свойства низкомолекулярных жидких кристаллов [8], а также происходит специфическое упорядочение наночастиц в жидкокристаллической фазе [9].

Такие исследования в области нанотехнологии открывают возможность направленного изменения оптических и электрооптических характеристик жидких кристаллов низкомолекулярных соединений под действием наночастиц как «управляющих» добавок и создания на их основе материалов, обладающих новыми свойствами. Что касается жидких кристаллов биополимеров, в частности ДНК, то такие системы обрабатывали не только углеродными нанотрубками, но и нано-Au. Последние исследования были начаты в 2010 г. [10].

Исследование свойств системы ХЖКД ДНК + нано-Au интересно с нескольких точек зрения. Во-первых, нано-Au обладают химическими и физическими свойствами, зависящими от размера, формы и диэлектрического окружения [11, 12]. Во-вторых, с биологической и медицинской точек зрения интерес к системе ДНК + нано-Au обусловлен накапливающейся информацией о генотоксическом действии нано-Au на живые организмы

[13–15]. Необходимо отметить, что исследования системы (ДНК + нано-Au) проводятся по двум направлениям:

1) взаимодействие нано-Au с линейными одноцепочечными молекулами ДНК;

2) взаимодействие нано-Au с линейными двухцепочечными молекулами ДНК. При этом наибольший интерес вызывают нано-Au малого размера, сопоставимого с расстоянием между молекулами ДНК в квазинематических слоях.

Свойства наночастиц золота малого размера

Золото – элемент с электронной конфигурацией $5d^{10}6s^1$. Атом золота содержит 1 s-электрон во внешней оболочке; следующая оболочка, содержащая 10 d-электронов, неустойчива. Химические свойства золота определяются: а) легкой активацией 5d электронов, б) тенденцией к приобретению дополнительного электрона для завершения $6s^2$ -уровня и «недопущением» потери уже имеющегося электрона [12].

Вслед за авторами работ [16, 17] будем считать, что частица нано-Au диаметром ~ 2 нм состоит из 150 атомов. (существует мнение [18], что частица нано-Au диаметром 2,3 нм представляет собой октаэдр и состоит из 300 атомов Au). Грубая оценка показывает, что у частицы размером 2 нм около 60% всех атомов составляют поверхностные атомы Au с нескомпенсированной валентностью [19].

Для нано-Au малого размера (квазиметаллических частиц) характерен ряд свойств, определяющих их высокую склонность к взаимодействию с разными соединениями. В случае нано-Au диаметром ~ 2 нм d-уровень приближается к уровню Ферми, что сопро-

вождается уменьшением среднего расстояния связи Au–Au в наночастицах по сравнению с металлическим Au [12]. В этом случае валентные электроны становятся более доступными для связывания с лигандами [20, 21].

Высказано также предположение, что энергия сорбции лигандов определяется разностью между уровнем Ферми и центром d-зоны. Наличие поверхностных слоев Au(100) и Au(111) в пространственной структуре nano-Au определяет разницу в их полярности [22], эффективность диполь-дипольного взаимодействия соседних nano-Au, эффективность самосборки nano-Au разной формы и эффективность связывания лигандов [12]. Для золота характерна способность к комплексообразованию с аминами, амиаком, кислород- и серосодержащими лигандами.

Стабилизированную цитратом анионную форму nano-Au диаметром ~10 нм [23] получают, как правило, восстановлением HAuCl_4 , пользуясь классическим методом Туркевича [24]. Для получения золотых наночастиц меньшего размера (со средним размером ~2 нм) был использован метод Даффа [25], заключающийся в восстановлении Au из HAuCl_4 под действием хлорида гидроксиметилфосфония в щелочных условиях.

Цитрат-форма nano-Au может быть представлена в виде, показанном на рис. 1 [26]. Аналогичная схе-

ма применима и в случае других стабилизирующих ионов (например, фосфиновых) [27, 28]. Цитрат-ионы (или другие ионы) на поверхности атомов nano-Au определяют высокую стабильность гидрозоля Au, причем отталкивание между этими ионами препятствует агрегации наночастиц.

Очень важно то, что слабо связанные с поверхностью nano-Au монодентатные лиганды могут быть заменены на полидентатные лиганды [19]. Действительно, в ряде работ показано, что отрицательно заряженные цитрат-ионы на поверхности nano-Au [29] могут быть заменены на трифенилфосфин [28], трифенилфосфинсульфонат [30], бензилмеркаптан [31] или пиридин [32]. Аналогичная замена возможна и в случае других, в частности, фосфиновых ионов [12, 30, 33–34]. При этом nano-Au могут менять форму как «желе», претерпевая структурные деформации в зависимости от типа субстрата на поверхности [19].

Взаимодействие между nano-Au, поверхность которых модифицирована молекулами, содержащими на противоположных концах сульфгидрильные и аминогруппы (для придания nano-Au положительного заряда), с линейными одноцепочечными молекулами ДНК исследуется, начиная с первых работ в этой области, выполненных С. Миркиным и П. Аливисатом в 1996 г. [35–40]. В результате этих работ показано, что молекулы одноцепочечных ДНК после вза-

