

УДК 538.9; 539.2; 548.74; 577.2

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова Российской академии наук

На правах рукописи

**Штыкова Элеонора Владимировна**

**МЕТОД МАЛОУГЛОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО РАССЕЙНИЯ В  
СТРУКТУРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ**

Специальность 01.04.18 – Кристаллография, физика кристаллов

Автореферат

диссертация на соискание степени

доктора химических наук

Москва 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте кристаллографии имени А. В. Шубникова Российской академии наук (ИК РАН)

**Официальные оппоненты:** **Александр Никифорович Озерин,**  
чл.-корр. РАН, доктор химических наук, директор,  
Федеральное государственное бюджетное учреждение  
науки Институт синтетических полимерных материалов  
им. Н.С. Ениколопова Российской академии наук (ИСПМ  
РАН).

**Николай Владимирович Бовин,**  
доктор химических наук, профессор, заведующий  
лабораторией углеводов, Федеральное государственное  
бюджетное учреждение науки Институт биоорганической  
химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.  
Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН).

**Ян Витаутасович Зубавичус,**  
доктор физико-математических наук, начальник отдела  
синхротронных экспериментальных станций,  
Курчатовский комплекс синхротронно-нейтронных  
исследований, Федеральное государственное бюджетное  
учреждение Национальный исследовательский центр  
«Курчатовский институт».

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение  
науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова  
Российской академии наук (ИХФ РАН)

Защита состоится «\_\_» 2015 г. в \_\_ч. \_\_мин. на заседании диссертационного Совета Д  
002.114.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте  
кристаллографии им. А. В. Шубникова Российской академии наук, по адресу 119333, г.  
Москва, Ленинский пр-т, д.59, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИК РАН, а также на сайте ИК РАН  
<http://crys.ras.ru/index.php/dissertatsionnyj-sovet/zashchity-dissertatsij>

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор физико-математических наук

В.М. Каневский

## 1. Общая характеристика работы

### Актуальность

Цикл работ, представленный в данной диссертации, посвящен структурной диагностике наноразмерных конденсированных фаз с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР). Эти работы проводились и развивались параллельно с постановкой и решением актуальных научных и нанотехнологических задач, начиная с выяснения закономерностей структурообразования в самоорганизующихся полимерных матрицах и процессов формирования в них металлических наночастиц и заканчивая фундаментальными исследованиями сложных многокомпонентных систем, в том числе биологических. Особое внимание в диссертации уделяется развитию МУРР для структурных исследований полидисперсных, полиморфных и полностью или частично разупорядоченных соединений. Продемонстрирована возможность эффективного использования для таких систем новых методов интерпретации данных МУРР, предложенных ранее для монодисперсных биологических растворов, что открыло пути для углубленного анализа структуры и свойств современных нанотехнологических материалов. Работы, проведенные по структурной диагностике надмолекулярных комплексов с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния, были актуальными и затребованными на каждом этапе многолетних исследований, составляющих основное содержание данной диссертации.

МУРР - это метод структурной диагностики, который демонстрирует стремительное развитие в последние десятилетия. Он используется для исследования надатомной структуры вещества, при анализе структуры дисперсных систем, в молекулярной биологии, биофизике и других областях науки и техники. МУРР основано на эффектах упругого взаимодействия рентгеновских лучей со связанными электронами в образце и является универсальным дифракционным методом исследования некристаллических объектов, возможности которого неизмеримо выросли, благодаря появлению мощных источников синхротронного излучения и новых типов регистрирующих устройств. Структурное разрешение метода находится в области от 1 до  $10^3$  нм, то есть в области надатомной организации объекта. Именно этот уровень разрешения определяет свойства материалов, с которыми имеют дело новейшие нанотехнологии и современная биология, что во многом определяет актуальность применения МУРР в структурных исследованиях.

Одним из важнейших мотивационных моментов использования малоуглового рассеяния для структурной диагностики вещества является его универсальность. Метод эффективен при изучении наноразмерной структуры конденсированных фаз упорядоченных, частично упорядоченных и неупорядоченных объектов и не требует специальной подготовки образца. С помощью малоуглового рассеяния исследуются объекты различной физической природы и агрегатного состояния, а именно биологические и полимерные макромолекулы в растворе, наноккомпозиты в твердом и гелеобразном состоянии, нанокластеры различного происхождения, сплавы,

квазикристаллические формирования, стекла и многое другое. Тем самым определяется научная значимость и актуальность этого метода для исследования структуры вещества в нанометровом диапазоне в целом и, в частности, его использование в цикле представленных в данной диссертации работ.

