

Рисунок 3 – А) Зависимость магнитной восприимчивости ФФЧ от внеклеточной концентрации магнитных наночастиц; Б) эффективность захвата клеток в зависимости от магнитной восприимчивости; В1-В4) иллюстрация магнитного поля магнита-имплантата (1) и распределения клеток с $\chi=0.055$ (2) в модельной артерии (3) на 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 с после выпуска

Список литературы / References:

1. Wu W., Wu Z., Yu T., Jiang C., Kim W.-S. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 2015, vol. 16, iss. 2, 023501.
2. Cores J., Caranasos T.G., Cheng K. Magnetically targeted stem cell delivery for regenerative medicine. *J. Funct. Biomater.*, 2015, vol. 6, pp. 526-546.
3. Wilhelm C., Gazeau F. Universal cell labeling with anionic magnetic nanoparticles. *Biomaterials*, 2008, vol. 29, pp. 3161-74.
4. Massart R. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media. *Trans. Magn.*, 1981, vol. 17, pp. 1247-1249.
5. Турчин В.В., Лёгенький Ю.А., Солопов М.В., Попандопуло А.Г., Беспалова С.В., Фисталь Э.Я. Магнитофоретические свойства фетальных фибробластов человека, маркированных суперпарамагнитными наночастицами оксида железа, стабилизированными цитратом. *Гены и клетки*, 2017, т. 12, вып. 1, с. 47-53. [Turchyn V.V., Legenkiy Yu.A., Solopov M.V., Popandopulo A.G., Bepalova S.V., Fistal E.Ya. Magnetophoretic properties of human fetal fibroblasts magnetically labeled with citrate stabilized superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Genes and cells*, 2017, vol. 12, iss. 1, pp. 47-53 (In Russ.)]
6. Dadashzadeh E.R., Hobson M., Bryant Jr L. H., Deana D. D., Franka J. A. Rapid spectrophotometric technique for quantifying iron in cells labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles: potential translation to the clinic. *Contrast Media Mol. Imaging*, 2013, vol. 8, pp. 50-56.
7. Lunnoo T., Puangmali T. Capture efficiency of biocompatible magnetic nanoparticles in arterial flow: a computer simulation for magnetic drug targeting. *Nanoscale Res. Lett.*, 2015, vol. 10, pp. 1-11.

МЕТАЛЛИЗАЦИЯ ДНК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВОССТАНОВЛЕННОГО СЕРЕБРА

Касьяненко Н.А., Бакулев В. М., Осолодков М. И., Барышев А. В., Демидов В.Н., Соколов П. А.

Санкт-Петербургский государственный университет

Университетская набережная 7/9, г. Санкт-Петербург, 199034, РФ

e-mail: n.kasyanenko@spbu.ru

Аннотация. В работе показана возможность восстановления серебра на ДНК с использованием соединения серебра с фенантролином (AgPhen). При достаточно больших концентрациях AgPhen и ДНК в растворе и при добавлении восстановителя образуются фибриллы с металлическим серебром. Для формирования таких структур макромолекула выступает в качестве основы. Получены изображения структур методами атомной силовой, сканирующей электронной и просвечивающей электронной микроскопии.

Ключевые слова: металлизация ДНК, восстановление серебра, acetate bis(1,10-phenanthroline)silver(I).

DNA METALLIZATION WITH USAGE OF REDUCED SILVER

Kasyanenko N.A, Bakulev V.M, Osolodkov M.I., Baryshev A.V., Demidov V.N, Sokolov P.A.
Saint-Petersburg State University
Universitetskaya Emb., 7/9, St. Petersburg, 199034, Russia
e-mail: n.kasyanenko@spbu.ru

Abstract. The research shows the possibility of silver reduction on DNA using a silver compound with phenanthroline acetate bis(1,10-phenanthroline)silver(I) (AgPhen). At sufficiently high concentrations of AgPhen and DNA in solution and with the addition of a reducing agent, fibrils with metallic silver are formed. To form such structures, the macromolecule acts as the template. Images of structures were obtained using atomic force, scanning electron and transmission electron microscopy.

Key words: DNA metallization, silver reduction, acetate bis(1,10-phenanthroline)silver(I).