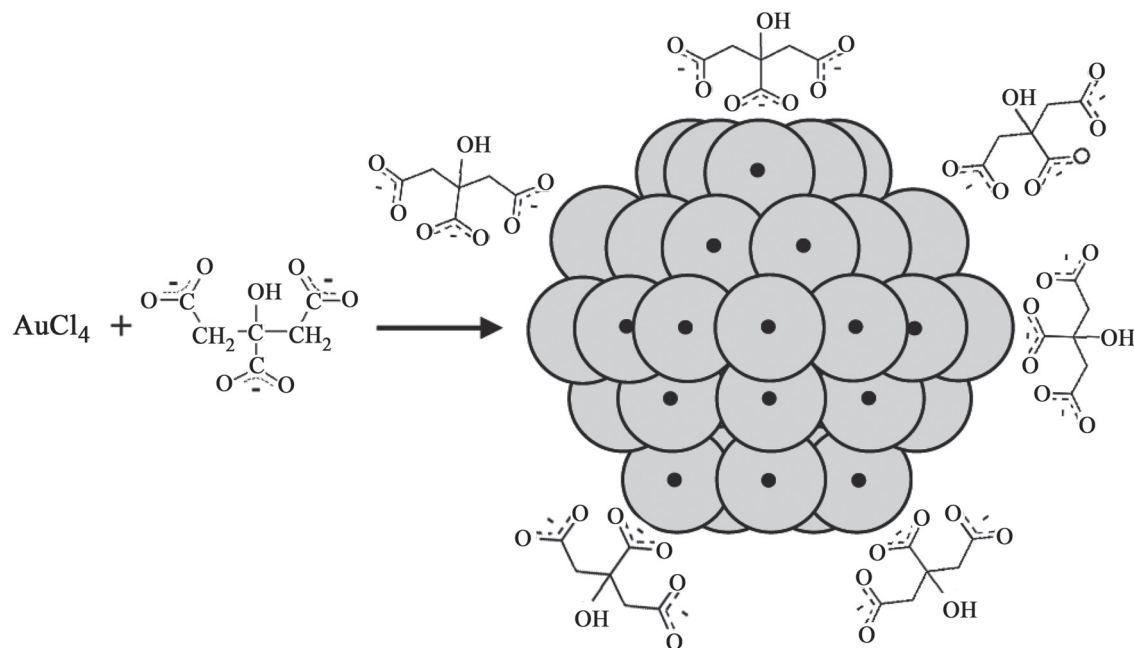


Рис. 1. Принципиальная схема получения наночастиц золота из золотохлористоводородной кислоты (HAuCl_4) и вид золотой наночастицы, стабилизированной цитрат-ионами. В методе Туркевича к нагретому до кипения раствору HAuCl_4 добавляют 1%-й раствор лимонной кислоты при интенсивном перемешивании. В этом методе цитрат-ионы являются как восстановителями тетрахлораурат-ионов, так и «стабилизаторами» наночастиц золота

имодействия с положительно заряженными нано-Au гибридируются и могут образовывать даже пространственные плоские структуры, несмотря на наличие анизотропных свойств у исходных молекул ДНК.

Образование агрегатов из соседних нано-Au вблизи поверхности молекул ДНК приводит к усилению так называемой полосы локализованного поверхностного плазмонного резонанса (полосы ППР) в видимой области спектра поглощения и к взаимодействию между соседними «плазмонами» (перекрытию «плазмонов»), сопровождаемому смещением полосы ППР в «красную» или «синюю» область в зависимости от ряда параметров (расстояние между частицами, размер и форма образующихся агрегатов, диэлектрическая постоянная среды, наличие «прослоек» между соседними нано-Au и т.д.) [12].

Практически без ответа остается важный вопрос о возможности взаимодействия между немодифицированными нано-Au, несущими на поверхности оболочку из отрицательно заряженных цитрат- (борат- и

т.д.) ионов, с молекулами ДНК. Ответ на этот вопрос очень важен, поскольку ранее была опубликована работа [41], в которой содержалось утверждение, согласно которому двухцепочечные (дц) молекулы ДНК не могут сорбироваться на нано-Au.

Поскольку с нанотехнологической точки зрения интерес представляют свойства системы (жидкие кристаллы ДНК + нано-Au), необходимо прежде всего остановиться на свойствах частиц жидкокристаллических дисперсий ДНК.

Свойства частиц жидкокристаллических дисперсий ДНК

Можно выделить основные особенности частиц ЖКД, формируемых в результате фазового исключения дц-молекул ДНК из водно-солевых растворов полимеров (например, полиэтиленгликоля (ПЭГ)).

Известно [42], что фазовое исключение (конденсация) дц-молекул ДНК (средняя молекулярная масса молекул $\sim(0,6-0,8) \cdot 10^5$ Да, что соответствует средней длине молекул ~ 400 нм), приводит к фор-

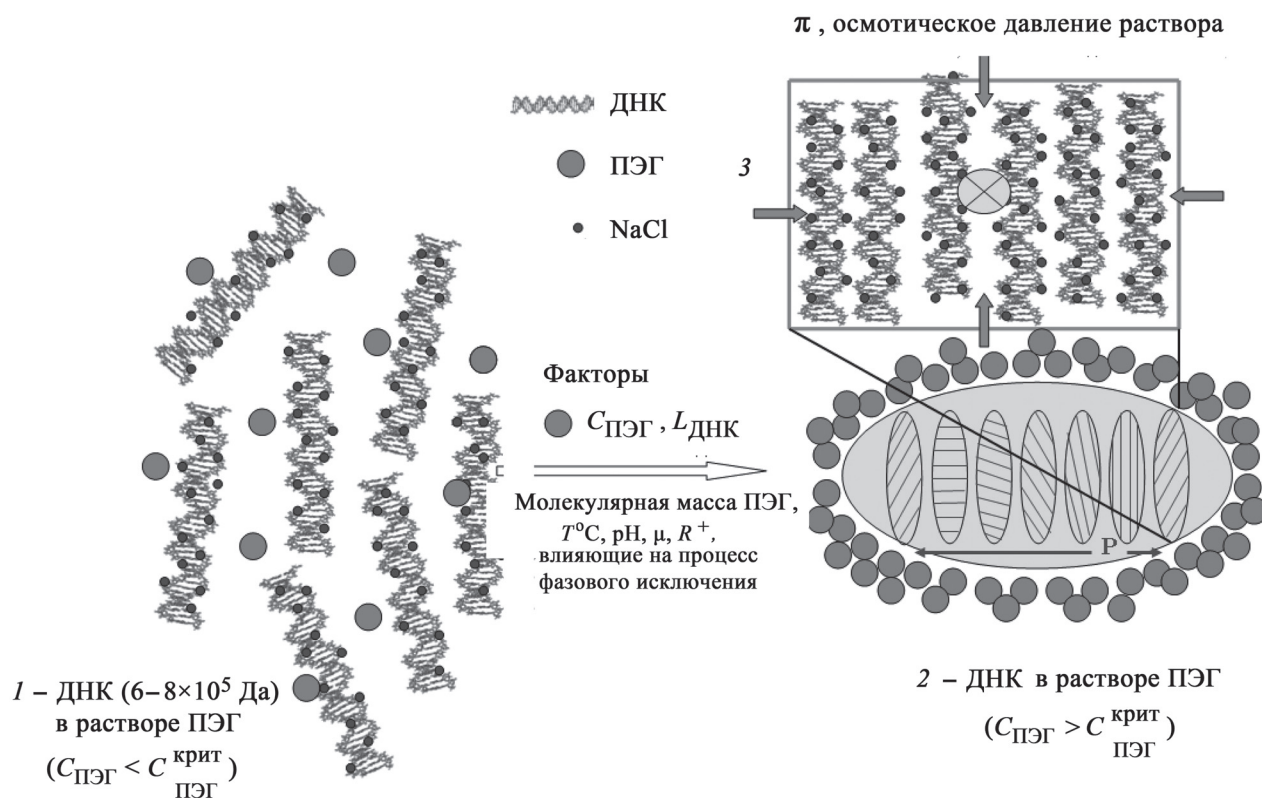


Рис. 2. Принципиальная схема формирования жидкокристаллической дисперсии дц-молекул ДНК. К раствору, содержащему молекулы ДНК (1), отрицательные заряды которых нейтрализованы ионами натрия, добавляют водорастворимый полимер (ПЭГ), вызывающий фазовое исключение молекул ДНК. В частице дисперсии (2) каждый последующий квазинематический слой (3) повернут на определенный угол по отношению к предыдущему, что приводит к появлению пространственно закрученной (холестерической) структуры со специфическими оптическими свойствами

мированию дисперсии этих молекул (рис. 2). Такая конденсация известна под названием ψ -конденсации (*psi* – акроним от слов *polymer salt induced*). Каждая частица дисперсии (при указанной молекулярной массе) имеет средний диаметр приблизительно 400–500 нм и содержит около 10^4 дц-молекул ДНК. Размер частицы определяется молекулярной массой ДНК и величиной осмотического давления раствора ПЭГ. Данные, полученные сравнительно недавно [43], показывают, что форма частиц близка к сфероцилиндрической, средний диаметр частиц лежит в пределах 400–500 нм. Одна частица ДНК содержит примерно $1,6 \cdot 10^4$ молекул, молекулярная масса одной частицы составляет $(1,0\text{--}1,2) \cdot 10^{10}$ Да.