В техническом отношении в МУРР стоит непростая задача регистрации сравнительно невысокой интенсивности рентгеновского рассеяния вблизи мощного первичного пучка излучения. Эта задача уже была решена почти столетие назад в период зарождения метода и она вполне успешно решается в настоящее время в соответствии с возрастающими требованиями к качеству малоуглового эксперимента. Еще более сложной и актуальной проблемой является интерпретация полученных экспериментальных данных и построение структурных моделей. Решение обратной задачи рассеяния, т.е. однозначное восстановление по экспериментальным данным МУРР трехмерной структуры объекта, в общем случае, невозможно. Уровень структурной информации, заключенной в данных МУРР, определяется главным образом природой рассеивающих объектов. Для полидисперсных, полностью разупорядоченных соединений метод дает усредненные общие характеристики и распределение рассеивающих частиц по размерам. Для частично упорядоченных систем появляется возможность определения более тонких структурных характеристик, касающихся степени и типа упорядочения, размеров структурированных областей, характеристических параметров упорядоченных структур и другое. Наиболее активно теория малоуглового рассеяния и подходы к решению структурных задач развивались для исследования монодисперсных систем идентичных частиц. Такие системы исследуются, например, при анализе высокоочищенных растворов биологических макромолекул. В этом случае интенсивность МУРР непосредственно связана со структурой частиц, что дает уникальную возможность определения их формы и размера, а в ряде случаев и внутреннего строения с разрешением порядка 1 нм.

Однако на практике исследуемые образцы практически всегда содержат некоторое количество агрегатов или кластеров рассеивающих частиц, которые зачастую не могут быть удалены традиционными методами очистки и подготовки образцов, так как являются проявлением существенных свойств и функциональных особенностей исследуемых веществ. Кроме того, даже для монодисперсных белковых растворов проявление полиморфности, т.е. одновременного существования разных форм макромолекул белка в растворе, возникающей благодаря их гибкости, развернутости и подвижности отдельных субъединиц в составе макромолекул, задача анализа и восстановления структуры усложняется. Проблема однозначности и надежности полученных решений при интерпретации данных МУРР возникает всегда, но она особенно серьезна при наличии полиморфности и/или полидисперсности. Определение условий и ограничений, необходимых для надежного восстановления структуры полидисперсных объектов по данным МУРР, становится особенно актуальным при исследовании современных полимерных материалов, нанокомпозитов и комплексов, в

том числе биологических. Анализу возможностей МУРР и расширению спектра задач, решаемых с его помощью, уделяется большое внимание в данной работе. Кроме того, сама постановка структурных задач цикла исследований, вошедших в диссертацию, являлась стимулом для разработки новых подходов к интерпретации данных малоуглового рассеяния.

Современные методы интерпретации данных МУРР и созданное для них программное обеспечение делают этот метод мощным универсальным инструментом структурной диагностики, крайне полезным при решении технологических задач создания новых наноструктурированных и наноразмерных материалов с определенными свойствами. В то же время, помимо чисто технологических приложений, метод малоуглового рентгеновского рассеяния позволяет решать фундаментальные научные проблемы взаимосвязи структуры и функции для широкого спектра объектов самой разнообразной природы от биологических макромолекул в растворах до современных полимерных нанокомпозитов. В настоящей работе представлены две области структурной диагностики, где прогресс в малоугловом эксперименте и новейшие методики интерпретации данных рассеяния особенно рельефно проявились в последние годы. Это, во-первых, структурные исследования наноматериалов и процессов формирования неорганических наночастиц в различных носителях, то есть структурные исследования современных нанокомпозитов, и, во-вторых, анализ строения биологических макромолекул и их комплексов в растворе.

#### **Цели и задачи работы:**

- развитие метода малоуглового рассеяния и анализ возможности его применения в структурных исследованиях широкого спектра полидисперсных, полиморфных и полностью или частично разупорядоченных соединений для решения современных научных и нанотехнологических задач.
- в качестве практического и научного вклада, последовательное и систематическое исследование методом малоуглового рентгеновского рассеяния надатомной структуры различных дисперсных систем, начиная с самоорганизующихся полимерных матриц, мицеллярных систем, пористых материалов, новых классов дендримеров и заканчивая сложными современными нанокомпозитами и биологическими комплексами;
- обобщение совокупности полученных экспериментальных данных и использование развитых методик для построения моделей, отражающих взаимосвязь структуры и функциональных особенностей разнообразных супрамолекулярных синтетических и биологических ансамблей и нанокомпозитов.

#### **Научная новизна**

Были предложены новые подходы к структурным исследованиям полидисперсных, полиморфных и полностью или частично разупорядоченных соединений с помощью МУР, позволяющие эффективно применять этот метод для анализа новейших нанотехнологических материалов.

Компьютерное моделирование, которое проводилось на всех этапах данной диссертационной работы, позволило определить условия и ограничения использования современных методов интерпретации данных МУРР для структурных исследований сложных наноразмерных систем.

С помощью развитых методик были построены и обобщены структурные модели, отражающие функциональные особенности различных наноконструктов и определена надатомная структура широкого класса супрамолекулярных синтетических и биологических ансамблей.

Были исследованы процессы и выявлены закономерности формирования и стабилизации различных неорганических наночастиц (серебра, золота, платины, магнетита, кобальта и других) в таких носителях как:

- самоорганизующиеся полимерные матрицы;
- мицеллярные системы;
- различные пористые материалы в среде сверхкритического CO<sub>2</sub>;
- холестерические жидко-кристаллические дисперсии ДНК.