Введение. Создание наноразмерных структур для различных технологических задач является одной из актуальных проблем настоящего времени. Одним наиболее привлекательных методов создания столь малых объектов является возможность использования самоорганизации в растворе. Молекула ДНК, благодаря своей уникальной структуре и способности образовывать комплексы с различными соединениями, может быть использована для создания наноструктур различного назначения: от нанoeлектроники до новых материалов. При этом используют как природные, так и синтетические нуклеиновые кислоты. Хотя при использовании ДНК для создания наноструктур в подавляющем большинстве случаев применяют гибридизацию комплементарных цепей [1], манипуляции с высокомолекулярной ДНК незаменимы при формировании протяженных структур типа нанопроволок или волноводов [2, 3]. Такие структуры должны активно взаимодействовать с электромагнитным излучением или быть проводящими. Так как молекула ДНК такими свойствами не обладает, ее используют в качестве каркаса, который должен быть покрыт металлом для получения нужных свойств [4]. Как правило, для металлизации ДНК используют серебро или золото, чему способствуют их высокая проводимость и низкая химическая активность. В данной работе проводили восстановление серебра на молекуле ДНК, используя соединение серебра с фенантролином. Были получены протяженные «жгуты» ДНК, содержащие металлическое серебро.

Материалы и методы. Использовали коммерческий препарат высокомолекулярной тимусной ДНК (Sigma Aldrich) с молекулярной массой 9×10^6 , определенной по значению характеристической вязкости ДНК в 0,15 M NaCl. В качестве поддерживающего электролита использовали 0,005 M NaNO_3 . В данной работе для металлизации использовали комплексы ДНК с ионами серебра (используя AgNO_3) или с координационным соединением серебра, содержащим фенантролин, далее обозначаемым как AgPhen (рис. 1). Комплексы готовили сливанием равных объемов растворов компонентов. Измерения проводили через 2 часа после сливания (для комплексов ДНК с ионами серебра) и через сутки (для комплексов ДНК с координационным соединением серебра, растворы хранили в темноте при температуре 4 °C).

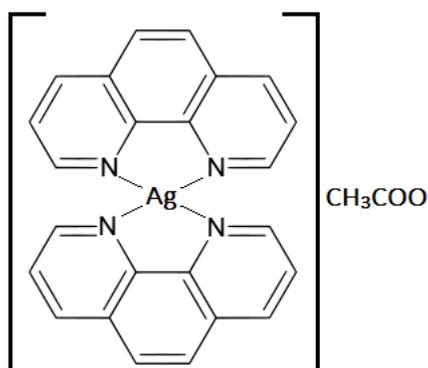


Рисунок 1 – Структура соединения серебра с фенантролином, AgPhen

Растворы ДНК после приготовления были очищены с помощью центрифугирования. Были приготовлены структуры, образованные путём смешивания растворов ДНК, AgPhen и восстановителя NaBH_4 . Стандартный раствор содержал AgPhen в концентрации 2×10^{-3} M, ДНК в концентрации 0,02 %, NaBH_4 в концентрации 5×10^{-3} M.

Спектры поглощения регистрировали с использованием спектрофотометра СФ-56 (ЛОМО, Россия).

Изображения формируемых структур были получены с помощью атомного силового микроскопа Bruker Multimode 8. Использовали также растровый электронный микроскоп Carl Zeiss Merlin с внутривакuumным детектором вторичных электронов Inlens. Значения рабочих параметров микроскопа указаны на снимках. Пользовались оборудованием Ресурсного центра СПбГУ «Нанотехнологии».

Результаты и их обсуждение. Проводилось исследование взаимодействия ДНК с координационным соединением серебра и рассматривался результат восстановления серебра в образующихся комплексах.

Основной задачей было изучение структур, формируемых в растворе с использованием ДНК и AgPhen, методами микроскопии. Но для формирования интересных нас структур необходимо было провести исследование взаимодействия компонентов в растворе. Приведенное на рисунке 1 соединение серебра содержит два фенантролиновых лиганда, расположенных практически в одной плоскости. Комплексы такого соединения с ДНК дают потенциальную возможность металлизации макромолекул, что и было проверено в данной работе. Приведенные на рисунке 2 спектры поглощения демонстрируют, в частности, что при связывании AgPhen с ДНК происходит изменение спектральных свойств обоих компонентов.

