

PACS numbers: 61.46.Bc, 68.37.Lp, 78.67.-n, 81.07.Pr, 81.16.Dn, 87.64.Dz, 87.85.jf

Фізичні властивості гібридних вірус-неорганічних комплексів ВТМ–Au

В. Х. Касіяненко¹, Л. І. Карбівська², Н. А. Курган², О. Я. Кузнецова³,
В. Л. Карбівський²

¹*Вінницький національний технічний університет,
Хмельницьке шосе, 95,
21021 Вінниця, Україна*

²*Інститут металофізики ім. Г. В. Курдюмова НАН України,
бульвар Акад. Вернадського, 36,
03142 Київ, Україна*

³*Національний авіаційний університет,
проспект Космонавта Комарова, 1,
03058 Київ, Україна*

Методами зондової мікроскопії та спектроскопії атомової роздільчої здатності проведено дослідження фізичних, фізико-хімічних властивостей і морфології нанодротів на основі вірусів тютюнової мозаїки (ВТМ) та наночастинок шляхетних металів. Генетична програмованість оболонки ВТМ уможливило виготовлення похідних ВТМ із підвищеною селективністю до неорганічних матеріалів або поверхні підкладинок. Останній факт уможливило одержувати ефективні самоскладання нанорозмірних біоструктур у функціональних мікроприладах. Досліджено оптичні властивості наноконструкцій ВТМ–наночастинки золота. Встановлено оптичну активність комплексу ВТМ–Au із максимумом на 540 нм. Спостерігається залежність інтенсивності спектрів оптичного поглинання від орієнтації вектора поляризації. Наявність циркулярного дихроїзму відкриває можливість використання комплексів ВТМ–Au для створення метаматеріалів. Методом зондової тунельної спектроскопії досліджено електронну будову та властивості наноконструкцій. Встановлено, що в інтервалі від 0 до 6 вольт виникають спонтанні й індуковані переходи у стан з відносно високою електропровідністю. Показано, що взаємодія досліджуваних рослинних вірусів з антитілами приводить до відсутності агрегації та кластеризації наночастинок композиту. Показано поверхневу хімічну руйнацію золота після видалення наночастинок ВТМ з поверхні золота. Запропонована методика синтезу нанодротів надає перспективи розробки вітчизняних технологій одержання наноматеріалів на основі рослинних вірусів.

The physical and physicochemical properties as well as morphology of nan-

owires fabricated from the tobacco mosaic virus (TMV) and nanoparticles of noble metals are studied by the methods of microscopy and spectroscopy with atomic resolution. The genetic shell programmability of TMV allows fabricating derivatives with high selectivity to inorganic materials or surface substrates. The latter fact allows obtaining efficient self-assembly of nanoscale biostructures for functional microdevices. Optical properties of nanocomplexes of the TMV–gold nanoparticles are studied. The optical activity of complex TMV–Au with maximum at 540 nm is revealed. The dependence of intensity of the absorption spectra on the optical polarization orientation is observed. The presence of a circular dichroism opens up possibilities of using TMV–Au complexes for the creation of metamaterials. The electronic structure and properties of nanocomposites is investigated by the scanning tunneling spectroscopy method. As found, the spontaneous and induced transitions into a state of relatively high electrical conductivity appear in the range from 0 to 6 volts. As shown, the interaction of the studied plant viruses with antibodies leads to an absence of both aggregation and clustering of composite nanoparticles. It is revealed the presence of chemical gold surface destruction after removing of the TMV nanoparticles from the gold surface. The proposed technique of the nanowires' synthesis allows developing of the leading-edge domestic technologies of fabrication of the plant-virus-based nanomaterials.

Методами зондової мікроскопії і спектроскопії атомного розрешення проведено дослідження фізических, фізико-хімічних свойств і морфології нанопроводів на основі вірусів тютювочної мозаїки і наночастиц благородних металів. Генетическая програмуемость оболочкі ВТМ дозволяє виготовляти производные ВТМ с повышенной селективностью к неорганическим материалам. Последний факт позволяет получать эффективные самосборки наноразмерных биоструктур. Исследованы оптические свойства наноконплексов ВТМ–наночастицы золота. Установлена оптическая активність комплексу ВТМ–Au с максимумом на 540 нм. Наблюдается зависимость интенсивности спектров оптического поглощения от ориентации вектора поляризации. Наличие циркулярного дихроизма открывает возможность использования комплексов ВТМ–Au для создания метаматериалов. Методом зондової туннельної спектроскопії досліджено електронне строение и свойства наноконпозитів. Установлено, что в интервале от 0 до 6 вольт возникают спонтанные и индуцированные переходы в состояние с относительно высокой электропроводностью. Показано, что взаимодействие исследуемых растительных вирусов с антителами приводит к отсутствию агрегации и кластеризации наночастиц композита. Показано химическое разрушение золота после удаления наночастиц ВТМ с поверхности золота. Предложенная методика синтеза нанопроводов предоставляет перспективы разработки отечественных технологий получения наноматериалов на основе растительных вирусов.

Ключові слова: вірус тютювочної мозаїки, органо-неорганічні гібридні наноструктури, самоскладання, зондова мікроскопія, атомно-силова мікроскопія, нанотехнології.

Key words: tobacco mosaic virus, organic-inorganic hybrid nanostructures, self-assembly, probe microscopy, atomic force microscopy, nanotechnologies.

Ключевые слова: вирус табачной мозаики, органо-неорганические гибридные наноструктуры, самосборка, зондовая микроскопия, атомно-силовая микроскопия, нанотехнологии.

(Отримано 23 лютого 2017 р.)

1. ВСТУП

Однією з великотрудних проблем в області нанотехнологій є одержання нанооб'єктів однакової форми і розмірів. Для вирішення цієї проблеми найбільш перспективним є застосування вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ) [1]. ВТМ може бути хемічно і генетично модифікований з метою варіювання фізичних властивостей і адаптації їх до конкретних застосувань. В даний час в світі проводяться інтенсивні дослідження з використання ВТМ у виробництві нанопроволок, наноструктурних тонких плівок, біоміметичних поверхневих сенсорів, мікробатарей високої продуктивності, твердотільної наноелектроніки і інженерії біосистем. Інтенсивність цих досліджень обумовлена тим, що область мікроелектромеханічних систем постійно розвивається і уможливорює більш ефективно мініатюризувати функціональні пристрої і інтегровані системи [2–6]. Однак фундаментальні обмеження мікротехнологій не уможливають вийти за певні межі розмірності. Тому інтеграція наноструктурованих матеріалів в функціональні прилади залишається складним завданням, яке не може бути вирішена за допомогою стандартних методів і матеріалів [7–9].

Віруси тютюнової мозаїки мають характерну структуру, подібну до нанокабеля — порожнисті білкові трубки, всередині яких проходить РНК. Довжина вірусу становить 300 нм, зовнішній діаметер — 18 нм, а внутрішня порожнина має діаметер у 4 нм. Капсид вірусу складається з 2130 молекул білка (мономерів), накручених спіраллю навколо молекули РНК. Мономер білка складається з 158 амінокислотних залишків [10]. ВТМ — термостійкий вірус. Він може витримати 60°C протягом 30 хвилин.

Самоскладання є основною методою синтезу нанорозмірних пристроїв. Сучасні методи синтезу уможливають досягти точного контролю над розміром і формою біоматричних наночастинок. Їхні характерні риси, в порівнянні з напівпровідниками, включають підвищення структурної та функціональної універсальності, самоскладання на поверхні та прогнозовану керованість властивостей. Ці переваги в поєднанні з низькою вартістю одержання прогноують революцію у сучасному техногенному середовищі. Для виготовлення різних наноструктур, зокрема, нановолокон, наночастинок і квантових точок, сьогодні використовують ДНК [11–16], пептиди [18], бактерії [17–20] та білки [21]. Однією з

найперспективніших категорій біологічних наноструктур, що надає унікальні функціональні можливості застосування, є рослини та віруси бактерій. Ці частинки сформовані з високомолекулярних агрегатів нуклеїнової кислоти, що складається з багатьох копій білкової оболонки. Ці молекули показують деякі унікальні переваги: демонструють виняткову стабільність у широкому діапазоні температур і рН та здатність водночас витримувати вплив денатурувальних органічних водорозчинних сумішей [22]. Поміж доступних вірусів, ВТМ є одним з найбільш широко вивчених ниткоподібних структур. Властивості та риси ВТМ, які особливо корисні для інтеграції нанобіоматеріалів у мікросистемні пристрої, — це добре вивчена тривимірна структура [23–26], велика кількість біофізичної інформації про характеристики самоскладання ВТМ на різних підкладках [27], наявність цілого ряду інфекційних клонів з РНК-вірусу, що уможливорює створення нових вірусних структур і поверхонь за допомогою добре вивчених генетичних метод модифікації [28, 29], широкий спектр наявних варіантів оболонки білка з різноманітними властивостями самоскладання [30], можливість одержувати віруси та білкові оболонки із заражених рослин у необмеженому розмірі [31–33] та структурна міцність. Все це робить його придатним для використання за звичайних метод мікротехнологій [31, 34, 35].

Переваги використання ВТМ полягають в тому, що всі частинки ВТМ одного типу ідентичні за структурою, формою і розмірами; віріони (зрілі віруси) ВТМ можуть здійснювати самоскладання і формувати певні організовані структури, наприклад, ланцюги, з'єднуючись кінцями; вони високостабільні як в хемічному, так і у фізичному відношенні і, нарешті, їх можна покривати металами, діоксидом кремнію і напівпровідниковими матеріалами [36–40]. Поверхня вірусу складається з повторюваних амінокислотних ланцюгів. Внутрішня порожнина складається переважно з глютамінової і аспарагінової кислот, зовнішня ж поверхню складена з великої кількості лізінових і аргінінових радикалів. Цей факт надає можливість поверхні вірусу реагувати з наночастинками металів (золото, срібло) [37–39, 41].

Приєднання різних наночастинок до молекули вірусу можна контролювати, змінюючи хемічне середовище взаємодії (рН, присутність окиснювально-відновних агентів) [42–44].

2. БУДОВА, ВЛАСТИВОСТІ ТА ГЕНЕТИЧНА МОДИФІКАЦІЯ ВТМ

Структура вірусу (рис. 1) являє собою порожню трубку у формі стрижня 3000 Å в довжину, зовнішнім діаметром 180 Å та внутрішнім діаметром 40 Å. Довжина дикапсованої геномної рибонуклеїнової кислоти (РНК) обмежує довжину вірусу стрижня.