Для частиц ЖКД ДНК характерен ряд специфических свойств. Во-первых, молекулы водно-растворимого полимера (ПЭГ) не входят в состав этих частиц. Во-вторых, для частиц дисперсии характерна высокая (в пределах от 160 до 600 мг/мл!) локальная концентрация ДНК, причем соседние молекулы ДНК упаковываются в виде слоев. В образованной слоевой (ламеллярной) структуре расстояние между соседними молекулами ДНК лежит в пределах от 2,5 до 5,0 нм (в зависимости от осмотического давления раствора ПЭГ), т.е. у частиц дисперсии есть свойство, характерное для одномерного кристалла. При этом молекулы ДНК в частицах дисперсии сохраняют почти все диффузионные степени свободы, т.е. частицы сохраняет свойства «жидкости». Такая комбинация свойств позволяет использовать термин «жидкокристаллическая дисперсия» (см. [42] и цитируемые там ссылки) для обозначения образованной структуры. В-третьих, в дц-молекулах ДНК имеются хромофоры (азотистые основания, поглощающие в УФ-области спектра), которые достаточно жестко фиксированы (угол наклона оснований по отношению к длинной оси молекул ДНК составляет около 90°). Если при фазовом исключении образуются частицы дисперсии, для которых характерна слоевая (ламеллярная) упаковка молекул ДНК, то это означает, что азотистые основания также определенным образом ориентированы в слое из молекул ДНК. В-четвертых, каждый ламеллярный слой этой структуры называют в физике жидких кристаллов «квазинематическим» [42]. Взаимодействие между соседними дц-молекулами ДНК (благодаря их хиральности) приводит к тому, что каждый последующий квазинематический слой поворачивается на определенный угол (около $0,5^\circ$) по отношению к предыдущему. В результате поворота формируется пространственно за-

крученная структура частицы ЖКД. В-пятых, в случае спирально закрученной упаковки соседних квазинематических слоев из молекул ДНК теоретические расчеты [44] предсказывают появление очень интенсивной (аномальной) полосы в спектре кругового дихроизма (КД) в области поглощения хромофоров (азотистых оснований) ДНК. Полоса в зависимости от принадлежности молекул нуклеиновой кислоты к В- или А-семейству может иметь как отрицательный, так и положительный знак. Расчеты показали, что в частицах дисперсии жесткие анизотропные молекулы ДНК реализуют свое потенциальное стремление к пространственно закрученной (холестерической) упаковке. Поэтому для частиц ЖКД ДНК, имеющих аномальную полосу в спектре КД, используют обозначение «холестерическая жидкокристаллическая дисперсия» (ХЖКД ДНК). Следовательно, возникновение ХЖКД ДНК легко детектируется по аномальной оптической активности, проявляемой, в частности, в виде характерной интенсивной полосы в спектре КД в области поглощения азотистых оснований ДНК. В-шестых, можно обратить внимание на то, что между дц-молекулами ДНК в квазинематических слоях ХЖКД имеется «свободное» пространство.

Молекулы химических или биологически активных соединений (но не молекулы ПЭГ!) могут легко диффундировать в это пространство и взаимодействовать с молекулами ДНК. При этом было отмечено [45], что модификация вторичной структуры дц-молекул ДНК в результате действия физических или химических факторов может влиять не только на свойства квазинематических слоев, но и на характер взаимодействия между ними, а следовательно, на структурные особенности частиц ХЖКД и их свойства, в частности, на величину (и даже знак) аномальной оптической активности.

В физико-химическом смысле каждую частицу ЖКД можно условно рассматривать как «каплю» концентрированного раствора ДНК, структура и свойства которой определяются, кроме прочих факторов (ионная сила, рН и температура раствора), «критической» величиной осмотического давления раствора.

Таким образом, при исследовании физико-химических свойств квазинематических слоев и ЖКД ДНК получена подробная информация об условиях их формирования и факторах (ионная сила, рН, температура и «критическая» величина осмотического давления раствора), позволяющих управлять свойствами этих структур.

Возможные механизмы связывания отрицательно заряженных наночастиц золота с дц-молекулами ДНК в растворах высокой ионной силы

Приведенные выше литературные данные, характеризующие свойства nano-Au и свойства частиц ХЖКД ДНК, позволяют высказать две гипотезы о возможных механизмах взаимодействия отрицательно заряженных nano-Au с дц-молекулами ДНК.

Такое взаимодействие может реализоваться в рамках «химического» механизма. Происходящее в растворах высокой ионной силы сближение дц-молекул ДНК и nano-Au приводит к тому, что отрицательно заряженные фосфатные группы ДНК выступают в роли заместителей стабилизирующих ионов (цитратов, фосфинов и т.д.) на поверхности nano-Au [19, 28, 29, 34, 46, 47], и это служит началом полидентатного взаимодействия между азотсодержащими группами (N3 и N7 аденина и гуанина) оснований молекулы ДНК и близко расположенной к ней nano-Au [26, 48]. Пространственная структура nano-Au может деформироваться [19], «подстраиваясь» под пространственные параметры дц-молекул ДНК для обеспечения максимального взаимодействия. Для обеспечения взаимодействия ДНК с отрицательно заряженными nano-Au вторичной структуры ДНК может «возмущаться» [50] и/или могут вытесняться молекулы воды из гидратной оболочки ДНК.

Есть основания для гипотезы о взаимодействии отрицательно заряженных nano-Au с дц-молекулами ДНК в рамках другого («физического») механизма [51], основанного на связывании (концентрировании) отрицательно заряженных nano-Au на дц-молекуле ДНК в водном растворе, когда эти наночастицы поляризованы в поле молекулы ДНК. В работе [52] теоретически проанализирован электростатический механизм связывания, на основании чего сделан вывод о его высокой вероятности.

Таким образом, имеются все основания полагать, что в растворах высокой ионной силы дц-молекулы ДНК могут взаимодействовать с отрицательно заряженными nano-Au. Связывание отрицательно заряженных nano-Au с дц-молекулами ДНК в рамках любого из механизмов носит динамический характер, и nano-Au могут диффундировать вдоль молекулы ДНК, фиксируясь в местах наиболее прочного связывания.