На основании данных, полученных в лаборатории ранее [5] можно заключить, что образуется координационная связь серебра с ДНК, освободившийся фенантролин может интеркалировать между основаниями, а связанный с серебром фенантролин при большой концентрации соединения упорядоченно располагается на поверхности спирали. Об этом свидетельствуют спектры кругового дихроизма (рис. 3).

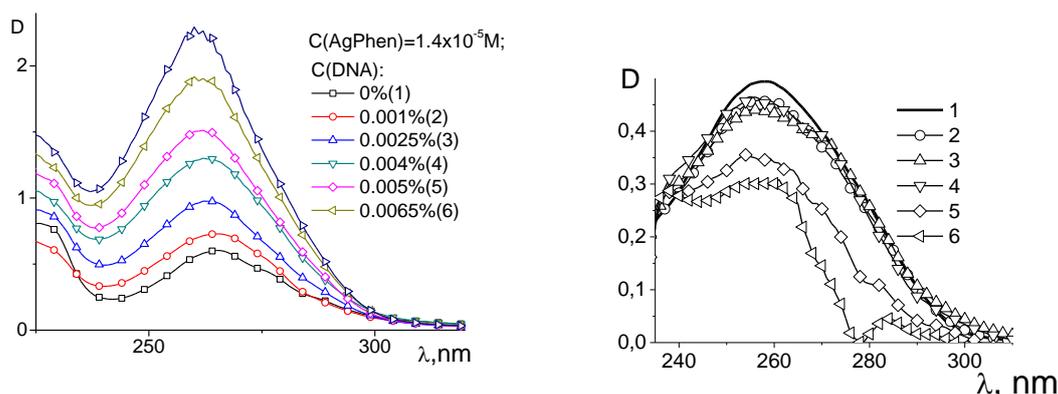


Рисунок 2 – Спектры поглощения растворов ДНК с AgPhen в 0,005 М NaNO_3 (слева) и вычисленные спектры поглощения ДНК в этих растворах (справа)

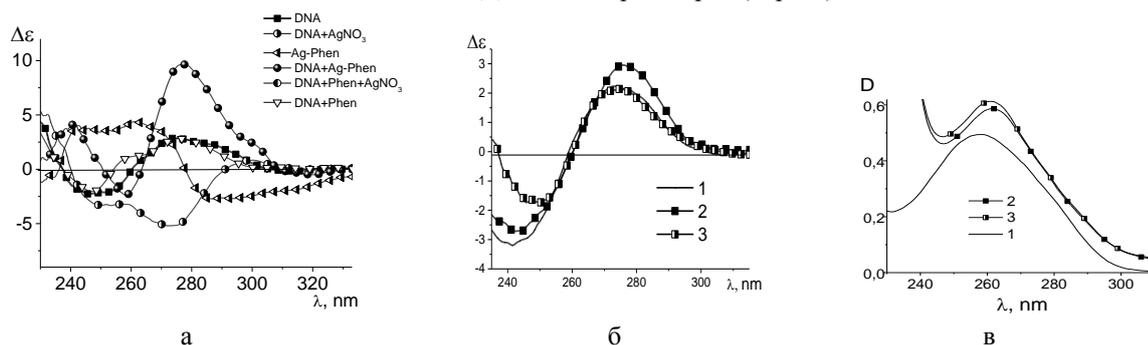


Рисунок 3 – Спектры кругового дихроизма компонентов взаимодействия и их комплексов в 5 mM NaNO_3 , $C(\text{AgPhen})=3,4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ (а), спектры КД (б) и спектры поглощения (в) растворов ДНК (1), комплекса ДНК с Ag-Phen до (2) и после (3) добавления восстановителя (NaBH_4). $C(\text{ДНК}) = 0,0025\% = 3,8 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ бр, $C(\text{Ag-Phen}) = C(\text{NaBH}_4) = 0,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$