Капсид вірусу складається з 2130 молекул білка (мономерів), що накручуються спіраллю довкола нитки РНК. Мономер білка складається з 158 амінокислотних залишків, які складаються з чотирьох основних альфа-спіралей, що з'єднані у внутрішні та зовнішні петлі [рис. 1, в]. Молекулярна маса одиниці білка оболонки становить 17,5 кДа, і він утворює спіраль з кроком 23 Å з $16^{1/3}$ оболонки білків за хід. Структуру віріону ВТМ встановлено з роздільною здатністю у 2,9 Å за допомогою рентгенівської дифракції [24].

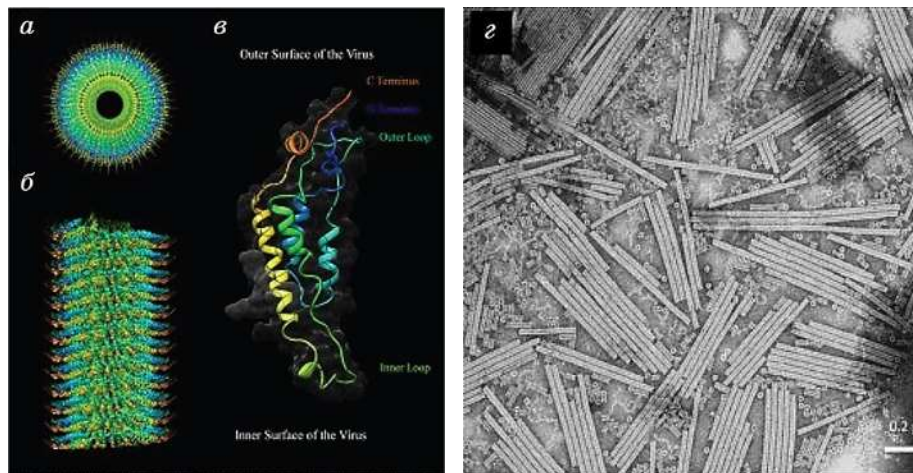


Рис. 1. Структура ВТМ: (а, б) молекулярний модель, що показує зовнішній вигляд і вид збоку віріону ВТМ; (в) схема однієї білкової субодиниці; (г) ПЕМ-зображення вільного типу ВТМ.¹

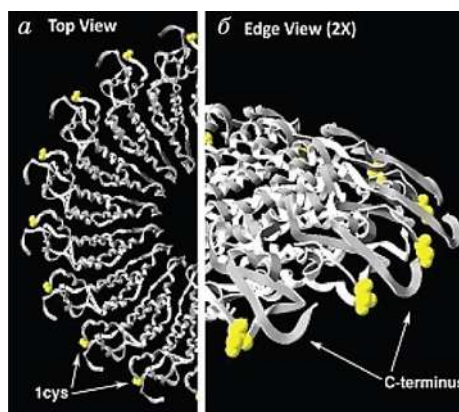


Рис. 2. Розташування структури ВТМ-1Cys мутації. (а) зверху вниз вид, що показує білки оболонки півоберта в стрижні ВТМ і (б) 2×-збільшення того ж місця.²

Модифікації оболонки білка відбуваються, як правило, шляхом додавання пептидів, що складаються з 2–20 амінокислот, або заміною амінокислоти з відповідним аміном. На зовнішній поверхні віріону потенційні місця для модифікації знаходяться на N та C-кінцях (рис. 1, 2).

ВТМ дуже міцний і може витримати нагрівання до температури 60°C протягом 30 хв., рівень рН 5–8 і, навіть, витримку в органічних розчинниках. Деякі дослідження показують, що ВТМ може також витримувати більш жорсткі умови. Модифіковані ВТМ, як правило, обробляються в більш м'яких умовах — 0,1 М рН 7 фосфатному буфері при кімнатній температурі. Віруси можуть також бути повторно суспендовані або діалізовані дейонізованою водою, якщо витримка у фосфатному буфері є небажаною. ВТМ та їх модифікації, як правило, зберігаються при 15°C протягом тривалого періоду часу. Структура і функціональність ВТМ може бути збережена від декількох місяців до декількох років при ідеальних умовах зберігання, що надає істотні переваги ВТМ перед іншими будівельними біоблоками для мікросистем.

2.1. Функціональні покриття на основі вірусу тютюнової мозаїки та наночастинок металів

Нанорозмірні металеві частинки і частинки оксиду металу мають унікальні каталітичні, електронні та сенсорні властивості, тому важливе значення для розвитку наступного покоління мікроприладів має виготовлення однорідних вузлів наноприладів. Синтеза неорганічних матеріалів на основі ВТМ та наночастинок металів пропонує можливість виготовлення конструкцій з регульованим розміром, формою і положенням на нанорівні.

2.1.1. Металопокриття

Покриття ВТМ наноматрицями з різних матеріалів є важливим кроком на шляху інтеграції наноструктурованих матеріалів у функціональні пристрої. Зовнішня поверхня та/або центральний канал з ВТМ можуть бути вибірково металізовані за допомогою хемічного осадження. Хемічне осадження вигідне для біологічних структур оскільки електроосадження не може бути використане через нейтральність біологічних структур. Крім того, зазвичай хемічне осадження забезпечує рівномірне покриття всієї поверхні структур в тому числі нанорозмірних елементів. На першому етапі, поверхня частинки ВТМ активується наночастинками шляхетного металу, одержаними при розкладанні Pt(II) або Pd(II) комплексів. Потім суспензія ВТМ змішується з розчином,

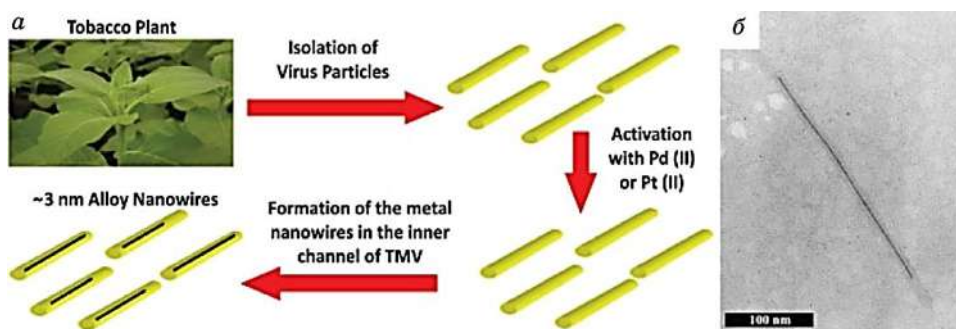


Рис. 3. *a* — Схематичне зображення синтези металевих нанодротів у внутрішньому каналі частинки ВТМ. *б* — СЕМ-зображення одного віріону, що містить всередині внутрішнього каналу ніклевий дріт довжиною приблизно 250 нм [45].³

що містить йони металів, комплексоутворювачі, а також відновник. Осадження спочатку каталізується шляхетними металевими наночастинками, а потім проходить автокаталітично. Таким чином досягається подальший ріст металевих частинок.

Селективністю по внутрішній або зовнішній поверхні покриття можна керувати за допомогою присутності або за відсутності іонів фосфату в суспензії ВТМ [45]. Зовнішня поверхня оболонки білку ВТМ переважно складається з кисневмісної групи (наприклад, гідроксильної або карбоксильної), а всередині внутрішнього каналу переважають групи аміну, первинного аміду і гуаніду.

Для покриття внутрішнього каналу металом віріони були діялізовані до активації та металізації для того, щоб видалити Na/K фосфатбуфера. У результаті, за відсутності йонів фосфату (рис. 3), неметалеві частинки утворюють покриття на зовнішній поверхні вірусу. Крім того, бульбашки водню, які утворюються під час металізації, можуть запобігти утворенню металевих кластерів на зовнішній поверхні вірусу. Металеві кластери ростуть на внутрішньому каналі, формуючи металеві нанодроті до 600 нм у довжину. Чисті металеві (Ag, Ni, Co, Cu, Pt) та зі стопів (Co/Fe, Fe/Pt, Co/Pt) нанодроті у 3–4 нм діаметром були синтезовані в центральному каналі ВТМ. Нанодріт ВТМ–Ni довжиною приблизно у 250 нм зображено на рис. 3, б. Срібні нанодроті можна виростити всередині генетично модифікованих ВТМ-E95Q/D109N. Для потреб наноелектроніки металеві нанодроті можна виділити з біологічної оболонки шляхом розкладання у кисневій плазмі.

При наявності фосфатних йонів вони прикріплюються до зовнішньої поверхні вірусу, сприяючи селективному відновленню іонів металу під час етапу активації поверхні в процесі хемічного осадження. У цьому випадку утворюються великі кластери металів

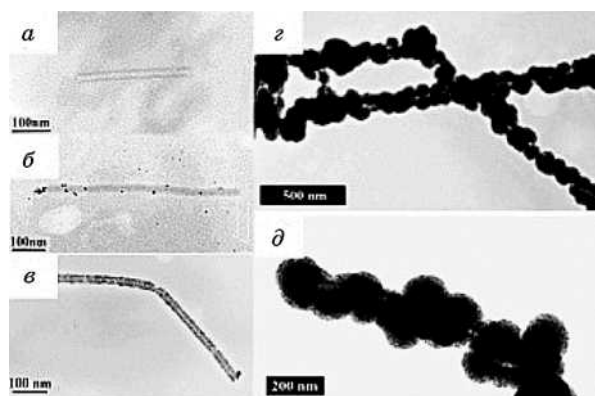


Рис. 4. ПЕМ-зображення (а) частинки ВТМ (контури зображено темним, білкова оболонка та центральний канал — прозорі); (б) ВТМ після адсорбції (активації) Pd(II) з подальшою відновною [46]; (в) два ВТМ, густо вкриті частинками паладію; (г, д) Pt(II)-ВТМ, попередньо металізовані (г) ніклем і (д) кобальтом.⁴

виключно на зовнішній поверхні ВТМ (рис. 4). При використанні вільного ВТМ для металізації в присутності йонів фосфату, осадження кластерів металів на зовнішній поверхні вірусу проходить без утворення гомогенних плівок. Коли суспензія ВТМ обробляється PdCl₄ і додається відновник, одержується зовнішня поверхня ВТМ покрита паладійовим шаром. Осадження платини на зовнішній поверхні ВТМ було досягнене в розчинах, що містять PtCl₆²⁻. Довжина кроку активації відіграла важливу роль. Для різного часу активації спостерігалися шари металів різної морфології (кілька дрібних частинок в порівнянні з об'єднаними частинками що утворюють шар). Покриття з нікелю та кобальту, які склалися з великих зрощених частинок, показано на рис. 4, в, д.