Можно предположить, что эффективность взаимодействия nano-Au с дц-молекулами ДНК зависит от ряда факторов: последовательность оснований в мо-

лекулах ДНК, особенность ее вторичной структуры, размер (диаметр) или форма nano-Au. С учетом приведенных выше гипотез о возможности связывания nano-Au с дц-молекулами ДНК можно рассмотреть вопрос о возможных местах фиксации наночастиц Au («гостей») вблизи дц-молекул ДНК в квазинематическом слое.

Во-первых, nano-Au любого размера (рис. 3, А, Б) могут взаимодействовать как с «поверхностными» молекулами ДНК, так и с парами азотистых оснований концевых групп молекул ДНК квазинематических слоев, образуя с ними комплексы (ансамбли). Связывание даже небольшого числа отрицательно заряженных nano-Au с молекулами ДНК (особенно с концевыми группами этих молекул) приводит к формированию диполей (рис. 3, nano-Au 1–2 и 3–4). Диполи (ДНК + nano-Au) в соседних квазинематических слоях будут стремиться располагаться параллельно [38, 39]. Связывание отрицательно заряженных nano-Au, не оказывая существенного влияния на силы (стерические и т.д.), определяющие стремление соседних молекул ДНК к параллельному расположению, может вызывать изменение величины вкладов (в частности, анизотропного вклада в Ван-дер-Ваальсово взаимодействие), определяющих спиральную закрутку соседних квазинематических слоев из молекул ДНК. В этом случае спиральная закрутка соседних квазинематических слоев будет нарушена, и угол закрутки между этими слоями ($\sim 0,5^\circ$) может обращаться в 0, что эквивалентно раскрутке холестерической спиральной структуры частицы ЖКД, сопровождаемой исчезновением аномальной полосы в спектре КД частиц ЖКД.

Во-вторых, можно предположить, что nano-Au, размер которых сопоставим со «свободным» пространством между дц-молекулами ДНК в квазинематических слоях (рис. 3, А), могут диффундировать между этими молекулами. Эффективное взаимодействие между соседними nano-Au может реализоваться через молекулы ДНК. В этом случае появляется возможность не только для пространственной фиксации отдельных nano-Au, но и для образования разных линейных ансамблей из соседних nano-Au (рис. 3, nano-Au 5–10 и 11–15).

Следовательно, можно ожидать, что если отрицательно заряженные nano-Au взаимодействуют с дц-молекулами ДНК в частицах ХЖКД по первому или второму механизму, то такое взаимодействие будет сопровождаться, прежде всего, изменением характерной для этой дисперсии аномальной оптической активности.

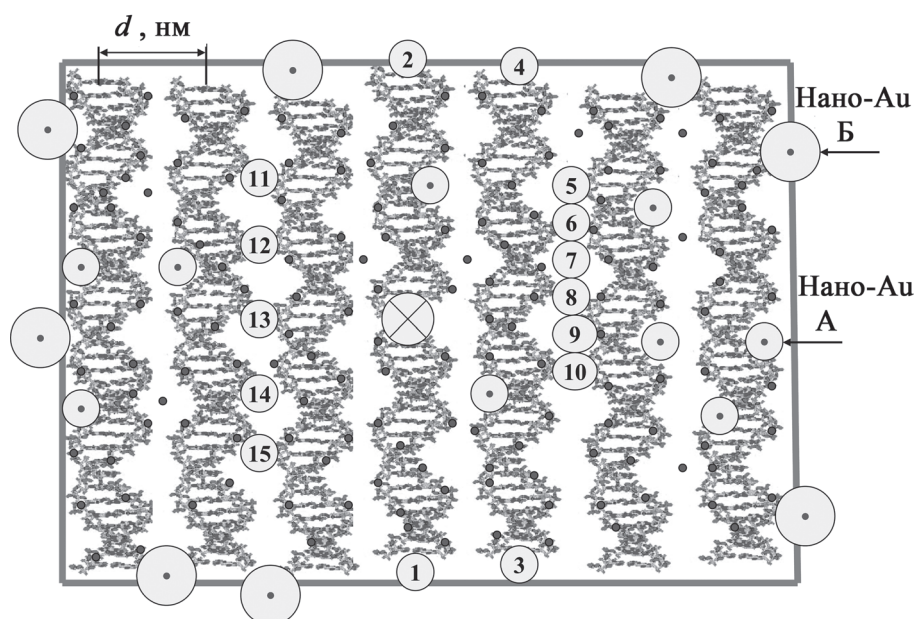


Рис. 3. Схема расположения наночастиц золота разного размера (А и Б) вблизи молекул ДНК, образующих квазинематический слой (символ в центре означает ось вращения спиральной структуры холестерика ДНК). Среднее расстояние между молекулами ДНК (d) зависит от осмотического давления раствора, обозначенного рамкой

Наконец, не исключено, что в случае определенного расположения соседних нано-Au и образования ансамблей между молекулами ДНК может возникнуть полоса ППР в спектре поглощения.

Действие наночастиц золота на предварительно сформированную ХЖКД ДНК

На рис. 4 показаны спектры КД ХЖКД, сформированной в водно-солевом (0,3 М NaCl) растворе ПЭГ из исходных линейных ДНК (кривая 1), и ХЖКД, обработанной разной концентрацией нано-Au (кривые 2–7). На врезке рис. 4 приведена зависимость амплитуды аномальной отрицательной полосы ($\lambda = 270$ нм) в спектре КД от величины R . Видно, что обработка ХЖКД, сформированной из линейных ДНК, нано-Au сопровождается уменьшением амплитуды аномальной полосы. Оптический эффект достигает своего насыщения при 5–10 нано-Au, приходящихся на одну молекулу ДНК.

Поскольку амплитуда аномальной полосы в спектре КД ХЖКД ДНК связана со спиральной закруткой пространственной структуры холестерика, то наблюдаемое уменьшение амплитуды этой полосы свидетельствует в данном случае о связывании нано-Au с ДНК, образующими квазинематические слои в структуре ХЖКД (рис. 3). Как было отмечено выше, связывание даже небольшого числа частиц нано-Au с молекулами ДНК в квазинематических

слоях может приводить к тому, что слои будут стремиться к параллельному расположению, т.е. будет происходить раскрутка пространственной спиральной структуры частиц ХЖКД ДНК (нематизация структуры).

Уменьшение (под действием нано-Au) спиральной закрутки частиц жидкокристаллической дисперсии, сформированной из молекул ДНК высокой молекулярной массы, показывает, что свойства этих жидких кристаллов в определенном отношении близки свойствам жидких кристаллов соединений низкой молекулярной массы.

Таким образом, приведенные выше результаты, показывают, что в ПЭГ-содержащем растворе высокой ионной силы (0,3 М NaCl) нано-Au малого размера (2 нм), несущие отрицательный заряд, взаимодействуют (связываются) с ДНК. Следовательно, вслед за авторами работ [26, 46, 47] можно повторить, что обобщенное утверждение об отсутствии такого взаимодействия, сделанное в работе [41], было ошибочным.