Мы видим значительное увеличение амплитуды и положительного и отрицательного максимума. Действительно, связывание ДНК с фенантролином не приводит к заметному изменению спектра КД ДНК; связывание с ионами серебра приводит к существенному изменению спектра КД ДНК. При используемой концентрации мы видим трансформацию положительной полосы в отрицательную. Свободное соединение Ag-Phen имеет собственный КД (положительная полоса в области длин волн меньше 260 нм). При формировании комплексов ДНК с Ag-Phen амплитуда и положительной, и отрицательной полосы возрастает значительно. Такое связывание достигает насыщения при концентрации, соответствующей соотношению: 8-9 соединений на 10 пар оснований ДНК. Мы полагаем, что такое покрытие фенантролином спирали ДНК с координационно связанным серебром может обеспечить при восстановлении серебра покрытие, отличающееся от формируемого при использовании ионов серебра.

Действительно, в растворе ДНК с AgPhen при больших концентрациях компонентов формируются фибриллы в результате межмолекулярных взаимодействий ДНК через формирование контактов фенантролиновых лигандов, расположенных на периферии спирали (рис. 4).

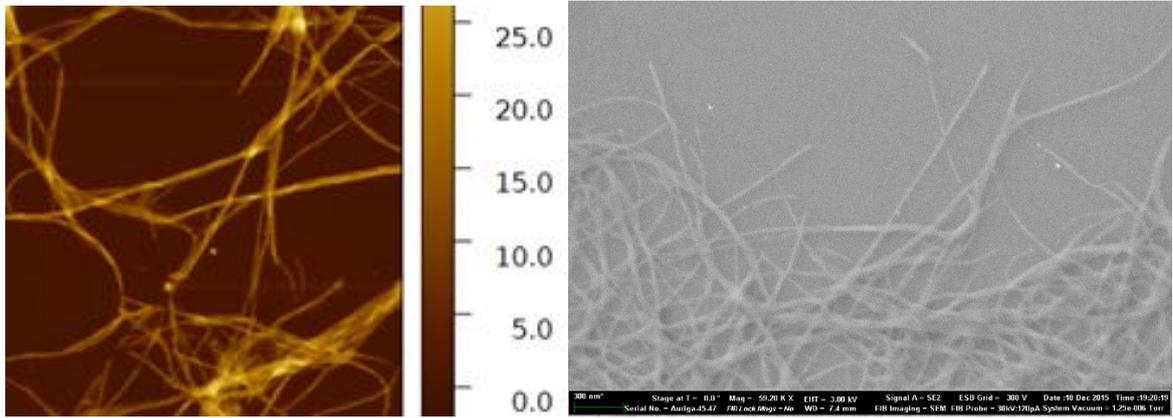


Рисунок 4 – АСМ изображение на слюде (слева) и СЭМ изображение на кремнии (справа) фибрилл, формируемых в растворе ДНК с AgPhen. С(ДНК)=0,02%; С(NaNO₃)=5 mM; С(AgPhen) = 2·10⁻³ М

Мы считаем, что за образование упорядоченных структур отвечает фенантролин. Действительно, в растворах ДНК с фенантролином мы можем видеть формирование подобны структуры, хотя и не столь устойчивых (рис. 5)