Виготовлення мікро/нанорозмірних пристроїв з використанням розчинних хемічних процесів та біопідкладок потребує рівномірних неорганічних покриттів по всій поверхні біологічних молекул. Однак, коли розмір поверхні мішені покриття зменшується до нанометрового масштабу, контролювати рівномірність стає складно. Як було описано вище, при використанні вільного ВТМ, зменшення солі металу призводить до неефективності і нерегулярного зародження віріонів металу (рис. 4), через зародження випадкових місцевих утворень на поверхні віріону. Задача одержання рівномірного і безперервного покриття на всій поверхні біопідкладки залишається фундаментальним завданням в синтезі неорганічних матеріалів з використанням біопідкладок.

Модифікація цис-залишками, що містять тіольні групи, на поверхні ВТМ підвищує зв'язувальну здатність металу. Сильний

ковалентний зв'язок між тіольними групами і металами робить тіольні сполуки ефективним методом для досягнення рівномірного металевого покриття на поверхні ВТМ. Мутовані ВТМ-1Cys і ВТМ-2cys були використані для покриття вірусу з Au, Ag, Pd і Au/Pd. У всіх випадках спостерігалось поліпшене осадження кластера металу з формуванням більш рівномірного покриття в порівнянні з вільним ВТМ.

У генетично модифікованих мутованих вірусів ВТМ-1Cys при самоскладанні на поверхні золота переважає вертикальна орієнтація. Така самоорганізація віріону ВТМ-1Cys частинки вигідна для використання в якості надійних матриць для осадження нікелю і кобальту, для створення пористих 3D-металізованих мереж, з орієнтованих частинок вірусу з металевим покриттям. Для самоорганізації ВТМ із золотим покриттям підкладинки витримуються в суспензії, що містить молекули ВТМ-1Cys протягом 1–2 днів. Після цього поверхня ВТМ активується паладійовим катализатором з подальшою нікелевою (або кобальтовою) реакцією хемічного осадження. Завдяки автокаталітичній природі Ni- або Co-покриття формується рівномірне металеве покриття навколо ВТМ. Металевий шар є жорстким і може бути використаний для роботи з електродами [47].

Покриття оксидом цинку на поверхні ВТМ вперше було досягнутий активацією поверхні вірусу з Pd(II) і послідовного ZnO зародження під хемічним осадженням. Єдині нанодропи ZnO з точно контрольованою товщиною покриттям синтезували на частках ВТМ іммобілізованих на кремнійових підкладинках з водного лужного розчину без активаційного кроку. Покриття складається з тісно упакованих сферичних полікристалічних ZnO наночастинок.

2.1.2. Багатошарові покриття

При послідовному покритті наночастинками поверхні можна створити структури ядро/оболонка з унікальними властивостями. Багатошарові покриття на зовнішній поверхні ВТМ можуть бути створені за допомогою різних метод. Наприклад, покриття SiO₂/Pt були одержані на вільному ВТМ гідролізом і реакцією конденсації тетра-етил-орто-силікатами (ТЕОС) у водному металічному розчині при рН > 7. Примітно, що вірусні частинки залишалися стабільними в спирт-водному розчині (з концентрацією води ≥ 40%), хоча спирти зазвичай розкладають білки. Надійність ВТМ при таких жорстких умовах підтверджує перспективність використання ВТМ як матриці для синтезу наноструктур.

Платинова металізація проводилася в розчині K₂PtCl₄. При утворенні SiO₂/Pt-покритих частинок на ВТМ у ТЕОС-ванні на поверхні другого шару відкладався SiO₂, утворюючи SiO₂/Pt/SiO₂ структуру.

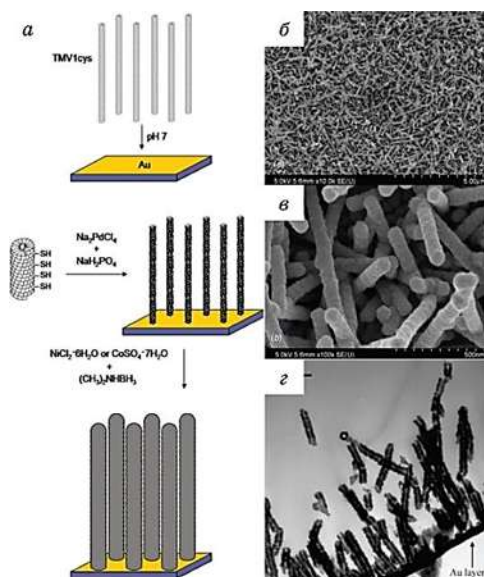


Рис. 5а. *a* — Схема складання нікелевого і кобальтового покриттів на BTM-1Cys, прикріплених до поверхні золота. *б, в, г* — СЕМ-зображення різного масштабу самоорганізованих наноструктур BTM-Ni [47].⁵

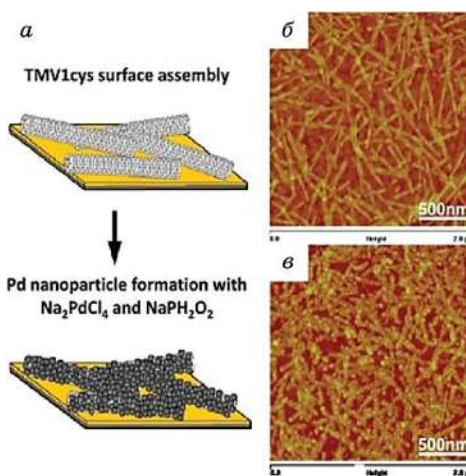


Рис. 5б. *a* — Принципова схема, що представляє горизонтальне складання BTM-1Cys на поверхні золота з подальшою металізацією відновника попередника Pd. *б* — АСМ-зображення поверхні складеного BTM-1Cys на золотому чипі. *в* — АСМ-зображення наночастинок Pd, сформованих на поверхні складеного BTM-1Cys [48].⁶

Покриття оксидом цинку поверхні BTM вперше було досягнуто активацією поверхні вірусу Pd(I) і послідовним зародженням наночастинок ZnO в процесі хемічного осадження. Нанодропи ZnO з точно контрольованою за товщиною покриттям синтезували на BTM, іммобілізованих на кремнійових підкладках, з водного лужного розчину без активаційного кроку. Одержані покриття склалися з щільноупакованих сферичних полікристалічних ZnO наночастинок. Порівняння необробленої BTM з частинками BTM після одного і п'ятьох циклів осадження проведено на рис. 5 і 6.

2.1.3. Самоскладання, позиціонування та структурування

Для керування процесом збірки і моделювання BTM у функціональній структурі важливо навчитись використовувати унікальні властивості вірусу. Хоча процес морфології та збірки вірусу було

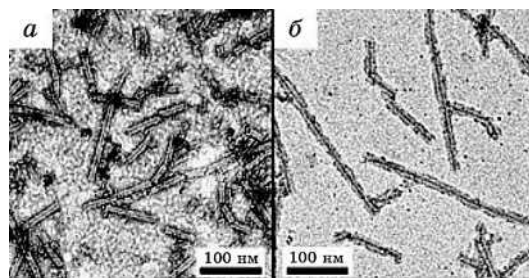


Рис. 6а. *a* — ПЕМ-зображення ВТМ, обробленого TiO_2 ALD; *б* — після ультразвукового оброблення TiO_2 частково віддалена від зовнішньої поверхні і в основному внутрішньому каналі ВТМ раніше покриті TiO_2 [49].⁷

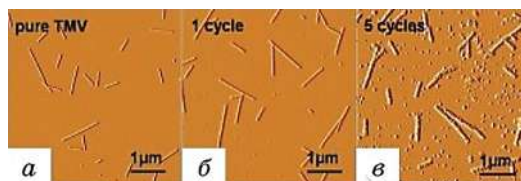


Рис. 6б. АСМ-амплітудні зображення ВТМ-нанодротів, мінералізованих ZnO на кремнієвих підкладках. Товщина нанодротів збільшується з кількістю циклів осадження [50].⁸

широко та всебічно досліджено, ми акцентуємося на дослідженні «незвичайних» властивостей ВТМ. ВТМ — універсальні підкладки, які можуть бути геометрично організовані за допомогою спеціальних умов оброблення.

По-перше, природа самоскладання білкового покриття ВТМ може бути змінена, для одержання нових конфігурацій і ВТМ також можуть бути об'єднані з кремнеземом і полімерами, де ВТМ відіграє роль підкладок для цих матеріалів.

По-друге, деякі із способів позиціонування вже розроблені для ВТМ, так окремі частинки ВТМ безпосередньо маніпулюються атомно-силовою мікроскопією, але методи швидкого виготовлення шаблонів ВТМ на великих поверхнях тільки нещодавно почали реалізовуватися. Деякі з цих метод, такі як конвективне осадження або штампування, безпосередньо управляють частинками, в той час як інші, такі як методи відриву і ДНК-гібридизації, контролюють положення за допомогою хемічного оброблення.

2.2.1. Самоскладання

Ансамблі нанорозмірних стержнів і дисків можуть бути одержані з білків ВТМ модифікованих гістидином за допомогою контролю се-

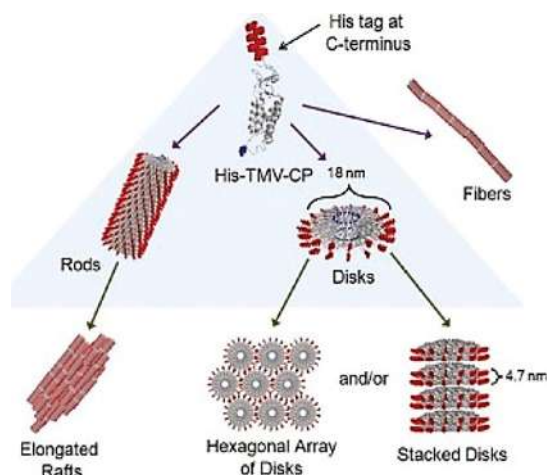


Рис. 7. Самоорганізовані структури ВТМ (Гіс-тег показаний на зовнішній частині кожної білкової оболонки) [51].⁹

редовища складання. Гексагістидиновий (Гіс) тег є амінокислотою, яка кріпиться до N- або C-кінців протеїнів і широко використовується в очищенні рекомбінантних білків. Коли ця модифікована версія білку оболонки ВТМ збирається в стрижні або диски, на зовнішній поверхні структури залишається його залишок. Тобто додаванням Гіс-тегу до білку оболонки ВТМ вони можуть бути контрольовано організовані у волокна, пучки, гексагональні ґратниці, окремі диски або вертикально складені диски (рис. 7). Складання контролюється маніпулюванням концентрацією фосфатного буфера, рН і додаванням комплексу Ni–NTA (нітрілотриуксусна кислота) або етанолу. Вважається, що концентрація іонів впливає на екранування поверхневого заряду оболонки білка і таким чином взаємодія при складанні відбувається на зовнішній поверхні шару білка. З іншого боку, рН впливає на збірку білкової оболонки в їх природних переважаючих спіральних структурах. Гіс-тег продукує міжчастинкові взаємодії й уможливорює організацію; однак додавання комплексів Ni–NTA до розчинів інгібує цей ефект.