Изменение спектра поглощения при действии наночастиц золота на предварительно сформированную ХЖКД ДНК

При обработке частиц ХЖКД ДНК нано-Au малого размера (~2 нм) наблюдаются изменения в УФ- и в видимой областях спектра поглощения (рис. 5). Во-первых, слабо выраженная полоса I при 505 нм

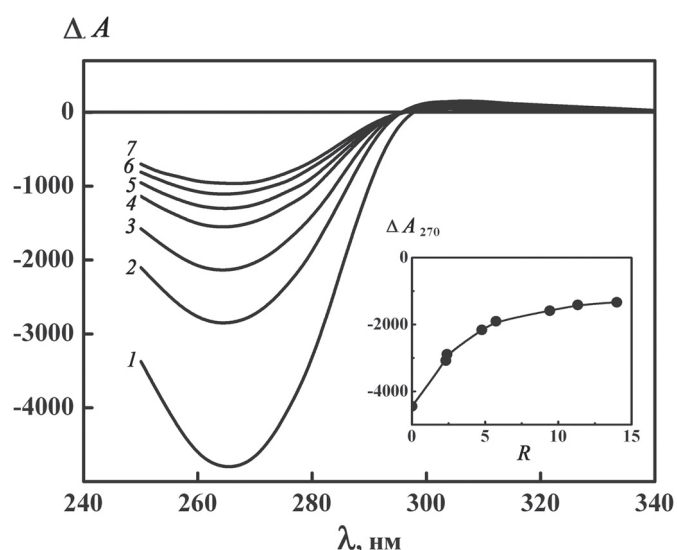


Рис. 4. Спектры КД ХЖКД ДНК, обработанной разными концентрациями нано-Аu: 1 – $C_{Au} = 0$ ($R = 0$); 2 – $C_{Au} = 1,74 \times 10^{13}$ частиц \times мл $^{-1}$ ($R = 2,39$); 3 – $C_{Au} = 3,465 \times 10^{13}$ частиц \times мл $^{-1}$ ($R = 4,77$); 4 – $C_{Au} = 6,863 \times 10^{13}$ частиц \times мл $^{-1}$ ($R = 9,42$); 5 – $C_{Au} = 10,194 \times 10^{13}$ частиц \times мл $^{-1}$ ($R = 14,00$); 6 – $C_{Au} = 13,462 \times 10^{13}$ частиц \times мл $^{-1}$ ($R = 18,49$); 7 – $C_{Au} = 16,667 \times 10^{13}$ частиц \times мл $^{-1}$ ($R = 22,90$); R – отношение числа нано-Аu к числу молекул ДНК в растворе. $C_{ДНК} = 9,7$ мкг \times мл $^{-1}$; $C_{ПЭГ} = 190$ мг \times мл $^{-1}$; 0,3 моль \times л $^{-1}$ NaCl + 0,002 моль \times л $^{-1}$ фосфатный буфер; $\Delta A = (A_L - A_R) \times 10^{-6}$ опт. ед.; $l = 1$ см. На врезке: зависимость амплитуды полосы в спектре КД ХЖКД ДНК ($\lambda = 270$ нм) от величины R

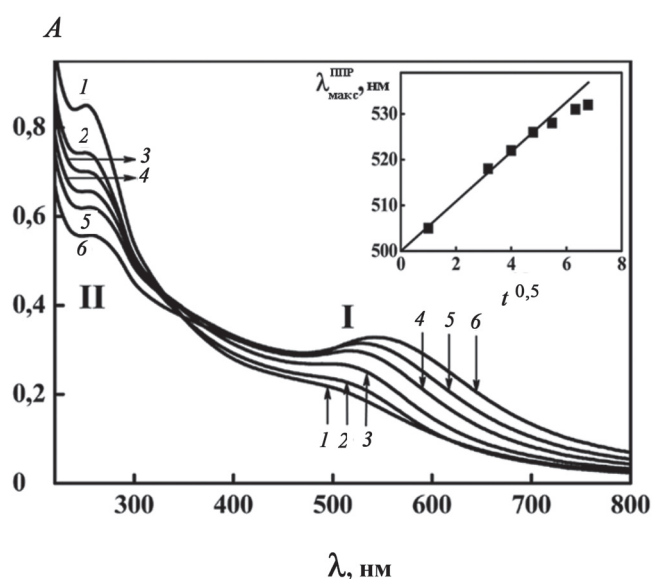


Рис. 5. Спектры поглощения ХЖКД дц-молекул ДНК, обработанной наночастицами золота в течение разных промежутков времени (мин): 1 – 0; 2 – 1; 3 – 8; 4 – 21; 5 – 36; 6 – 100 ($C_{ДНК} = 9$ мкг \times мл $^{-1}$; $C_{ПЭГ} = 150$ мг \times мл $^{-1}$; 0,27 моль \times л $^{-1}$ NaCl + $1,78 \times 10^{-3}$ моль \times л $^{-1}$ фосфатный буфер; $C_{Au} = 0,82 \times 10^{14}$ частиц/мл. На врезке зависимость положения максимума полосы ППР от времени ($t^{0,5}$)

(полоса локализованного ППР) начинает меняться. Амплитуда этой полосы увеличивается во времени, а максимум этой полосы смещается от ~ 505 до ~ 550 нм. Во-вторых, амплитуда полосы в УФ-области спектра II уменьшается.

Синхронное изменение полосы ППР (I) и полосы, расположенной в области ДНК (II), показывает, что процесс, отражаемый в спектре поглощения, связан с изменением свойств как дц-молекул ДНК, так и нано-Аu. Вслед за авторами работы [37] можно предположить, что наблюдаемое развитие полосы ППР и «красное» смещение ее максимума связано с образованием ансамблей из нано-Аu [11, 12], формирующихся в данном случае между дц-молекулами ДНК, фиксированными в квазинематических слоях частиц ХЖКД.

В пользу образования ансамбля из нано-Аu свидетельствует также зависимость положения максимума полосы ППР от времени. При этом между изменением положения полосы ППР (до момента ее насыщения) и величиной $t^{0,5}$ существует прямая пропорциональная зависимость (врезка на рис. 5). Если принять, что смещение положения максимума полосы ППР отражает увеличение размера ансамбля из нано-Аu, то теоретическая оценка позволяет подтвердить гипотезу о возможности формирования линейных кластеров из нано-Аu в частицах ХЖКД ДНК. При анализе этого процесса, проведенного в работе Лифшица и Слэзова [53], было показано, что размер (R) кластера сферической формы увеличивается пропорционально величине $t^{1/3}$. Применение подхода Лифшица и Слэзова для описания роста линейного кластера цилиндрической формы показывает, что в этом случае длина цилиндра (L) растет пропорционально величине $t^{1/2}$ (независимо от радиуса цилиндра). Эта теоретическая оценка вполне согласуется с экспериментальными данными (врезка на рис. 5).

Таким образом, зависимость положения максимума полосы ППР от времени связана с диффузией нано-Аu в частицы ХЖКД дц-молекул ДНК и формированием в этих частицах линейных кластеров из нано-Аu.