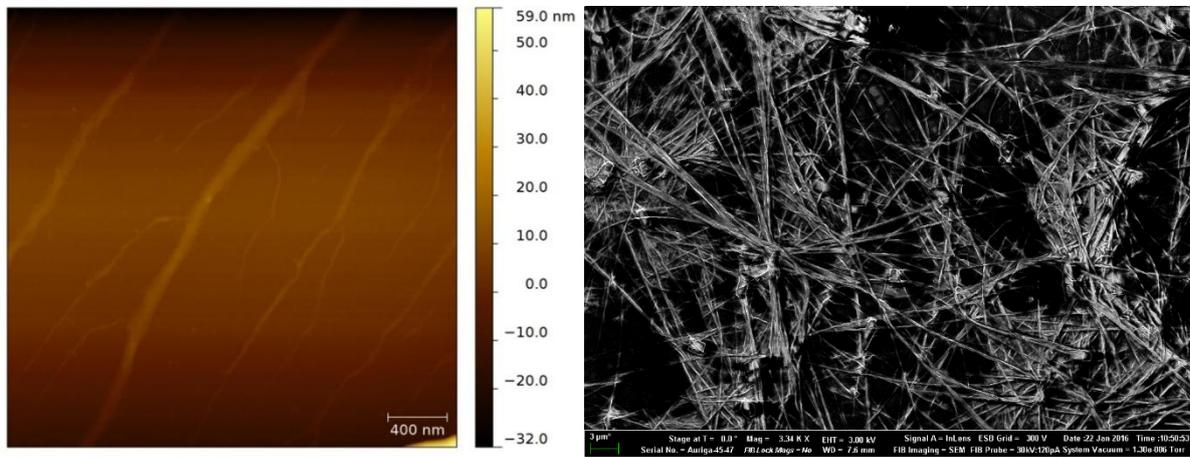


Рисунок 5 – Структуры, формируемые в растворе ДНК с фенантролином АСМ (слева) и СЭМ (справа) изображения

При добавлении в раствор ДНК с AgPhen восстановителя мы наблюдаем появление полосы плазмонного резонанса (рис. 6). При этом на полосе поглощения ДНК изменений не наблюдается, а в спектре КД, напротив, пропадает существенное возрастание амплитуды положительной полосы (рис. 3 в).

На рисунке 6 можно видеть, что полоса плазмонного резонанса в случае восстановления серебра в растворе ДНК с AgPhen отличается и от случая восстановления серебра в растворе соединения без ДНК, и в растворе ДНК с AgNO₃. То есть, восстановление серебра имеет совершенно другие черты.

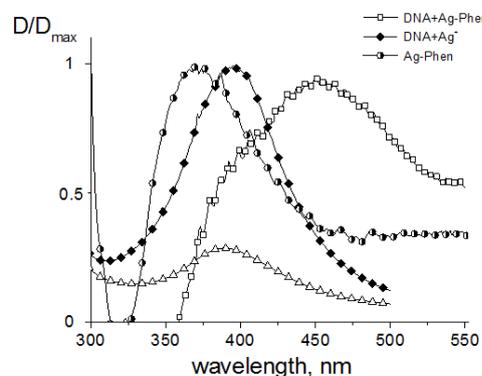


Рисунок 6 – Полоса плазмонного резонанса - результат восстановления серебра в растворе ДНК с AgPhen, с AgNO₃ и в растворе AgPhen без ДНК

Результат восстановления серебра после формирования фибрилл представлен на рисунке 7.

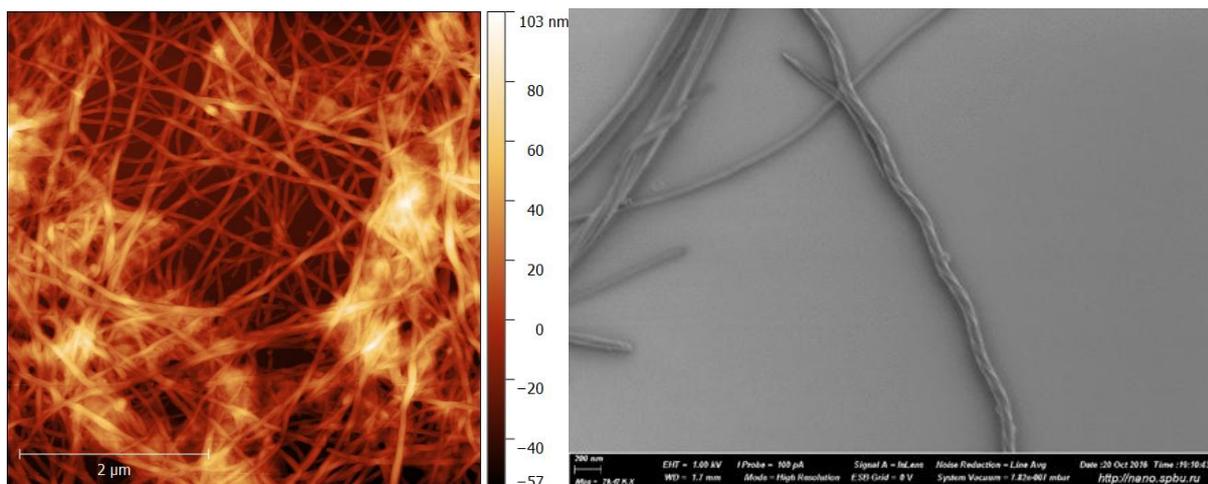


Рисунок 7 – АСМ и СЭМ изображения после восстановления серебра с использованием комплексов ДНК с AgPhen

Попытка увеличить плотность восстановленного серебра путем добавления в такую систему нитрата серебра с последующим восстановлением привела к результату, представленному на рисунке 8. С этой целью был приготовлен раствор стандартной концентрации с добавлением AgNO_3 в соотношении 1:1 к атомам серебра в составе AgPhen, $C(\text{AgNO}_3) = 4,5 \cdot 10^{-4}$ М.