2.2.2. Направлене позиціонування і структурування

Частинки ВТМ можуть бути зорієнтовані простими процесами в потоці рідини і повітря. У водному розчині частинки ВТМ орієнтуються за допомогою сушки або видаленням краплі за рахунок капілярної сили і фільтрувального паперу. Віруси вирівнюються в напрямку потоку рідини, швидше за все, через поперечні сили поблизу межі поверхні рідини.

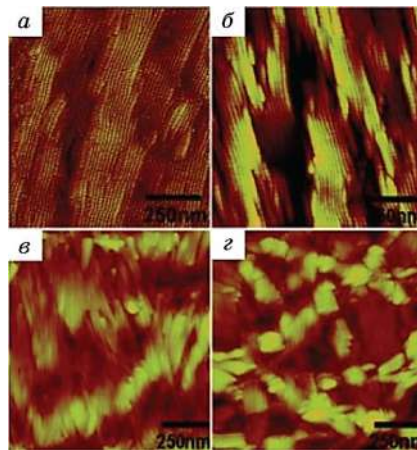


Рис. 8. АСМ-зображення ВТМ, зібраного на (а) аміні, (б) оксиді кремнію (в) акрілоксі- та (г) метил-кінцевих поверхнях. Знімки показують сильну залежність вірусного впорядкування від поверхневої енергії підкладки [52].¹⁰

Метода нагнітання повітря підходить для поверхонь з сильною взаємодією ВТМ, таких як високополярні поверхні, а метода бічного всмоктування рідини придатна для поверхонь зі слабкою взаємодією ВТМ, наприклад, вуглецю. Характерний час дифузії для частинок ВТМ від краплі до поверхні становить близько 1 год. при концентраціях 0,1 мг/мл. Це демонструє простий спосіб формування орієнтованих ВТМ без необхідності виготовлення моношару або рідкого кристалу.

Детальне вивчення параметрів процесу конвективного осадження ВТМ виявило різні орієнтації та товщини ВТМ (рис. 8). Під час конвективних осаджень ВТМ осідає з суспензії, яка утримується між рухомих шаром і субстратом.

Сполучення формується на передньому краї рідини, сушка відбувається на задньому краї предметного скла. Шерсткість поверхні кінцевої плівки ВТМ є функцією поверхневої енергії підкладки, де збільшення шерсткості поверхні корелює із збільшенням кута в'язкості води. Орієнтація, щільність пакування, і товщина контролювано змінюється, залежно від концентрації вірусу і швидкості збірки. Спостерігається чотири режими складання: (1) неповне моношарове з паралельною орієнтацією, (2) моношарове з паралельною орієнтацією, (3) багатошарове з нерегульованою орієнтацією і (4) багатошарове з антипаралельною орієнтацією.

2.3. Застосування зондування

Віруси тютюнової мозаїки володіють багатьма привабливих ри-

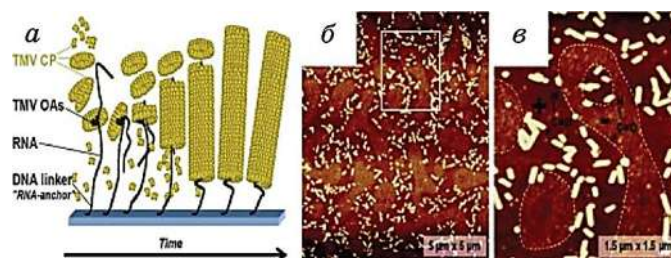


Рис. 9. *a* — Схема РНК-спрямованого складання; *б* — АСМ-зображення рельєфу стрижнів ВТМ СР (крупним планом (*є*)) [53].¹¹

сами, які є вигідними для застосування. ВТМ є наноструктурою, що має високий потенціал для утворення зв'язків. Здатність ВТМ бути генетично модифікованими уможливорює їм не тільки мати високу селективність, але також дає можливість розробки та створення різних конструкцій для широкого спектру аналітичних застосувань. Крім того, його надійність і стійкість до рН уможливають ВТМ бути легко інтегрованим як рецептор в сенсорних системах. Тут ми зазначимо використання ВТМ для хемічного та біологічного зондування та їх розвиток у бік мініатюрних платформ. ВТМ використовується як фізіологічний компонент — РНК і білкові оболонки, як зонд для визнання речовин.

Вірусна РНК забезпечує кістяк структури для самоскладання білкової оболонки. Ця РНК також може бути використана як зонд. Такі зонди-давачі досліджено і розроблено з потенційними застосуваннями у виявленні мутацій і генній терапії.

2.3.1. Зонд РНК і гібридизація ДНК

Часткове віріонне розкладання вірусного генома реалізується шляхом регулювання рН до рН 8. Ї [33] вперше продемонстрував, що ВТМ може бути модифікований шляхом іммобілізації комплементарних ДНК зондів. Флюоресцентна томографія, використовується для візуалізації і характеристики збірки ВТМ. Це стало можливим завдяки тількиму маркеру на зовнішній поверхні ВТМ-1Сус. Перевага маркованих ВТМ в порівнянні зі звичайними ДНК або зондами ДНК є висока густина флюоресцентних міток, які можуть бути реалізовані на поверхні ВТМ, викликаючи більш значний флюоресцентний сигнал на одну ДНК гібридизацію. Це дослідження показало подвійну здатність ВТМ-1Сус діяти в якості як селективного зонда для гібридизації ДНК, так і прояву флюоресцентного індикатора з поліпшеними характеристиками.

Ї [33] показав, що РНК-зонд ВТМ-1Сус може бути вдосконалим, якщо використати вірусні нанопідкладки. Використовую-

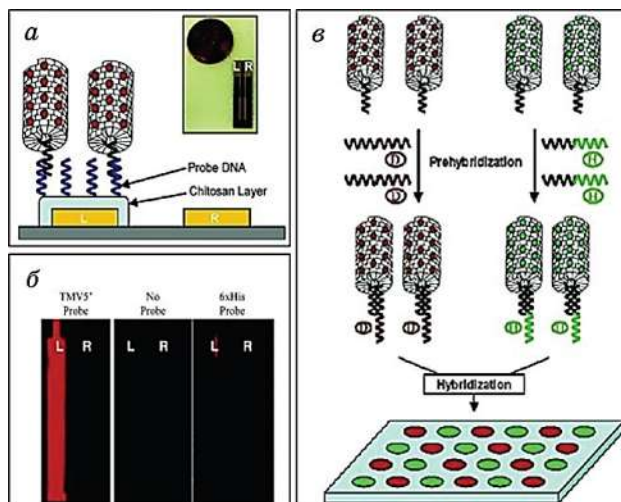


Рис. 10. *a* — РНК, вибірково гібридизована з ДНК; *б* — люмінесцентні зображення; *в* — діаграма гібридизації.¹²

чи перевагу частково незахищеного РНК в нанопідкладках ВТМ-1Cys, вірус може бути попередньо гібридизований з ДНК-компонувальником. Компонувальник ДНК виконує роль доповнювача до відкритої ВТМ-1Cys РНК на першій половині компоненту. Інша половина запрограмована для захоплення послідовності зондів ДНК, що вибірково іммобілізується на поверхні кристалу (рис. 10). Догібридизований ВТМ-1Cys може самоскладатися в адресні ДНК-зонди. Щоб відрізнити два по-різному запрограмованих компонентуальників ДНК спостерігають різну за кольором флюоресценцію.

Щоб мати більшу різноманітність запрограмованої ДНК послідовності без введення додаткової флюоресцентної диференціації міток, були реалізовані різні платформи. Робота показала здатність ВТМ бути повністю інтегрованим в перспективні детектори.

2.3.2. Детектування за допомогою модифікації білка оболонки

РНК ВТМ є місцем ДНК-гібридизації. Зовнішня поверхня білкової оболонки ВТМ має тисячі місць, які можуть бути використані для селективного зв'язування. Бракман та ін. хемічно функціоналізували вільний ВТМ з олігоаніліном (ВТМ:OANI) з метою детектування летких органічних сполук (ЛОС). Опір визначався двома електродами мірянням зміни провідності через шар рецепторів ВТМ:OANI. Експерименти показали, що ВТМ:OANI має велику селективність до етанолу і метанолу.

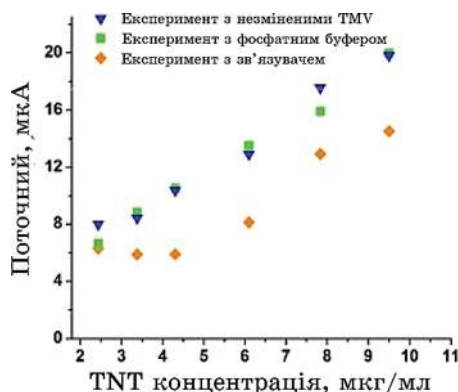


Рис. 11. Пікові струми скорочення TNT з використанням фосфату буфера — немодифікованого сполучного агента ВТМ і ВТМ–TNT–BP.¹³

Білковий шар також показав широкий діапазон зв'язків на зовнішній поверхні, в тому числі послідовності олігопептиду. Короткі послідовності пептидів є особливо цікавими в зв'язку з їхнім потенціалом до високої спорідненості та селективності. На сьогоднішній день метод використаний для ідентифікації численних одноланцюгових антитіл, а також рецепторів пептидів, які зв'язуються з численними патогенами і токсинами. Гнучкість та інтеграція є двома важливими чинниками в розвитку надійних і універсальних систем зондування. Надійність архітектури та генетичної керованості ВТМ робить його виключно гнучкою платформою для контрольованого детектування пептидних рецепторів на різних підкладах.