Структурный анализ фаз, сформированных из частиц ХЖКД дц-молекул ДНК, обработанных наночастицами золота

Для проверки высказанного выше соображения при помощи метода малоуглового рентгеновского рассеяния был проведен структурный анализ фаз, сформированных из частиц ХЖКД дц-молекул ДНК, обработанных нано-Аu [54]. Предположение о линей-

ном построении кластеров nano-Au и результаты расчета размера таких кластеров с помощью программы GNOM [55] позволили построить гипотетическую модель, отражающую фиксацию nano-Au между дц-молекулами ДНК в квазинематических слоях (рис. 6).

Согласно модели, частицы nano-Au диаметром 2 нм образуют линейные кластеры со средней длиной 13–15 нм и кластеры с максимальной длиной 40–50 нм. Образование кластеров nano-Au влияет на пространственную ориентацию соседних квазинематических слоев дц-молекул ДНК. В этих условиях спиральная закрутка слоев в частице ХЖКД ДНК высокой молекулярной массы меняется так же, как это происходит в случае жидких кристаллов соединений низкой молекулярной массы.

Образование линейных кластеров Au в «свободном» пространстве между дц-молекулами ДНК приводит к тому, что взаимодействие между ними, реализуемое через nano-Au, усиливается. Образуется «интегрированная» структура [...ДНК... (nano-Au)_n...ДНК... (nano-Au)_m...ДНК...] (*n*, *m* = 1, 2 и т.д.), которая включает практически все молекулы ДНК одной частицы. Происходит «физическое сшивание» соседних молекул ДНК в квазинематических слоях. Кроме того, наличие в квазинематических слоях из молекул ДНК единичных nano-Au и протяженных кластеров nano-Au приводит к понижению растворимости образованной структуры. «Интегрированная» структура, имеющая очень высокую молекулярную массу, становится несовместимой с водно-солевым раствором ПЭГ. Стабильность этой структуры определяется не

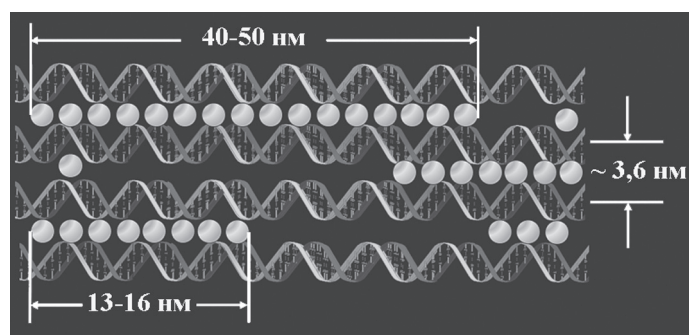


Рис. 6. Гипотетическая модель расположения кластеров из nano-Au между молекулами ДНК, образующими квазинематические слои в структуре частиц дисперсии ДНК (на основании данных рентгенографического анализа). Кластеры из nano-Au выполняют роль «среды», через которую реализуется взаимодействие между соседними дц-молекулами ДНК. Формируется «интегрированная» структура («твердая» частица ДНК), несовместимая с полимер-содержащим раствором

свойствами раствора ПЭГ, а числом и свойствами единичных nano-Au и кластеров nano-Au в ее составе. Это означает, что происходит переход частиц ХЖКД ДНК из «жидкого» состояния в «твердое». «Твердая» (нерастворимая) структура может существовать даже в отсутствие высокого осмотического давления раствора.

АСМ-изображения «твердых» частиц, сформированных из частиц ХЖКД дц-молекул ДНК, обработанных наночастицами золота

Переход частиц ХЖКД ДНК в «твердое» состояние открывает возможность для иммобилизации частиц на поверхности ядерного мембранного фильтра и исследования их морфологии при помощи АСМ. На рис. 7 представлено изображение (вид сверху, А и вид сбоку, Б) «твердых» частиц, сформированных в результате обработки частиц ХЖКД ДНК nano-Au. Как показывает распределение по размерам для «твердых» частиц, полученных с помощью разных методов [43], средние размеры «твердых» частиц лежат в пределах 450–500 нм. Высота частиц, созданных в результате «сшивания» соседних молекул ДНК, фиксированных в квазинематических слоях частиц ХЖКД кластерами из nano-Au, не превышает 300 нм.

Отличие «твердых» частиц дц-молекул ДНК, полученных в результате «физического сшивания», от «твердых» частиц, сформированных в результате гелеобразования внутри частиц (см. выше), состоит в том, что они слабо связаны с поверхностью ядерного мембранного фильтра. Это приводит к тому, что «металлизированные» частицы, т.е. частицы ХЖКД ДНК, обработанные nano-Au, можно перемещать по поверхности мембранного фильтра, подталкивая их кантилевером АСМ и фиксируя в определенных местах на фильтре. Был подготовлен фильм, демонстрирующий пространственное перемещение одной частицы ХЖКД ДНК, обработанной nano-Au, по поверхности ядерного мембранного фильтра.

Перемещение «металлизированных» частиц ХЖКД дц-молекул ДНК может представлять интерес с нанотехнологической точки зрения, поскольку открывает возможность для создания матриц, обладающих специфическими свойствами.

Приведенные выше результаты, свидетельствующие о том, что крайне низкая концентрация nano-Au (несколько nano-Au на дц-молекуле ДНК соответствует суммарной концентрации nano-Au порядка 10^{12} nano-Au/мл) вызывает нарушение пространственной структуры частиц ЖКД ДНК, представляют большой интерес с биологической точки зрения. Здесь