Были исследованы процессы стабилизации монодисперсных магнитных наночастиц биodeградируемыми полимерами и показаны особенности их поведения в водных растворах в зависимости от структуры, композиции и толщины стабилизирующего полимерного слоя.

Были выяснены закономерности формирования квантовых точек CdS в жесткоцепных дендримерах, исследованы особенности их стабилизации в зависимости от условий синтеза и структуры дендримеров и определена морфология наноструктуры полученных композитов.

Были определены пространственные структуры различных биологических объектов в растворе: иммуноглобулинов, каррагинанов, хитозана, нуклеиновых кислот, ряда белков и белковых комплексов, а также выявлены некоторые физиологически значимые структурные особенности связывания белков с дезоксирибонуклеиновыми кислотами.

Постановка и решение структурных задач, которые решались в настоящем цикле исследований способствовали разработке новых методов интерпретации данных МУРР, которые развивались параллельно и в связи с этими исследованиями.

### **Научное и практическое значение работы**

Научное и практическое значение работы определяется актуальностью поставленных задач и возможностью использования полученных результатов для развития современных нанотехнологий, а также как вклад в фундаментальные исследования структуры наноразмерных конденсированных фаз, а именно:

- определение с помощью МУРР базовых характеристик (формы, размера, полидисперсности, структурного полиморфизма и других параметров) разных классов наноразмерных объектов, выявление особенностей самосборки и надатомной архитектуры широкого спектра самоорганизующихся полимерных систем, а также

анализ процессов формирования и стабилизации неорганических наночастиц в различных полимерных носителях создает основу для создания наноматериалов с направленной функциональностью с перспективой их практического применения во многих областях науки и техники;

- решение структурных задач, поставленных в данной работе, имело также самостоятельное научное значение, касающиеся фундаментальных вопросов строения вещества на надатомном уровне, в том числе для живой материи (белков, нуклеиновых кислот, биологических комплексов).

Новые методические подходы к структурным исследованиям методом МУРР полидисперсных, полиморфных и полностью или частично разупорядоченных соединений предоставили возможность построения трехмерных моделей этих систем, что является необходимым для разработок в области современных нанотехнологий и понимания взаимосвязи структуры и функции разрабатываемых композиционных материалов.

Проведенный анализ и обобщение полученных результатов позволили расширить область применения МУРР для структурной диагностики конденсированных фаз вещества в нанометровом диапазоне. Развитые методики были применены к решению структурных задач как по данным синхротронных измерений, так и при использовании лабораторных установок. Здесь следует отметить, что лабораторные рентгеновские дифрактометры более доступны широкому пользователю, и этот факт значительно повышает область применимости результатов данной диссертационной работы.

#### **На защиту выносятся следующие положения:**

- Обоснование возможности построения трехмерных моделей для полиморфных и полидисперсных систем по данным малоуглового рентгеновского рассеяния.
- Структурная организация супрамолекулярных ансамблей, определенная с помощью новейших методов обработки и интерпретации данных МУРР.
- Закономерности формирования и стабилизации неорганических наночастиц в различных полимерных матрицах.
- Результаты структурного анализа биополимеров, мультидоменных белков и белковых комплексов в растворе.
- Взаимосвязь структуры и функции биологических и синтетических молекулярных и надмолекулярных образований, выявленная с помощью обобщения полученных данных и результатов их анализа.

#### **Личный вклад диссертанта**

В цикле работ, составляющих диссертацию, автору принадлежит определяющий вклад, а именно: автором были проведены все эксперименты по малоугловому синхротронному рентгеновскому рассеянию, выполнена первичная обработка данных МУРР, полученных как на лабораторных установках, так и на синхротронных источниках рентгеновского излучения, проведена их интерпретация с помощью новейших методов структурного анализа данных малоуглового рассеяния, выполнено

компьютерное моделирование и построение структурных моделей исследованных объектов, проведено обобщение совокупности полученной информации, что отражено в представленных в диссертации публикациях автора.