ВТМ–TNT (тринітротолуол) також використовується як речовина в електрохімічному сенсорі для детектування. Піковий струм показує лінійну залежність від концентрації TNT в системі. За допомогою введення ВТМ–TNT до розчину TNT спостерігався менший спад струму (рис. 11). Це пов'язано зі зв'язками TNT з пептидом, в результаті чого молекули TNT втрачають рухливість, що приводить до зниження спаду струму. Різниця в піковому струмі між використанням немодифікованого ВТМ і ВТМ–TNT зростає до насиченої різниці 4,5 мкА, починаючи з концентрації TNT 4,3 мкг/мл (46% абсолютного пікового струму порівняно з контрольованим). Ця різниця струму може бути використана для детектування TNT.

3. ДОСЛІДЖЕННЯ ОПТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВТМ–НАНОЧАСТИНКИ ШЛЯХЕТНИХ МЕТАЛІВ

Методика одержання гідрозолей срібла базується на відновленні

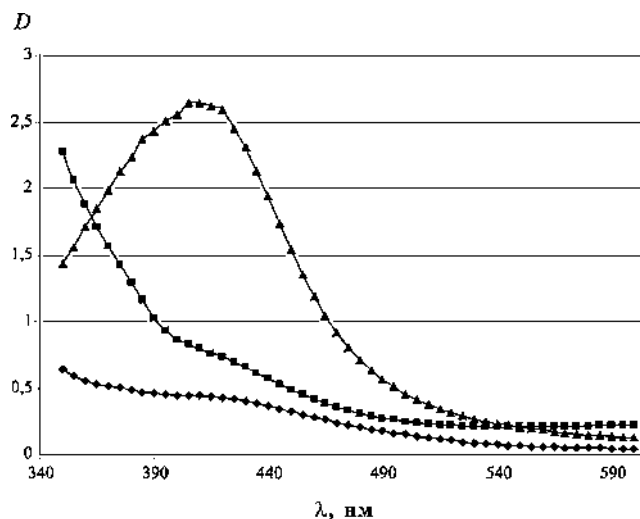


Рис. 12. Оптичні спектри гідрозолей срібла, одержаних: ◆ — у еквімолярних співвідношеннях нітрату срібла і таніну; ■ — у надлишку таніну; ▲ — у надлишку срібла.¹⁴

нітрату срібла таніном у присутності буферного розчину тетраборату натрію і гідроксиду натрію (рН = 9,8). У реакційну ємність при кімнатній температурі вводився буферний розчин (рН = 9,8) розчин таніну, після, при безперервному перемішуванні, зі швидкістю 1,3 мл/хв вводився розчин AgNO_3 . У синтезі використовували водні розчини нітрату срібла і таніну: 1) у еквімолярних співвідношеннях, 2) у десятикратному надлишку таніну, 3) в десятикратному надлишку нітрату срібла. На рисунку 12 наведено оптичні спектри золів у кварцових кюветах з довжиною оптичного шляху 10 мм і діяпазоні 350–600 нм. На кривих спостерігається формування плеча, а при надлишку срібла чітко виражена смуга при $\lambda = 420$ нм.

З метою дослідження впливу типу розчинника на характеристики золів синтезу нанорозмірних частинок срібла проводили з використанням 96% розчину етанолу. Максимум смуги поглинання оптичного спектру в етанолі зміщений в довгохвильову область порівняно з гідрозолем (рис. 13).

Дослідження одержаних нанодротів було проведено в ультрафіолетовому та видимому діяпазоні довжин хвиль на двопробному спектрофотометрі SPEKOL. Визначено наявність одного максимуму на 540 нм на графіках залежності оптичної густини нанодротів, що вказує на оптичну активність нанодротів в цьому діяпазоні. Слід зазначити, що для чистих вірусів піки відсутні (рис. 14).

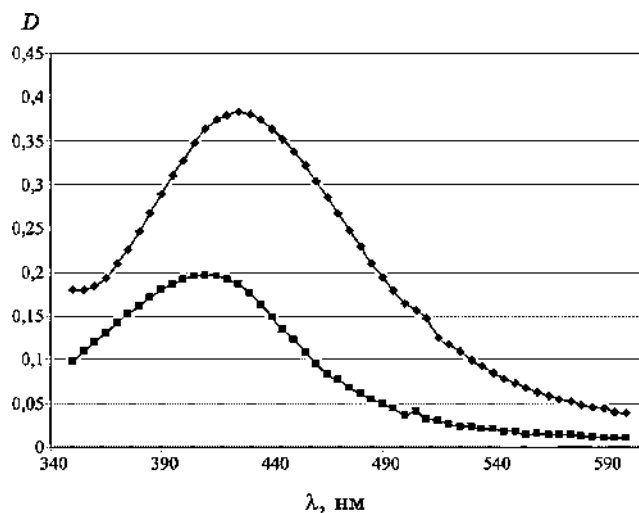


Рис. 13. Оптичні спектри: \blacklozenge — золь срібла в етанолі; \blacksquare — гідрозоль срібла.¹⁵

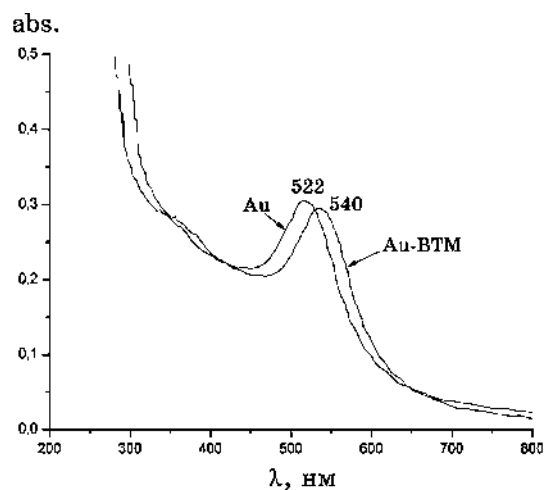


Рис. 14. Оптичні спектри чистих наночастинок і нанодотів BTM-Au.¹⁶

Одержані результати підтверджуються даними роботи [54] та вказують на наявність оптичної анізотропії. BTM є паличкоподібним вірусом, що складається з правої винтової однітчасткої рибонуклеїнової кислоти та має позитивний пік на спектрі циркулярного дихроїзму (ЦД) при 190 нм і негативний пік при 209 нм, які зумовлені збудженням і переходом з π до π^* з оптичними диполями перпендикулярно і паралельно осі відповідно [54].

Піки для наночастинок золота на спектрах ЦД в області 200–

300 нм не спостерігаються; для комплексу ВТМ–Au спостерігається негативний пік ЦД на 222 нм і максимум на 540 нм на оптичних спектрах. Це вказує на кореляцію циркулярного дихроїзму і спектрів плазмонного резонансу ВТМ–Au та кореляцію плазмонного резонансу й оптичної активності, а також на наявність в комплексі ВТМ–Au двох типів хіральних структур: правих амінокислот та правих α -спіралей з амінокислот, якщо розглянути ВТМ–Au як хіральне середовище, в якому показники заломлення для правосторонньої та лівосторонньої поляризації в напрямку поширення $+x \in n_+$ і n_- відповідно, враховуючи, що показники заломлення залежать від напрямку поширення: правостороннє (лівостороннє) поляризоване світло в напрямку $-x$ відповідно n_+ (n_-). Така різниця показників заломлення відіграє істотну роль в одержаних результатах — хіральне середовище відноситься до нормального середовища з показником заломлення n . Довжина нормальної та кіральної складової середовища — l і $L-l$ відповідно. Відношення коефіцієнта пропускання для правосторонньої поляризації t_+ і лівосторонньої поляризації t_- розраховується методом матриць переносу. t_-/t_+ виражається як

$$\frac{t_-}{t_+} = e^{-2i(\theta_+ - \theta_-)} \frac{A_{+-}}{A_{-+}} \quad (1)$$

де

$$A_{+-} = \left(\cos \theta - \frac{i}{n} \sin \theta \right) \left[n_+ e^{i\alpha_{+-}} + n_- e^{-i\alpha_{+-}} + n_+ n_- (e^{i\alpha_{+-}} - e^{-i\alpha_{+-}}) \right] + (\cos \theta - ni \sin \theta) (e^{i\alpha_{+-}} - e^{-i\alpha_{+-}} + n_- e^{i\alpha_{+-}} + n_+ e^{-i\alpha_{+-}}),$$

з $\theta = kl/n$, $\theta_{+-} = kl/n_{+-}$ та $\alpha_{+-} = kl/n_+ - kL/n_-$.

Перший фактор правої частини рівняння (1) $e^{-2i(\theta_+ - \theta_-)}$ дає оптичну активність без впливу нормального середовища. Другий фактор A_{+-}/A_{-+} відповідає ефекту приєднання нормального середовища до кірального середовища та відображає оптичну активність. $A_{+-}/A_{-+} \neq 1$ означає модифікацію оптичної активності. Плазмонна частота A_{+-}/A_{-+} є значно більшою через плазмонний резонанс, що приводить до значного підвищення оптичної активності. З іншого боку, в УФ-області $A_{+-}/A_{-+} \sim 1$, що має підвищити оптичну активність комплексу. Оптична активність комплексу в УФ-області не менша, аніж у кірального середовища.

Цей простий модель забезпечує несуперечливе пояснення одержаних експериментальних результатів та відкриває можливість використання комплексів ВТМ–Au для створення 3D-метаматеріалів.

4. ДОСЛІДЖЕННЯ ЕЛЕКТРОННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАНОДРОТІВ ВТМ–Au

Методом зондової тунельної мікроскопії та спектроскопії було проведено дослідження електронних властивостей вірусів та нанокompatитів на основі ВТМ та наночастинок золота. Експерименти проводились на приладі фірми JEOL (JEOL 4500).

Дослідження електронних властивостей одержаних нанодротів (рис. 15) уможливили встановити, що при скануванні в інтервалі від 0 до 6 вольт виникають спонтанні й індуковані переходи в стан з відносно високою електропровідністю, причому для чистих

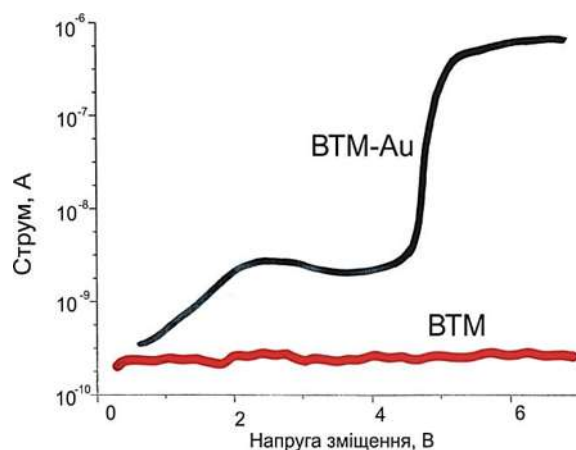


Рис. 15. Залежність I – V для нанодроту ВТМ–Au і чистого вірусу ВТМ.¹⁷



Рис. 16. Вольт-амперні характеристики нанодротів ВТМ–Au.¹⁸



Рис. 17. Вольт-амперні характеристики нанодротів ВТМ–Au.¹⁹

ВТМ цей ефект не спостерігається.