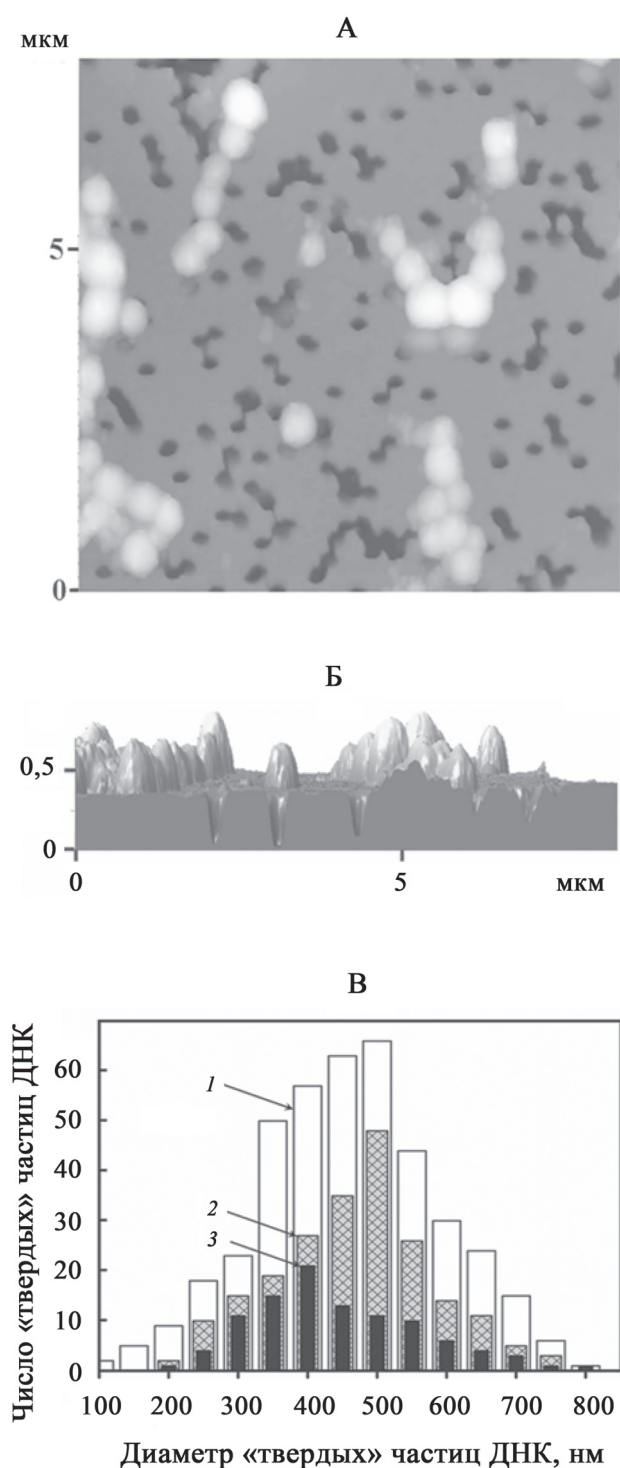


Рис. 7. АСМ-изображения «твердых» частиц ДНК (А – вид сверху; Б – вид сбоку), полученных в результате обработки частиц «жидких» частиц ДНК наночастицам золота и иммобилизованных на мембранном фильтре (ПЭТФ). Темные точки – отверстия в ядерном, мембранном фильтре. В – распределение по размерам «твердых» частиц, полученных в результате обработки «жидких» частиц ДНК разными методами: 1 – в результате образования наномостиков; 2 – в результате обработки ионами гадолиния; 3 – в результате образования кластеров из наночастиц золота

следует обратить внимание на ряд обстоятельств. Во-первых, в работе [33] было высказано предположение, что nano-Au малого размера могут взаимодействовать как с В-, так и А-формой линейной дц-молекулы ДНК. Во-вторых, опыты с использованием nano-Au, меченных изотопом [^{198}Au], показали, что 57,5% радиоактивных частиц Au оказываются в цитоплазме, а 42,5% – в клеточном ядре [47]. После удаления ядерных белков было обнаружено, что необычайно высокая концентрация 21–23% радиоактивного материала связана с конденсированной ДНК ядра. (При этом следует иметь в виду, что частицы ХЖКД ДНК моделируют именно конденсированное состояние дц-молекул ДНК в клетках простейших). В-третьих, в работе [56] было впервые показано, что nano-Au вызывают генотоксический эффект, влияя на сперматогенез. В-четвертых, в работе [14] не только подтверждено действие nano-Au на процесс сперматогенеза, но и показано многообразие возможных механизмов действия nano-Au на животных. Наконец, в обзоре [57], посвященном рассмотрению токсического действия nano-Au, несколько раз повторяется утверждение, согласно которому, начиная именно с концентрации 10^{12} nano-Au/мл, проявляется токсическое действие nano-Au в разных биологических системах. Такое совпадение значений, полученных нами (см. выше) и приведенных в указанном обзоре, вряд ли является случайным.

Все сказанное выше позволяет предположить, что взаимодействие nano-Au с дц-молекулами ДНК и формирование кластеров из nano-Au между дц-молекулами ДНК в составе конденсированных структур, образуемых этими молекулами в биологических объектах (хромосомы, спермии), сопровождаемое возмущением пространственной структуры этих объектов, является одной из причин, определяющих генотоксический эффект nano-Au малого размера.

Таким образом, показано, что в растворе высокой ионной силы обработка ХЖКД, сформированных из дц-молекул ДНК высокой молекулярной массы, nano-Au, несущими отрицательный заряд, приводит к образованию «твердых» частиц ДНК. Связывание nano-Au с дц-молекулами ДНК инициируют два процесса:

- 1) нарушение пространственной структуры хлестерика ДНК;
- 2) образование протяженных линейных кластеров из nano-Au в частицах ХЖКД ДНК.

В этих условиях спиральная закрутка квазинематических слоев из молекул ДНК уменьшается до 0, как это происходит и в случае жидких кристаллов соединений низкой молекулярной массы. Особенность

«твердых» частиц ДНК состоит в том, что такие частицы слабо связываются с поверхностью мембранного фильтра. Это открывает возможность для их направленного перемещения по поверхности фильтра и фиксации их в требуемых местах, что может иметь важное нанотехнологическое значение.