### **Апробация работы**

Результаты работы доложены и обсуждены на Международной конференции «Самосборка амфифильных систем» (Дрезден, Германия, 1998), II, III, IV, V и VI Национальных конференциях по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов – РСНЭ (Москва, 1999, 2001, 2003, 2005, 2007), VII и VIII Национальных конференциях Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов. Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии - РСНЭ-НБИК (Москва, 2009, 2011), XI, XII, XIII, XIV и XV Международных конференциях по малоугловому рассеянию (Нью Йорк, США, 1999; Венеция, Италия, 2002; Киото, Япония, 2006; Оксфорд, Англия, 2009; Сидней, Австралия, 2012), Весенней Национальной конференции Американского химического общества (Сан Франциско, США, 2000), XI Международной конференции по Магнитному резонансу в химии и биологии (Звенигород, 2001), III Международная конференция «Химия высокоорганизованных соединений и научные принципы нанотехнологии» (Санкт-Петербург, 2001), Национальном семинаре по сканирующей микроскопии (Нижний Новгород, 2002), Симпозиуме по Нано- и гнго- проблемам в исследованиях по микроэлектронике в России (Москва, 2002), I и II Русско-Французском семинаре «Новые достижения в материаловедении» (Нанси, Франция, 2004; Москва, 2005), 2-ой Международной конференции «Технологии суперкритических жидкостей: инновационный потенциал России» (Ростов-на-Дону, 2005), Европейском полимерном конгрессе (Москва, 2005), 10-ой Европейской конференции по Суперкритическим жидкостям (Кольмар, Франция, 2005), Международной конференции по Электронной микроскопии и мультимасштабному моделированию (Москва, 2007), 7-ой Международной конференции по Рентгеновским исследованиям структуры полимеров (Краков, Польша, 2007), III Международной конференции по Коллоидной химии и физико-химической механике (Москва, 2008), 6-м Международном симпозиуме «Молекулярный порядок и подвижность в полимерных системах» (Санкт-Петербург, 2008), 235-й и 238-й Национальной конференции Американского химического общества (Нью Орлеан, США, 2008; Вашингтон, США, 2009), XIII Национальной конференции по росту кристаллов (Москва, 2008), Сателитной конференции Международного союза кристаллографов по Рентгеновским и нейтронным методам в исследовании наноструктур (Хиого, Япония, 2008), XXI Конгрессе Международного союза кристаллографов (Осака, 2008), III Международной научно-технической конференции «Достижения текстильной химии – в производство» (Иваново, 2008), XX, XXI, XXII и XXIV Симпозиуме «Современная химическая физика» (Туапсе, 2008, 2009, 2010, 2012), 9-ом Международном симпозиуме по Сверхкритическим жидкостям (Аркахон, Франция, 2009), Международной научно-

практической конференции «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» (Суздаль, 2009), Международной конференции по Суперкритическим жидкостям «Supergreen 2009» (Сендаи, Япония, 2009), Международном семинаре «Структурные аспекты биосовместимости магнитных жидкостей: стабилизация, контроль свойств и применение» (Гестахт, Германия, 2010), Пятой Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры-2010» (Москва, 2010), 12-ой Международной конференции по Магнитным жидкостям (Сендаи, Япония, 2010), Всероссийской научной школе для молодежи «Образование в сфере нанотехнологий: современные подходы и перспективы» (Москва, Нижний Новгород, 2010), Международном Химическом конгрессе сообщества тихоокеанского бассейна (Гонолулу, США, 2010), 5-ой Международной научной конференции «Физико-химические основы формирования и модификации микро- и наноструктур» (Харьков, 2011), V Троицкой конференции «Медицинская физика и инновации в медицине» - ТКМФ-5 (Троицк, 2012), 11-ой Международной конференции по Биологии и синхротронному излучению (Гамбург, Германия, 2013), 12-ая Международная школа и Симпозиум по Синхротронному излучению в Естественных Науках (ISSRNS 2014, Варшава, Польша, 2014).

#### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертации опубликованы 63 статьи в отечественных и международных журналах и тезисы 98-ми докладов.

#### **Структура и объем работы**

Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, основных выводов, списка цитируемой литературы и списка публикаций по теме диссертации. Работа изложена на 343 страницах, включая 144 рисунка и 14 таблиц. Список цитируемой литературы содержит 276 библиографических ссылок.

## **2. Основное содержание работы**

**Введение:** обоснована актуальность цикла научных работ, посвященных структурной диагностике наноразмерных конденсированных фаз с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния, определены цели и задачи исследований и сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

**Глава 1** посвящена краткому изложению теории и эксперименту малоуглового рассеяния в структурных исследованиях. В этой главе описаны современные методы обработки и интерпретации данных МУРР, рассмотрены особенности структурных исследований на лабораторных и синхротронных дифрактометрах с применением традиционного и аномального малоуглового рассеяния. Особое внимание уделяется методам восстановления надатомной структуры по данным МУРР: *ab initio* протоколу, методу молекулярной тектоники, гибридным методам, проблеме неоднозначности решения обратной задачи в МУРР, структурному анализу полидисперсных,