Вольт-амперні характеристики нанодротів ВТМ–Au показують різке зміщення при прикладанні напруги у 3,1 В та наступну стабілізацію у новому значенні (рис. 16). До досягнення напруги у 3,1 В струм зростає поступово. При зменшенні напруги до –2,4 В система повертається до начального стану (рис. 17).

Спостережуване «перемикання провідності» в подальшому може бути використане для створення цифрових записуючих пристроїв з високою щільністю запису інформації. Принцип дії такого пристрою буде базуватися на передачі заряду від оболонки вірусу до наночастинки при ввімкненні зовнішнього електричного поля. Кожна така гібридна одиниця ВТМ–Au може працювати як енергонезалежний запам'ятовувальний пристрій; при цьому її провідність може перемикатися між високим та низьким рівнем, що відповідає логічним «нулю» та «одиниці». Однак необхідно провести підбір шару, який буде стабілізувати захоплений заряд, що уможливить зберігати інформацію.

5. ДОСЛІДЖЕННЯ АДГЕЗІЙНИХ ТА ОКИСНЮВАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВІРІОНІВ ВТМ НА ПОВЕРХНІ МОНОКРИСТАЛУ КРЕМНІЮ

Методами атомно-силової мікроскопії досліджено адгезійні властивості вірусу тютюнової мозаїки на поверхні кремнію з напорошенням золота. Встановлено суцільне покриття поверхні ВТМ наночастинками золота. На відміну від наночастинок золота, одержаних хемічною синтезою, які, розташовуючись поблизу ві-

русів, знаходяться переважно у їхніх кінців, а рідше — по краях від вірусів. Висота одержаних дротів, обрахована по даним одержаних зображень, становила $10,5 \pm 0,9$ нм, що у межах похибки вимірювання добре співпадає зі значенням діаметра частинки ВТМ, обрахованим іншими методами (рис. 18).

Встановлено наявність частинок, довжина яких приблизно у два рази більша за значення, що припадає на максимум (300 нм), що свідчить про здатність віріонів стикуватися «торець в торець».

При підвищенні концентрації ВТМ разом зі стиковкою «торець в торець» спостерігається також агрегація вірусних частинок

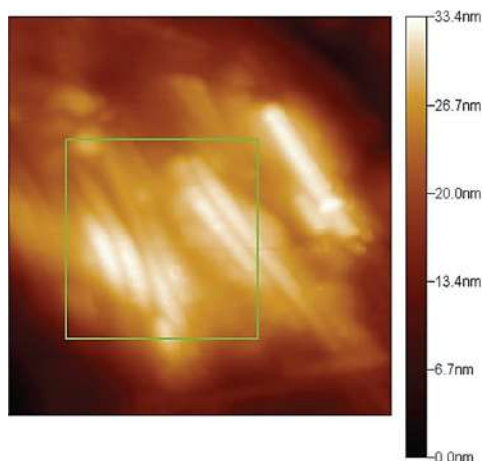


Рис. 18. АСМ-знімок нанодротів ВТМ–золото на монокристалі Si(111).²⁰

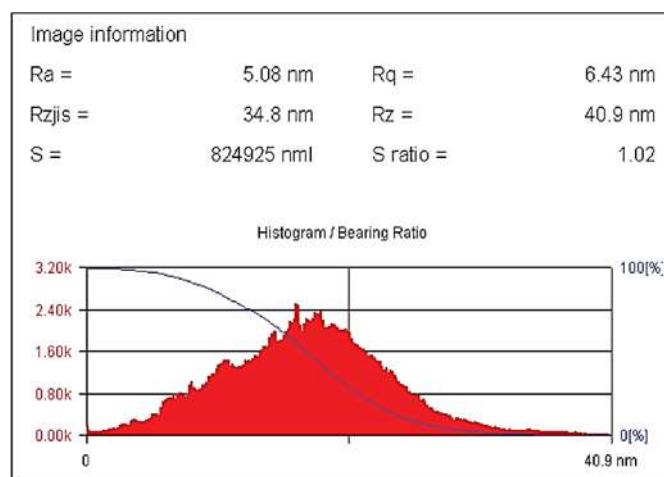


Рис. 19. Переважне розташування нанодротів у зеленому квадраті на рис. 18.²¹

«бік у бік», причому у такій взаємодії можуть брати участь до десятка частинок (рис. 19).

Наявність подібних агрегатів у вигляді острівців на підкладинці з кремнію дає підстави припустити кооперативний механізм такого зв'язування вірусних частинок між собою. Встановлено пріоритетний напрямок в орієнтації частинок ВТМ на поверхні кремнію, який співпадає з направленістю кристалографічних осей кремнію.

Після одержання нанодротів при використанні термічної методи нанесення золота було проведено визначення міцності зв'язування вірусів з поверхнею металів та напівпровідників за допомогою атомно-силової мікроскопії.

Після видалення ВТМ з поверхні золота, проведено дослідження морфології поверхні методом атомно-силової мікроскопії. Дослідження вимірювання показали істотну зміну рельєфу золота.

Глибина каверн, що утворилися, досягала 2 нм, а ширина — 18 нм, що уможливорює передбачити, що вони утворені вірусами (рис. 20). Цей результат є важливим, враховуючи низьку пасивацію золота. Є декілька припущень відносно характеру взаємодій віріонів з золотом. Є два види адсорбції: фізична та хемічна; фі-

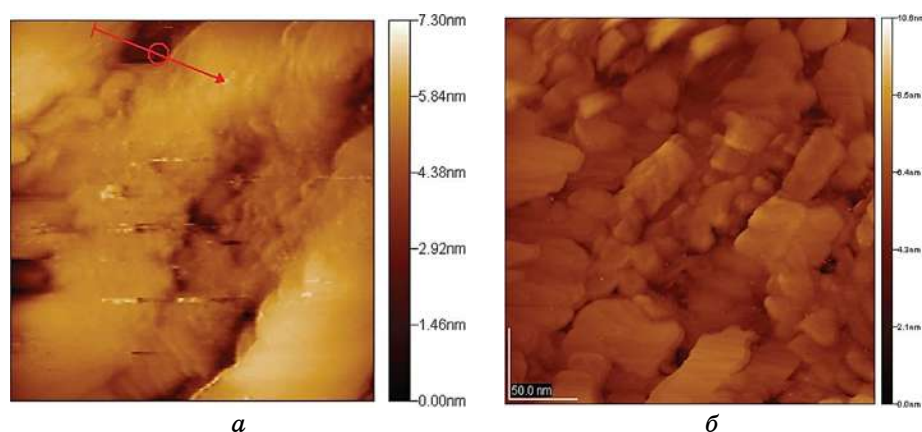


Рис. 20. Зображення поверхні золота після видалення ВТМ.²²

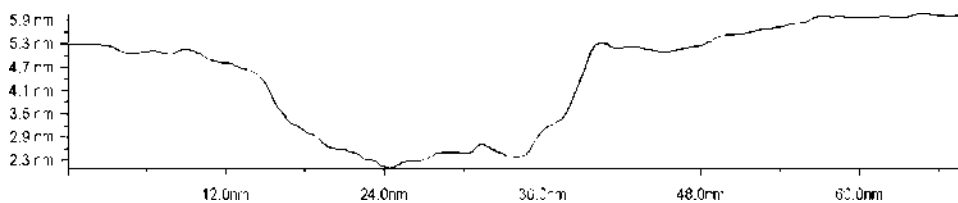


Рис. 21. Характерний профіль перерізу каверн поверхні золота після видалення віріонів ВТМ.²³

зична полягає у дії Ван дер Ваальсових сил, створенні водневих і інших зв'язків електростатичного характеру; хемічна виникає за рахунок хемічних взаємодій між речовинами.

Наявність характерних канавок від віріонів свідчить про високу хемічну активність віріонів ВТМ (рис. 21).

6. ПОВЕДІНКА ВІРУСІВ ВТМ ТА ВМЛ ПРИ ВЗАЄМОДІЇ З АНТИТІЛАМИ

Віруси складаються з нуклеїнової кислоти та глобулярних білкових молекул і є найпростішими формами живих організмів. Вірусна частинка не має власного апарату відтворення, однак, проникаючи в клітину, забезпечує власну реплікацію за рахунок синтезу інфікованою клітиною вірусних білків. Розміри вірусних частинок коливаються у межах від 15 до 1200 нм. Окрім біологічних ознак (здатність до відтворення, інфекційність), віруси мають багато інших властивостей. Зокрема, вірусні частинки здатні утворювати кристали з корисними оптичними властивостями. Наявність великої кількості зарядів на внутрішній і зовнішній поверхнях віріонів уможливило одержувати наночастинки матеріалів за допомогою біоміметичної методи. Здатність вірусів проникати до клітини може бути використана для створення новітніх внутрішньоклітинних нанозондів і наносенсорів. Найперспективнішими для застосування у нанотехнології є віруси рослин, оскільки вони є безпечними для людини та тварин, можуть бути одержані у великій кількості та здатні витримувати модифікації.

Для дослідження поведінки паличкоподібних вірусів, що мають спіральну симетрію, згідно з якою облаштовано їхні білкові субодиниці, (зокрема, вірусів тютюнової мозаїки та вірусу мозаїки люцерни (ВМЛ)) було використано методу зондової мікроскопії високої роздільної здатності.

Були використані суспензії ВТМ з концентрацією 12 мг/мл та ВМЛ з концентрацією 10 мг/мл. Суспензії наносились на поверхню монокристала кремнію Si(111) за допомогою мікрошприца. Висушування поверхні Si(111) проводилось у струмені сухого азоту, після чого зразок вносився до робочої камери атомно-силового мікроскопу (АСМ). Залишковий тиск у камері зондування становив $3,0 \cdot 10^{-8}$ Па. Для зондування поверхні використовували кантилевери виготовлені з нітриду кремнію Si_3N_4 . Дослідження вірусу на поверхні монокристалу проводилось в безконтактному режимі АСМ з атомовою роздільною здатністю.

Під час експерименту було досліджено взаємодію ВТМ з поверхнею Si(111) при нанесенні свіжої суспензії вірусів та через 4 місяці після її приготування. Одержані результати були порівняні з результатами дослідження взаємодії ВМЛ з ідентичною поверхнею.