Полученные результаты можно рассматривать как свидетельство в пользу представления о том, что фиксация нано-Au в частицах ЖКД дц-молекулами ДНК, моделирующими некоторые свойства хромосом простейших, может быть одной из причин, определяющих генотоксичность этих частиц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lagerwall J.P.F., Scalia G. // *Curr. Appl. Phys.* 2012. Vol. 12. P. 1387.
2. Lynch M., Patrick D. // *Nano Lett.* 2002. 2. P. 1197
3. Dierking I., Scalia G., Morales P. // *J. Appl. Phys.* 2005. Vol. 97. P. 044309.
4. Усольцева Н.В., Якемсева М.В. / Органические и гибридные наноматериалы: тенденции и перспективы. Под ред. В.Ф. Разумова и М.В. Ключева. Иваново, 2013. С. 228.
5. Donnio B., Garcia-Vazquez P., Gallani J. et al. // *Adv. Mater.* 2007. Vol. 19. P. 3534.
6. Qi H., Kinkead B., Hegmann T. // *Adv. Funct. Mater.* 2008. Vol. 18. P. 212.
7. Liu Q., Cui Y., Gardner D. et al. // *Nano Lett.* 2010. Vol. 10. P. 1347.
8. Oswald P., Milette J., Relaix S. et al. // *EPL (Europhys. Lett.)*. 2013. Vol. 103. P. 46004.
9. Qi H., Hegmann T. // *Liq. Cryst. Today*. 2011. Vol. 20. P. 102.
10. Скуридин С.Г., Дубинская В.А., Рудой В.М. и др. // *ДАН*. 2010. Vol. 432. С. 838.
11. Дыкман Л.А., Богатырев В.А., Щёголев С.Ю. и др. // *Золотые наночастицы: синтез, свойства, биомедицинское применение*. М., 2008. С. 318.
12. Louis C., Pluchery O. // *Gold Nanoparticles for Physics, Chemistry and Biology*. Imperial College Press. L., 2012. P. 395.
13. Iavicoli I., Fontana L., Leso V. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. P. 16732.
14. Захидов С.Т., Павлюченкова С. М., Самойлов А. В. и др. // *Изв. АН. Сер. биол.* 2013. Vol. 6. С. 645.
15. Dykman L.A., Khlebtsov N.G. // *Chem. Rev.* 2014. Vol. 114. P. 1258.
16. Schmid G., Klein N., Korste L. et al. // *Polyhedron*. 1988. Vol. 7. P. 605.
17. Hakkinen H. In *Gold Nanoparticles for Physics, Chemistry and Biology*. Eds. C. Louis, O. Pluchery. L., 2012. P. 233.
18. Saendig N., Zerbetto F. // *Chem. Commun.* 2010. Vol. 46. P. 667.
19. Пичугина Д.А., Мажуга Ф.Г., Шестаков А.Ф. / Органические и Гибридные наноматериалы: тенденции и перспективы. Под ред. В.Ф. Разумова и М.В.Ключева. Иваново, 2013. С. 148.
20. Nel A., Xia T., Madler L. et al. // *Science*. 2006. Vol. 311. P. 622.
21. Bus E., Prins R., van Bokhoven J. // *Catal. Commun.* 2007. Vol. 8. P. 1397.
22. Imura Y., Morita C., Endo H. et al. // *Chem. Commun.* 2010. Vol. 46. P. 9206.
23. Majzik A., Patakfalvi R., Hornok V. et al. // *Gold Bulletin*. 2009. Vol. 42. P. 113.
24. Turkevich J., Stevenson P.C., Hillier J. // *Discuss. Faraday Soc.* 1951. Vol. 11. P. 55.
25. Duff D.G., Baiker A. // *Langmuir*. 1993. Vol. 9. P. 2301.
26. Liu J. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2012. Vol. 14. P. 10485.
27. Zhong Z., Patskovskyy S., Bouvrette P. et al. // *J. Phys. Chem. B*. 2004. Vol. 108. P. 4046.
28. Pan Y., Neuss S., Leifert A. et al. // *Small*. 2007. 3. P. 1941.
29. Weitz D.A., Lin M.Y., Sandroff C.J. et al. // *Surf. Sci.* 1985. Vol. 158. P. 147.
30. Parak W.J., Pellegrino T., Micheel C.M. et al. // *Nano Lett.* 2003. Vol. 3. P. 33.
31. Kim T., Lee K., Gong M.-S. et al. // *Langmuir*. 2005. Vol. 21. P. 9524.
32. Simon U., Schmid G., Brandau W. et al. // *Small*. 2007. Vol. 3. P. 1941.
33. Liu Y., Meyer-Zaika W., Franzka S. et al. // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003. Vol. 42. P. 2853.
34. Евдокимов Ю. М., Салянов В. И., Кац Е. И. и др. // *Acta naturae*. 2012. Vol. 4. С. 80.
35. Mirkin C.A., Letsinger R.L., Mucic R.C. et al. // *Nature*. 1996. Vol. 382. P. 607.
36. Alivisatos P.A., Johnsson K.P., Peng X. et al. // *Nature*. 1996. Vol. 382. P. 609.
37. Storhoff J.J., Lazarides A.A., Mucic, R.C. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* 2000. Vol. 122. P. 4640.
38. Sastry M., Kumar A., Datar S. et al. // *Appl. Phys. Lett.* 2001. Vol. 78. P. 2943.
39. Warner M.G., Hutchison J.E. // *Nature Materials*. 2003. Vol. 2. P. 272.
40. Jones M.R., Macfarlane R.J., Lee B. et al. // *Nature Materials*. 2010. Vol. 9. P. 913.
41. Li H., Rothberg L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. Vol. 101. P. 14036.
42. Yevdokimov Yu.M., Salyanov V.I., Semenov S.V. et al. // *DNA Liquid-Crystalline Dispersions and Nanoconstructions*. L.;N.Y., 2011. P. 258.
43. Евдокимов Ю.М., Салянов В.И., Савватеев М.Н. и др. // *Технол. живых систем*. 2013. Vol. 10. С. 20.
44. Yevdokimov Yu.M., Salyanov V.I., Skuridin S.G. et al. // *The CD Spectra of Double-Stranded DNA Liquid-Crystalline Dispersions*. N.Y., 2011. P. 103.
45. Евдокимов Ю.М. // *Вестн. РАН*. 2003. Vol. 73. С. 712.
46. Zhang X., Servos M.R., Liu J. // *Langmuir*. 2012. Vol. 28. P. 3896.
47. Tsoli M., Kuhn H., Brandau W. et al. // *Small*. 2005. Vol. 1. P. 841.
48. Jang N.H. // *Bull. Korean Chem. Soc.* 2002. Vol. 23. P. 1790.
49. Demers L.M., Mirkin C.A., Mucic R.C. et al. // *Anal. Chem.* 2000. Vol. 72. P. 5535.

50. Sandstrom P., Boncheva M., Akerman B. // *Langmuir*. 2003. Vol. 19. P. 7537.
51. Евдокимов Ю.М., Салянов В.И., Скуридин С.Г. и др. // *Успехи химии* (в печати).
52. Комаров П.В., Жеренкова Л.В., Халатур П.Г. и др. // *Российские нанотехнологии*. 2007. Vol. 2. С. 92.
53. Lifshitz I.M., Slyozov V.V. // *J. Phys. Chem. Solids*. 1961. Vol. 19. P. 35.
54. Евдокимов Ю.М., Штыкова Э.В., Салянов В.И. и др. // *Биофизика*. 2013. Vol. 58. С. 210.
55. Svergun D.I., Semenyuk A.V., Feigin L.A. // *Acta Cryst. A*. 1988. Vol. 44. P. 244.
56. Wiwanitkit V., Sereemaspun A., Rojanathanes R. // *Fertil. Steril*. 2009. Vol. 91. P. e7.
57. Khlebtsov N., Dykman L. // *Chem. Soc. Rev.* 2011. Vol. 40. P. 1647.

Поступила в редакцию 10.09.14

GOLD NANOPARTICLES AND DNA LIQUID CRYSTALS

Yu.M. Yevdokimov

(*V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology of Russian Academy of Sciences*)

This brief review covers the effect of small size gold nanoparticles on cholesteric liquid-crystalline dispersions formed by double-stranded high mol. mass DNA molecules. It is shown, that as well as in case of liquid crystals derivated by low mol. mass compounds, this activity results in: 1) nematization of a spatial structure of dispersion particles, and 2) incorporation of small size gold nanoparticles in “free” space between DNA molecules, forming quasinematic layers of dispersion particles. As a result of these processes the “integrated” structure (“rigid” spatial DNA structure) is formed, which possess unique properties.

Key words: gold nanoparticles structure and properties, DNA liquid-crystalline dispersions, interaction of gold nanoparticles with single- and double-stranded DNA, circular dichroism, atomic-force microscopy.

Сведения об авторе: Евдокимов Юрий Михайлович – сотр. Института молекулярной биологии РАН, профессор, докт. хим. наук (yevdokim@eimb.ru).