взаимодействующих, упорядоченных и частично упорядоченных систем и сочетанию малоуглового рассеяния с другими структурными методами. В данной главе представлен тот теоретический и экспериментальный базис, на котором были построены структурные исследования, результаты и выводы настоящей диссертационной работы. В конце главы приведена сводная таблица программ, необходимых для обработки и интерпретации данных МУРР с кратким описанием их функций. Среди них ATSAS, программный комплекс, объединяющий все основные программы для решения обратных задач малоуглового рассеяния; GNOM для расчета функций распределения по расстояниям и объемных функций распределения по размерам с возможностью введения колимационных и других поправок; CRY SOL для расчета интенсивности рассеяния от объектов высокого разрешения; программы *ab initio* восстановления формы рассеивающих тел DAMMIN и GASBOR (для белковых молекул); SASREF - моделирование методом молекулярной тектоники; MASSHA - графическая система для работы с моделями высокого и низкого разрешения; гибридные программы, сочетающие *ab initio* протокол и моделирование жесткими телами BUNCH, CORAL, EOM - для достраивания недостающих фрагментов кристаллографических структур и для анализа гибкости белков и их комплексов; OLIGOMER, предназначенная для количественной оценки объемных фракций в смеси и программа MONSA - расширенная версия программы DAMMIN для восстановления структуры многофазных систем. Эти программы упоминаются в автореферате диссертации ниже и приведены здесь для ясности описания использованных методик и полученных результатов.

**Глава 2** представляет собой обзор литературных данных, посвященных принципам формирования надмолекулярных комплексов, природных или искусственно созданных. Необходимость такого научного обзора обусловлена тем, что одной из основных задач диссертационной работы является структурная диагностика современных наноразмерных композиционных материалов и биологических комплексов. Поэтому были рассмотрены достижения в области создания таких материалов, регулирования их структуры и свойств посредством контролируемого размещения наночастиц в полимерной матрице и использование гетерогенных аморфно-кристаллических синтетических и биологических матриц в качестве шаблонов. В главе 2 особо отмечается значение выбора метода исследования структуры. Важным здесь является не только структурная характеристика образцов, но также возможность их исследования в естественной среде и в любом агрегатном состоянии, то есть возможность неразрушающего поэтапного контроля структуры синтезируемых композитов без какой-либо их предварительной обработки и подготовки к измерениям. Это исключает нежелательные структурные изменения в образцах при манипуляции с ними и неадекватную интерпретацию полученных экспериментальных данных. Не умаляя достоинства таких мощных современных методов структурного анализа как атомно-силовая микроскопия, электронная микроскопия, ядерный магнитный резонанс,

дифракционные методы и другие, следует еще раз подчеркнуть, что именно МУРР является тем методом неразрушающего контроля, который позволяет исследовать надатомную структуры вещества как в твердом состоянии, так и в растворах различной концентрации, а также проводить структурный мониторинг в процессе создания сложных композиционных систем. Сочетание малоуглового рассеяния с другими современными методами изучения строения вещества вывело МУРР в настоящее время на уровень одного из самых затребованных структурных методов. Далее в главах 3 - 6 данной диссертации на примере работ автора показано развитие возможностей метода малоуглового рентгеновского рассеяния в изучении сложных надмолекулярных ансамблей, в том числе и тех, принципы формирования которых были рассмотрены в главе 2.

**Глава 3** посвящена анализу возможности восстановления трехмерных структур низкого разрешения полидисперсных и полиморфных нанообъектов по данным малоуглового рассеяния помощью компьютерного моделирования.

В кривых малоуглового рассеяния содержится структурная информация об исследуемых рассеивающих объектах с максимальным разрешением порядка 1 нм в соответствии с уравнением Вульфа-Брэгга: размер  $d$  рассеивающего объекта (номинальное разрешение), отвечающий вектору рассеяния  $s$ , будет равен  $2\pi/s$ , где  $s = 4\pi \sin\theta / \lambda$  - модуль вектора рассеяния, а  $2\theta$  - угол рассеяния. Обратная пропорциональность соотношения  $d = 2\pi/s$  указывает на важнейший принцип МУРР: чем больше размер рассеивающего объекта, тем в меньших углах сосредоточено рассеянное им излучение. Поэтому возможен до известной степени независимый анализ строения вещества разных структурных уровней по разным участкам кривой рассеяния. Этот принцип использовался нами для оценки возможности восстановления трехмерных структур низкого разрешения полидисперсных и полиморфных нанообъектов.

Наиболее полную структурную информацию по данным малоуглового рассеяния можно получить только для монодисперсных систем идентичных частиц, для которых интенсивность МУРР непосредственно связана с их структурой и позволяет определить их форму, размер и внутреннее строение с разрешением 0.5 - 1 нм. Однако на практике обеспечить абсолютную монодисперсность исследуемых образцов практически невозможно. Очень часто растворы даже монодисперсных соединений содержат какое-то количество агрегатов или кластеров взаимодействующих частиц, которые не могут быть удалены традиционными методами приготовления и очистки образцов, т.к. являются проявлением существенных свойств и функциональных особенностей исследуемых веществ. Поэтому неизбежно встает вопрос о возможности восстановления формы рассеивающих объектов как таковой и адекватности полученных структурных моделей при наличии частичной агрегации, полидисперсности и полиморфности. В данной главе нами с помощью компьютерного моделирования был проведен анализ результатов структурной реконструкции по данным МУРР формы (I)

различных геометрических тел при наличии полидисперсности, (II) в присутствии различного количества агрегатов, (III) структурно полиморфных частиц и (IV) геометрических тел в составе ассоциатов.