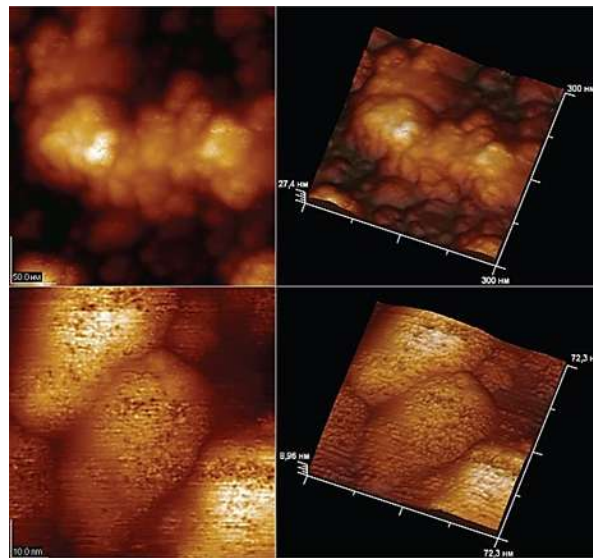


Рис. 22. Віріони ВМЛ на поверхні Si(111) при нанесенні свіжої суспензії віріонів.²⁴

Найбільш цікавим залишається питання механізму протидії агрегації віріонів. Для цього нами було досліджено поведінки вірусів на поверхнях монокристалу кремнію з попереднім щепленням їх з антитілами. На рисунку 22 приведено поведінки вірусів ВМЛ на монокристалічній поверхні кремнію (111).

Нанесення суспензії віріонів ВМЛ на поверхню Si(111) супроводжувалось агрегацією віріонів у щільні скупчення та зменшенням їхньої висоти від 19 нм до 9 нм. При цьому переважно спостерігалось утворення багат шарових неупорядкованих скупчень віріонів (рис. 22).

Існує два типи адсорбції: 1) фізична — відбувається за рахунок дисперсійних (Ван дер Ваальсових) сил, утворення водневих та інших взаємодій електростатичного характеру; 2) хемічна — за рахунок утворення хемічних зв'язків між адсорбатом та адсорбентом. Як відомо, зовнішня та внутрішня поверхні капсиду вірусів є протилежно зарядженими, що зумовлене наявністю позитивно та негативно заряджених груп у складі бічних радикалів амінокислот. Однак, поверхня Si(111) не є зарядженою, і, очевидно, що взаємодія капсиду з даною поверхнею не зумовлюється електростатичним притяганням, а тому роль подібних взаємодій є виключеною. Хемічна адсорбція також виключається, оскільки кремній не утворює хемічних зв'язків із жодним компонентом вірусних капсидів. Тому найбільш ймовірними процесами при адсорбції віріонів на поверхні Si(111) є Ван дер -Ваальсові взає-

модії та утворення водневих зв'язків із поверхнею. Ван дер Ваальсові взаємодії переважають при адсорбції віріонів на поверхні графіту, оскільки даний матеріал має гідрофобні властивості і утворення більш міцних водневих зв'язків є неможливим. Енергія даних взаємодій є найнижчою ($\cong 2$ кДж), а тому Ван дер Ваальсові взаємодії є дуже слабкими і не супроводжуються значними змінами конформації молекул. Наслідком цього є відсутність змін висоти віріонів ВТМ на поверхні графіту.

Адсорбція віріонів ВТМ на поверхні Si(111), навпаки, супроводжується значними змінами їхньої конформації та зменшенням висоти віріонів до 11,7 нм. Подібний результат було одержано при дослідженні поведінки вірусу мозаїки люцерни (ВМЛ) на даній поверхні. Адсорбція віріонів ВМЛ супроводжувалася зменшенням їхньої висоти з 19,0 нм до 9,0 нм.

Очевидно, що такі зміни конформації віріонів зумовлені амінокислотним складом зовнішньої поверхні капсиду. Оскільки на зовнішній поверхні зосереджені негативно заряджені амінокислотні залишки, які містять гідроксильні та карбоксильні групи (серин, треонін, тирозин, аспарагінова та глютамінова кислоти),

ТАБЛИЦЯ. Вміст амінокислот, що несуть гідроксильні та карбоксильні групи у капсидних білках ВТМ та ВМЛ.²⁵

АМІНОКИСЛОТА	AMV-CP	TMV-CP
Серин	15	16
Треонін	13	16
Аспарагінова кислота	11	8
Глутамінова кислота	11	6
Тирозин	4	4

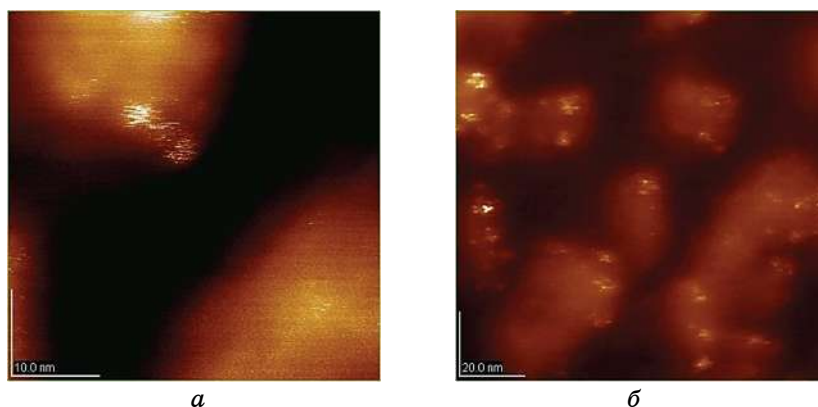


Рис. 23. Суспензії віріонів ВМЛ і комплексів антитіл на поверхні Si(111).²⁶

то вони можуть забезпечувати адгезію віріонів шляхом утворення водневих зв'язків із поверхнею. Якщо порівняти вміст амінокислот, бічні ланцюги яких несуть вищезгадані групи, у капсидних білків ВМЛ та ВТМ (АМV-CP та ТМV-CP відповідно), то помітно, що вміст таких амінокислот у АМV-CP є більшим (табл.).

Таким чином, адсорбція вірусу тютюнової мозаїки та вірусу мозаїки люцерни на поверхні Si(111) супроводжується змінами конформації віріонів внаслідок утворення водневих зв'язків та Ван-дер-Ваальсових взаємодій. Зміна конформації полягає у зменшенні висоти віріонів внаслідок взаємодії амінокислотних залишків на зовнішній поверхні капсиду з атомами Силіцію на поверхні Si(111). Адсорбція віріонів ВТМ супроводжується утворенням одношарових плівок, у той час, як при адсорбції ВМЛ на поверхні Si(111) відбувається нашарування декількох віріонів.

Дослідження суспензії віріонів ВМЛ та комплексів антитіл на поверхні Si (111) показали, що антитіла специфічно зв'язуються на поверхні віріонів ВМЛ (рис. 23). Це зв'язування супроводжується агрегацією віріонів у щільні скупчення та зменшенням їхньої висоти з 19 нм до 9 нм. При цьому переважно спостерігалось утворення багатшарових неупорядкованих скупчень віріонів. Тобто, зв'язування антитіл перешкоджало агрегації віріонів, про що свідчить їх розміщення на поверхні Si(111) та зменшення висоти вірусних часток на знімку.

7. ВИСНОВКИ

Проведено дослідження фізичних, фізико-хімічних властивостей та морфології одержаних нанодротів методами зондової мікроскопії та спектроскопії атомової роздільної здатності. Показано, що геометрією ВТМ частинок можна управляти шляхом підготовки та варіювання хемії та механіки середовища.

Встановлена оптична активність комплексу ВТМ–Au з максимумом на 540 нм. Спостерігається залежність інтенсивності спектрів оптичного поглинання від орієнтації вектора поляризації. Наявність циркулярного дихроїзму, відкриває можливість використання комплексів ВТМ–Au для створення метаматеріалів.

При дослідженні електронних властивостей нанодротів методом зондової тунельної спектроскопії встановлено, що в інтервалі від 0 до 6 вольт виникають спонтанні й індуковані переходи в стан з відносно високою електропровідністю. Для чистих ВТМ цей ефект не спостерігається.

У зв'язку з генетичною програмованістю оболонки ВТМ, похідні ВТМ можуть бути виготовлені з підвищеною селективністю до неорганічних матеріалів або поверхні підкладинок. Останній факт уможливорює одержувати ефективні самоскладання наноро-

змірних біоструктур у функціональних мікроприладах.

Показано, що взаємодія досліджуваних рослинних вірусів з антитілами приводить до відсутності агрегації і кластеризації наночастинок композиту.

Показана поверхнева руйнація золота після видалення наночастинок вірусу ВТМ з поверхні золота.

Запропонована методика синтези нанодротів надає перспективи розробки вітчизняних технологій одержання наноматеріалів на основі рослинних вірусів. Вміння поєднувати ВТМ з неорганічними й органічними матеріалами відкриває перспективу розробки широкого кола цікавих композитів і гібридних матеріалів, подібних до розглянутих. Крім того, надійність ВТМ-шаблонів уможливорює проводити оброблення при жорстких умовах поза межами можливостей біологічних молекул.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА—REFERENCES

1. M. Sarikaya, C. Tamerler, and A. Jen, *Nature Materials*, **2**: 577 (2003).
2. K. Kordas, A. E. Pap, J. Vahakangas, A. Uusimaki, and S. Leppavuori, *Appl. Surf. Sci.*, **252**: 1471 (2005).
3. J. H. Wang, P. Y. Su, M. Y. Lu, L. J. Chen, C. H. Chen, and C. J. Chu, *Electrochem. Solid-State Lett.*, **8**: 9 (2005).
4. S. Sun, D. Yang, G. Zhang, E. Sacher, and J.-P. Dodelet, *Chem. Mater.*, **19**: 6376 (2007).
5. B. Xiang, P. Wang, X. Zhang, S. A. Dayeh, D. P. R. Aplin, C. Soci, D. Yu, and D. Wang, *Nano Lett.*, **7**: 323 (2007).
6. L. Durrer, T. Helbling, C. Zenger, A. Jungen, C. Stampfer, and C. Hierold, *Sens. Actuators B*, **132**: 485 (2008).
7. D. Q. Zhang, J. Yang, and Y. Li, *Small*, **9**: 1284 (2013).
8. X. Feng, K. Shankar, O. K. Varghese, M. Paulose, T. J. Latempa, C. A. Grimes, *Nano Lett.*, **8**: 3781 (2008).
9. T. Ghoshal, S. Biswas, S. Kar, A. Dev, S. Chakrabarti, and S. Chaudhuri, *Nanotechnology*, **19**: 065606 (2008).
10. V. L. Karbivskiy and T. A. Korniyuk, *Ukrainica Bioorganica Acta.*, **2**: 7 (2009).
11. Z. Dengand and C. Mao, *Nano Lett.*, **3**: 1545 (2003).
12. Y. Ma, J. Zhang, G. Zhang, and H. He, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**: 7097 (2004).
13. Y. Hashimoto, Y. Matsuo, and K. Ijro, *Chem. Lett.*, **34**: 112 (2005).
14. Q. Gu, C. Cheng, T. Gonela, S. Suryanarayanan, S. Anabathula, K. Dai, and D. T. Haynie, *Nanotechnology*, **17**: R14 (2006).
15. H. Kudo and M. Fujihira, *IEEE Trans. Nanotechnol.*, **5**: 90 (2006).
16. J. M. Kinsella and A. Ivanisevic, *Langmuir*, **23**: 3886 (2007).
17. M. Reches and E. Gazit, *Science*, **300**: 625 (2003).
18. B. Zhang, S. A. Davis, N. H. Mendelson, and S. Mann, *Chem. Commun.*, 781 (2000).
19. R. Mogul, J. J. G. Kelly, M. L. Cable, and A. F. Hebard, *Mater. Lett.*, **60**: 19 (2005).
20. X. Liang, J. Liu, S. Li, Y. Mei, and W. Yanqing, *Mater. Lett.*, **62**: 2999 (2008).