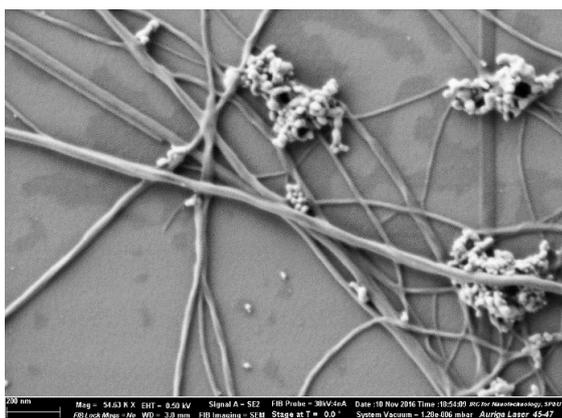


Рисунок 8 – Результат восстановления серебра после добавления в раствор ДНК с AgPhen перед восстановлением AgNO_3

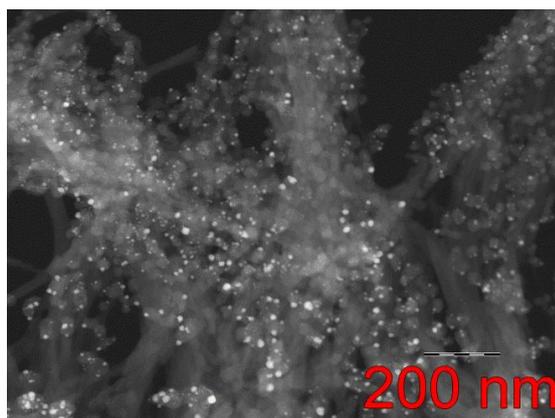


Рисунок 9 – Результат исследования фибрилл ДНК после восстановления серебра. Измерения выполнены на просвечивающем электронном микроскопе Libra 200 FE

Дополнительное серебро не интегрировано в фибриллы, а агрегировало отдельно. Светлые края у фибрилл соответствуют восстановленному серебру, но в случае СЭМ это может быть вызвано краевыми эффектами. Подтверждением присутствия восстановленного серебра в фибриллах служит изучение систем методом ПЭМ (просвечивающей электронной микроскопии). Результат, представленный на рис. 9, подтверждает металлизацию ДНК.

Таким образом, в работе показана возможность восстановления серебра на ДНК с использованием соединения AgPhen. При достаточно больших концентрациях Ag-Phen и ДНК в растворе и добавлении восстановителя образуются фибриллы. Для формирования фибрилл макромолекула выступает в качестве основы. Наличие иона серебра в составе исследуемого соединения также необходимо для образования более устойчивых, крупных и однородных структур.

Список литературы / References:

1. Rothmund P.W.K. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature*, 2006, vol. 440 pp.297-302.
2. Yan H., Park S.H., Finkelstein G., Reif J.H., LaBean T. H. DNA-templated self-assembly of protein arrays and highly conductive nanowires. *Science*, 2003, vol. 301, no. 5641, pp. 1882-1884.
3. Puchkova A.O., Sokolov P., Kasyanenko N.A., Petrov Y.V. Metallization of DNA on silicon surface. *Journal of Nanoparticle Research*, 2011, vol. 13, no. 9, pp. 3633-3641.

4. Kasyanenko N., Varshavskii M., Ikonnikov E., Tolstyko E., Belykh R., Sokolov P., Bakulev V., Rolich V., Lopatko K DNA modified with metal nanoparticles: preparation and characterization of ordered metal-dna nanostructures in a solution and on a substrate. *Journal of Nanomaterials*, 2016, pp. 3237-250, Doi: 0.1155/2016/3237250.