Рассеяние ансамблем идентичных, хаотически расположенных в пространстве частиц описывается интегральным уравнением:

$$I(s) = 4\pi \int_0^{D_{max}} p(r) \frac{\sin(sr)}{sr} dr$$

Здесь  $I(s)$  - интенсивность рассеяния, которая пропорциональна числу фотонов, рассеянных в направлении  $s$ , и  $r$  - расстояние между двумя точками в пространстве.

Под интегралом находится важнейшая характеристика рассеивающих объектов - функция распределения по расстояниям или парная функция  $p(r)$ , которая содержит информацию о форме и структуре частицы и позволяет оценивать ее максимальный размер  $D_{max}$  из условия  $p(r) = 0$  при  $r > D_{max}$ .

Обратное фурье-преобразование интенсивности рассеяния  $I(s)$  позволяет выразить парную функцию в виде уравнения:

$$p(r) = \frac{r^2}{2\pi^2} \int_0^{D_{max}} s^2 I(s) \frac{\sin sr}{sr} ds$$

В практических исследованиях,  $p(r)$  рассчитывают не прямым интегрированием интенсивности (что приводит к сильным эффектам обрыва, поскольку измерения проводятся на ограниченном угловом диапазоне), а с помощью косвенного фурье-преобразования, реализованного в виде компьютерной программы GNOM.

Для компьютерного моделирования геометрические тела разных форм и размеров были сформированы с помощью вспомогательной программы `gen_dam_body` программного комплекса ATLAS.

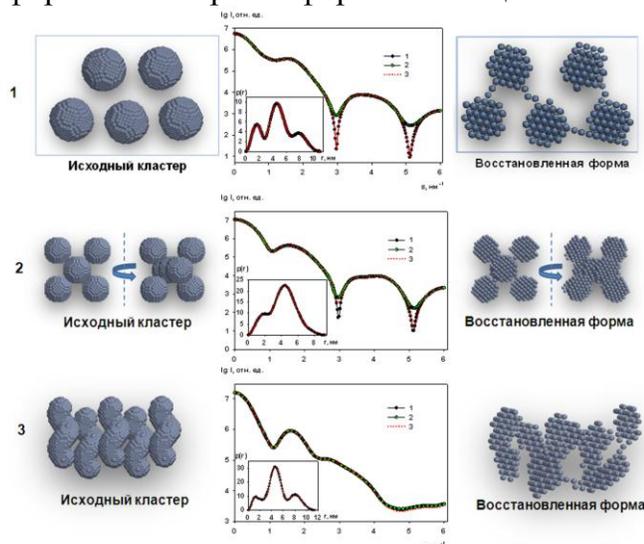
Теоретическая интенсивность рассеяния полученными геометрическими телами рассчитывалась с помощью программы CRYSO.

*Ab initio* восстановление формы рассеивающих объектов проводилось с использованием модели конечных объемных элементов. Поиск трехмерной формы частицы осуществляется в этом методе моделированием отжига, или так называемого генетического алгоритма, который в целом представляет собой эвристический метод решения задачи глобальной минимизации. В *ab initio* методе техника моделирования отжига заключается в вычислении интенсивности рассеяния от произвольной стартовой конфигурации виртуальных атомов, а затем в процессе отжига теоретическая интенсивность рассеяния рассчитывается от случайных модификаций этой конфигурации с тем, чтобы в результате минимизировать невязку  $\chi^2$ , то есть получить минимальное расхождение между экспериментальной и модельной кривыми рассеяния:

$$\chi^2 = \frac{1}{N-1} \sum_{j=1}^N \left[ \frac{I(s_j) - I_{exp}(s_j)}{\sigma(s_j)} \right]^2,$$

где  $I_{exp}(s)$  экспериментальная интенсивность, определенная в  $N$  точках  $s_j, j=1, \dots, N$ , и  $\sigma(s_j)$  соответствующие стандартные отклонения. Такой подход *ab initio* моделирования по данным малоуглового рассеяния реализован в программе DAMMIN. Моделирование структуры кластеров различных конфигураций проводилось с помощью интерактивной программы MASSHA.

Проведенный нами анализ дает оптимистичный прогноз на восстановление формы рассеивающих объектов даже при наличии значительной полидисперсности, полиморфности и межчастичной интерференции. Мало того, холистический подход, когда анализ кривой малоуглового рассеяния включает в себя рассмотрение отдельных ее участков с последующим объединением полученных результатов в единое целое, дает объективную информацию не только об индивидуальных рассеивающих частицах, но и о всей системе в целом. Так, нами был разработан прием, который позволяет определять форму кластеров, используя метод молекулярной тектоники и восстановленную форму отдельных наночастиц по усеченной кривой малоуглового рассеяния. Кроме того, функции парных расстояний  $p(r)$  в полимерных, в частично агрегированных образцах или в кластерах всегда содержат размеры, соответствующие основному рассеивающему телу. Это может быть ярко выраженный максимум при наличии полидисперсности или агрегации не более 10 объемных процентов, или плечо на кривой  $p(r)$  функции в случае более высокой степени полидисперсности или агрегации. Мы показали, что возможен качественный анализ содержания образцов даже в том случае, если рассчитать распределение по размерам наночастиц не представляется возможным. Такой анализ был проведен в нескольких входящих в данную диссертацию работах и подтвержден независимыми структурными методами. В целом, нами впервые было показано, что наличие полидисперсности, частичной агрегации, полиморфизма или межчастичной интерференции отнюдь не всегда, как это предполагалось ранее, являются препятствием для восстановления формы рассеивающих объектов по данным МУРР и были определены условия и ограничения такого восстановления. Примеры реконструкции формы кластеров и формы частиц в их составе представлены на Рисунке 1.