21. M. T. Kumara, B. C. Tripp, and S. Muralidharan, *J. Phys. Chem. C*, **111**: 5276 (2007).
22. D. J. Evans, *J. Mater. Chem.*, **18**: 3746 (2008).
23. K. Namba, R. K. Pattanayek, and G. R. Stubbs, *J. Mol. Biol.*, **208**: 307 (1989).
24. R. K. Pattanayek and G. R. Stubbs, *J. Mol. Biol.*, **228**: 516 (1992).
25. H. Wang and G. R. Stubbs, *J. Mol. Biol.*, **239**: 371 (1994).
26. H. Wang, J. N. Culver, and G. R. Stubbs, *J. Mol. Biol.*, **269**: 769 (1997).
27. A. Durham, J. Finch, and A. Klug, *Nature*, **229**: 37 (1971).
28. W. O. Dawson, D. L. Beck, D. A. Knorr, and G. L. Grantham, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **83**: 1832 (1986).
29. J. N. Culver, W. O. Dawson, K. Plonk, and G. Stubbs, *Virology*, **206**: 724 (1995).
30. J. N. Culver, *Annu. Rev. Phytopathol.*, **40**: 287 (2002).
31. K. Gerasopoulos, M. McCarthy, P. Banerjee, X. Fan, J. N. Culver, and R. Ghodssi, *Nanotechnology*, **21**: 055304 (2010).
32. E. Royston, S.-Y. Lee, J. N. Culver, and M. T. Harris, *J. Colloid Interface Sci.*, **298**: 706 (2006).
33. H. Yi et al., *Nano Lett.*, **5**: 1931 (2005).
34. K. Gerasopoulos, X. Chen, J. Culver, C. Wang, and R. Ghodssi, *Chem. Commun.*, **46**: 7349 (2010).
35. K. Gerasopoulos, M. McCarthy, E. Royston, J. N. Culver, and R. Ghodssi, *J. Micromech. Microeng.*, **18**: 104003 (2008).
36. Niu Zhongwei et al., *Nano Letters*, **12**: 3729 (2007).
37. Jung-Sun Lim et al., *Journal of Nanomaterials*, **4**: 620505 (2010).
38. E. Dujardin et al., *Nano Letters*, **3**: 413 (2003).
39. M. A. Correa-Duarte et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**: 4375 (2005).
40. H. Wang et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **129**: 12924 (2007).
41. K. M. Bromley et al., *J. Mater. Chem.*, **18**: 4796, (2008).
42. J. Fang, *Encyclopedia of Nanoscience & Nanotechnology*, **5**: 3953 (2004).
43. L. Y. Zhang et al., *Nano-Micro Letters*, **1**: 49 (2009).
44. T.-Ch. Tseng et al., *Nature Chemistry*, **2**: 374 (2010).
45. M. Sumser, A. M. Knez, M. Sumser, A. M. Bittner, C. Wege, H. Jeske, T. P. Martin, and K. Kern, *Adv. Funct. Mater.*, **14**, No. 2: 116 (2004).
46. M. Knez, M. Sumser, A. M. Bittner, C. Wege, H. Jeske, T. P. Martin, and K. Kern, *Adv. Funct. Mater.*, **14**, No. 2: 116 (2004).
47. E. Royston, A. Ghosh, P. Kofinas, M. T. Harris, and J. N. Culver, *Langmuir*, **24**, No. 3: 906 (2008).
48. A. K. Manocchi, S. Seifert, B. Lee, and H. Yi, *Langmuir*, **26**, No. 10: 7516 (2010).
49. M. Knez, A. Kadri, C. Wege, U. Gesele, H. Jeske, and K. O. Nielsch, *Nano Lett.*, **6**, No. 6: 1172 (2006).
50. P. Atanasova, D. Rothenstein, J. J. Schneider, R. C. Hoffmann, S. Dilfer, S. Eiben, C. Wege, H. Jeske, and J. Bill, *Adv. Mater.*, **23**: 4918 (2011).
51. M. A. Bruckman, C. M. Soto, H. McDowell, J. L. Liu, B. R. Ratna, K. V. Korpany, O. K. Zahr, and A. S. Blum, *ACS Nano*, **5**, No. 3: 1606 (2011).
52. S. P. Wargacki, B. Pate, and R. A. Vaia, *Langmuir*, **24**, No. 10: 5439 (2008).
53. A. Mueller, F. J. Eber, C. Azucena, A. Petershans, A. M. Bittner, H. Gliemann, H. Jeske, and C. Wege, *ACS Nano*, **5**, No. 6: 4512 (2011).
54. *Circular Dichroism: Principles and Applications* (Eds. N. Berova, K. Nakanishi, and R. W. Woody) (New York: Wiley-VCH: 2000).

¹Vinnitsia National Technical University,
Khmelnyske Roadway, 95,
21021 Vinnitsia, Ukraine

²G. V. Kurdyumov Institute for Metal Physics, N.A.S. of Ukraine,
Acad. Vernadsky Blvd., 36,
03142 Kyiv, Ukraine

³National Aviation University,
Cosmonaut Komarov Avenue, 1,
03058 Kyiv, Ukraine

¹ Fig. 1. TMV structure: (a, б) molecular model showing the top and side view of a TMV virion. (в) A ribbon diagram of a single protein subunit. (г) TEM image of wild-type TMV.

² Fig. 2. The structural location of the TMV-1Cys mutation. (a) A top down view showing coat proteins of half a turn within the TMV rod and (б) 2× magnification for the same place.

³ Fig. 3. (a) Schematic representation of the synthesis of metallic nanowires in the inner channel of TMV particle. (б) SEM image of a single virion containing a ca. 250 nm long nickel wire inside the inner TMV channel [45].

⁴ Fig. 4. TEM images (a) TMV particle (only the contours appear dark; the coat proteins and the central channel are transparent); (б) a TMV after Pd(II) adsorption (activation), followed by reduction [46]; (в) two TMVs densely covered with palladium particles; (г, д) Pt(II)-pretreated TMVs metallized with (з) nickel and (д) cobalt.

⁵ Fig. 5a. (a) Diagram for the assembly of nickel- and cobalt-coated TMV-1Cys templates attached to a gold surface. (б, в, г) SEM images at different magnifications of nickel-coated TMV self-assembled nanostructures [47].

⁶ Fig. 5б. (a) Schematic diagram representing TMV-1Cys horizontal assembly onto gold surface followed by reductive metallization of the Pd precursor. (б) AFM image of surface assembled TMV-1Cys on a gold chip. (в) AFM image of Pd nanoparticles formed on surface-assembled TMV-1Cys [48].

⁷ Fig. 6a. (a) TEM image of TMV treated with TiO₂ by ALD. (b) After ultrasonic action, the TiO₂ is partially removed from the outer surface and mainly the inner channel of the TMV remains covered with TiO₂ [49].

⁸ Fig. 6б. AFM amplitude images of ZnO-mineralized TMV nanowires on silicon substrates. The nanowire thickness increases with the number of the deposited cycles [50].

⁹ Fig. 7. Self-assembling structures of TMV (incorporated His tag shown on the outer extremity of each coat protein) [51].

¹⁰ Fig. 8. AFM images of TMV assembled onto (a) amine-, (б) silicon oxide-, (в) acryloxy- and (г) methyl-terminated surfaces. The images reveal a strong dependence of viral ordering on the surface energy of the substrate [52].

¹¹ Fig. 9. (a) Schematic diagram of RNA-guided bottom-up assembly of TMV. (б) AFM topography image of TMV CP rods with site-specific assembly, and close-up is shown in (в) [53].

¹² Fig. 10. (a) RNA selectively hybridizes with DNA probes. (б) Fluorescent images. (в) Hybridization diagram.

¹³ Fig. 11. Peak currents of TNT reduction using phosphate buffer, unmodified TMV and TMV-TNT-BP binding agent.

¹⁴ Fig. 12. Optical spectra of silver hydrosol obtained: ♦—at equimolar ratios of silver nitrate and tannin; ■—in excess of tannin; ▲—in excess of silver.

¹⁵ Fig. 13. Optical spectra: ♦—silver sol in ethanol; ■—silver hydrosol.

¹⁶ Fig. 14. Optical spectra of pure nanoparticles and nanowires TMV-Au.

¹⁷ Fig. 15. I-V dependence for TMV-Au nanowires and pure TMV virus.

¹⁸ Fig. 16. Current-voltage characteristics of TMV-Au nanowires.

¹⁹ Fig. 17. Current-voltage characteristics of TMV-Au nanowires.

²⁰ Fig. 18. AFM image of TMV-gold nanowires on a single crystal Si(111)

²¹ Fig. 19. Preferential location of nanowires in a green square in Fig. 18.

²² Fig. 20. Image of gold surface after TMV removing.

²³ Fig. 21. A typical profile of section cavities of the gold surface after removing TMV virions.

²⁴ Fig. 22. AMV virions on Si(111) surface from coating the fresh suspension of virions.

²⁵ TABLE. The content of aminoacids, which have hydroxyl and carboxyl groups in capsid proteins of TMV and AMV.

²⁶ Fig. 23. Suspensions of AMV virions and antibody complexes on Si(111) surface.