5. Kasyanenko N., Qiushi Z., Bakulev V., Osolodkov M., Sokolov P., Demidov V. DNA binding with acetate bis(1,10-phenanthroline)silver(I) monohydrate in a solution and metallization of formed. *Polymers*, 2017, vol. 9, no. 6, pp. 211-230; doi:10.3390/polym9060211.

КЛЕТочНЫЕ РЕАКЦИИ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЕМ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ОКСИДА ВОЛЬФРАМА (WO₃), *IN VITRO*

Попов А.Л.¹, Иванова О. С.³, Щербakov А.Б.², Попова Н.Р.¹, Иванов В.К.³

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН
ул. Институтская, 3, г. Пуццино, 142290, РФ

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03680, Украина

³Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН
Ленинский пр., 31, г. Москва 119333, РФ
e-mail: antonpopovleonid@gmail.com

Аннотация. В последние годы разработка новых функциональных наноматериалов для диагностики и терапии онкологических заболеваний привлекает все большее внимание. Для эффективной терапии рака важно разработать систему тераностики на основе наноматериалов, которая способна реагировать на локальную опухолевую среду или внешние раздражители, такие как температура, pH, магнитное поле, свет и т.д. Одним из наиболее перспективных таких материалов является наноразмерный оксид вольфрама (WO₃), полупроводник с широкой полосой пропускания n-типа с химическим типом хромирования, что придает ему уникальные фотокаталитические свойства. В рамках данной работы нами изучено влияние поливинилпирролидон (ПВП)-стабилизированных наночастиц WO₃ на метаболическую и пролиферативную активность нормальных и трансформированных клеток человека *in vitro*.

Ключевые слова: наночастицы оксида вольфрама, фотокатализатор, цитотоксическая активность, окислительный стресс.

CELLULAR REACTIONS INDUCED BY NANOCRYSTALLINE TUNGSTEN OXIDE (WO₃) EXPOSURE, *IN VITRO*

Popov A.L.¹, Ivanova O.S., Shcherbakov A.B.², Popova N.R.¹, Ivanov V.K.³

¹Institute of theoretical and experimental biophysics RAS
Institutskaya str., 3, Pushchino, 142290, Russia

²Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine
Zabolotnogo str., 154, Kyiv, D0368, Ukraine

³Kurnakov institute of general and inorganic chemistry RAS
Leninskii av., 31, Moscow, Russia
e-mail: antonpopovleonid@gmail.com

Abstract. The development of new functional nanomaterials for the diagnosis and therapy of cancer has attracted increasing attention in recent years. For effective cancer therapy, it is important to develop a new theranostic system based on unique nanomaterials that is capable of responding to a local tumor environment or external stimuli such as temperature, pH, magnetic field, light, etc. One of the most promising materials is nanocrystalline tungsten oxide (WO₃), a semiconductor with a wide n-type bandwidth with a chemical type of chromium, which gives it unique photocatalytic properties. Within the framework of this work, we studied the effect of polyvinylpyrrolidone (PVP) - stabilized WO₃ nanoparticles on the metabolic and proliferative activity of normal and malignant human cells *in vitro*.

Key words: tungsten oxide nanoparticles, photocatalyst, cytotoxic activity, oxidative stress.

Введение. Разработка и исследование новых наноразмерных материалов для биомедицинского применения в последнее время является ключевым приоритетом в междисциплинарных исследованиях. Физико-химические свойства наноматериалов придают им новые уникальные возможности для использования в диагностике и лечении социально значимых заболеваний. Одним из наиболее ярких представителей подобных материалов в нанокристаллическом состоянии является триоксид вольфрама (WO₃). Ранее оказано, что наночастицы WO₃ можно использовать в качестве одного из компонентов костного цемента, в качестве контрастирующего агента для рентгеновской компьютерной томографии и т.д. [1-3] Хитозан-модифицированные наночастицы WO₃ используются в качестве контрастирующего вещества для рентгеновской компьютерной томографии [4]. Хотя вольфрам считался относительно инертным и токсикологически безопасным материалом, недавние результаты исследований вызывают озабоченность по поводу возможных вредных последствий для здоровья после острого и хронического воздействия этого металла