**Рис. 1.** Восстановление формы кластера и частиц в его составе: кластер, состоящего из 5 несоприкасающихся сфер (1-ый ряд); объемный кластер, состоящий из 7 соприкасающихся сфер в форме креста (2-ой ряд); кластер, состоящий из 5 параллельно уложенных спиральных тел (3-ий ряд). В центре: 1 – теоретическая кривая МУР рассеяния кластером; 2 – модельная кривая для восстановленной по функции  $p(r)$  формы кластера и формы индивидуальных частиц в его составе; 3 – кривая экстраполяции в

нулевой угол при расчете функции  $p(r)$  программой GNOM. Кластер сферических частиц в виде креста изображен в двух ориентациях, развернутых друг относительно друга на небольшой угол, чтобы было видно 3 сферы, образующие стержень фигуры. На вставках: функции  $p(r)$ .

**Глава 4** посвящена малоугловому рентгеновскому рассеянию и структурному моделированию частично упорядоченных полимерных нанокомпозитов. Было проведено изучение процессов формирования и стабилизации металлических наночастиц в различных полимерных матрицах, в том числе в самоорганизующихся комплексах полиэлектролитных гелей с противоположно заряженными поверхностно-активными веществами и в мультислойных полимерных системах. Исследовалась также структура металлизированных мицеллярных систем и закономерности формирования наночастиц металлов в композитах в среде сверхкритического  $\text{CO}_2$ . Кроме того, методом малоуглового рентгеновского рассеяния анализировалась надмолекулярная архитектура таких квазикристаллических полимерных матриц, как полые наноструктуры, образованные  $i$ - и  $k$ -каррагинанами в комплексе с поверхностно-активными соединениями, гибридные полимерные наночастицы, а также морфология и структурные переходы в новых диблок сополимерах.

Важно отметить, что для того, чтобы исследовать и структуру матриц и распределения по размерам внедренных в них металлических наночастиц, вклады этих двух составляющих в общее рассеяние следует разделить. Традиционный метод вычитания рассеяния матрицей из общего рассеяния образцом возможен только в тех случаях, где полимерная составляющая не меняет своей структуры в процессе формирования в ней наночастиц металла. В том случае, когда структурные изменения в матрице имели место, мы использовали метод аномального МУРР. Измерения проводились на разных длинах волн рентгеновского излучения  $\lambda$ , то есть при различных энергиях падающего пучка  $E$ . При этом рассеивающий фактор атома определяется следующим образом:

$$f(E) = f_0 + f'(E) + i f''(E),$$

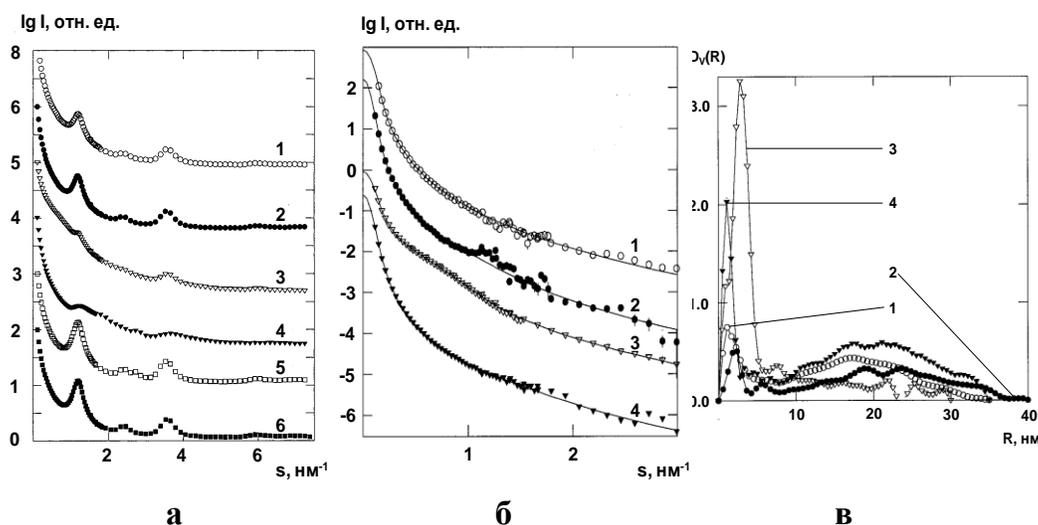
где дисперсионные поправки  $f'(E)$  и  $f''(E)$  становятся существенными вблизи края полосы поглощения резонансного атома. Измерения проводились вблизи  $L_3$  – полосы поглощения атомами Au и Pt при энергии фотонов  $E=11.9$  и  $11.5$  кэВ ( $\lambda = 0.104$  и  $0.107$  нм, соответственно). Для каждого образца, кривые рассеяния  $I(s, E_k)$  были измерены при четырех энергиях падающего излучения  $k=0, \dots, 3$  в районе края полосы поглощения соответствующего металла. Первая энергия была выбрана сравнительно далеко от края полосы поглощения ( $E_0=11.560$  и  $11.487$  кэВ для образцов Au и Pt, соответственно). Для трех энергий вблизи резонансного рассеяния ( $E_{1,2,3}=11.870, 11.915$  и  $11.919$  кэВ для Au;  $11.535, 11.555$  и  $11.564$  кэВ для Pt), аномальные поправки составили приблизительно  $-0.06 f(E_0)$ ,  $-0.10 f(E_0)$  и  $-0.20 f(E_0)$ , соответственно. Разность между кривыми рассеяния, полученными при разных энергиях  $\Delta_k(s) = I(s, E_0) - I(s, E_k)$ , пропорциональна рассеянию резонансными атомами. Эти разностные кривые были использованы при вычислении

объемных функций распределения по размерам  $D_V(R)$  и для исследования структур, образуемых атомами Au и Pt в соответствующих полимерных матрицах.

Вычисление объемных функций распределения по размерам  $D_V(R)$  проводилось решая интегральное уравнение:

$$I(s) = (\Delta\rho)^2 \int_{R_{min}}^{R_{max}} D_V(R) V(R) i_0(sR) dR$$

относительно  $D_V(R)$  с помощью компьютерной программы GNOM в предположении сферичности образованных наночастиц. В этом уравнении  $R$  – радиус сферы,  $R_{min}$  и  $R_{max}$  – минимальный и максимальный размеры,  $i_0(x) = \{[\sin(x) - x \cos(x)] / x^3\}^2$  и  $m(R) = (4\pi/3)R^3$  – соответственно форм-фактор сферы и ее объем. Плотность рассеивающей длины аномальных атомов определяется как  $\Delta\rho = (N_0^2 - N_k^2)e/v_{at}$ , где  $N_0$  и  $N_k$  – число электронов, вносящих вклад в рассеяние вдали от резонанса и при  $\lambda = \lambda_k$ ,  $e$  – томпсоновский радиус электрона и  $v_{at}$  – атомный объем. Для  $k=3$  (максимум аномального сигнала)  $\Delta\rho = 6.80 \cdot 10^{11}$  и  $6.94 \cdot 10^{11} \text{ см}^{-2}$  для Pt и Au, соответственно.



**Рис. 2.** Пример исследования образования наночастиц золота в мультислоевых полиоктадецилсилоксанах (PODS). Экспериментальные (а) и разностные - аномальный сигнал (б) кривые малоуглового рассеяния от мультислоевых PODS, содержащие наночастицы золота: кривые 1 - 5 соответствуют образцам Au1, Au2, Au3, Au4 и Au5, кривая 6 – исходный PODS. Панель (в): распределения по размерам наночастиц золота в мультислоевых PODS для образцов Au1, Au2, Au3 и Au4. Образец Au5, в котором не проводилось восстановление металла, был использован в качестве образца сравнения и, поскольку он не содержал наночастицы золота, то он и не давал аномального сигнала и, соответственно, для него не рассчитывались распределения по размеру.

Взаимное расположение брегговских пиков на кривых малоуглового рассеяния для этих систем указывает на ламеллярный характер структуры полимерных матриц со средним периодом  $d = 5.24$  нм, что соответствует суммарной толщине силоксанового бислоя и двойного слоя гидрофобных хвостов PODS.

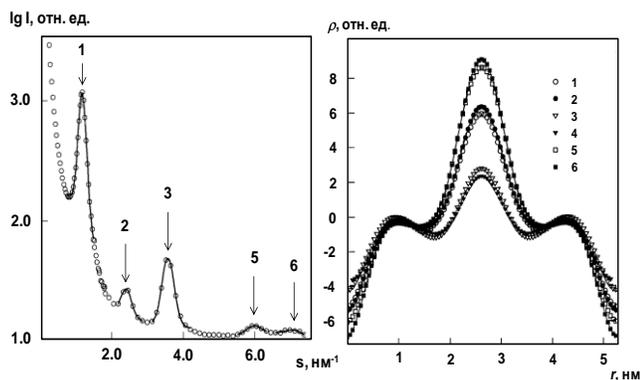
Для определения строения полимерных матриц и выяснения локализации наночастиц металла в полиоктадецилсилоксанах по брегговским пикам были вычислены

структурные характеристики всех изученных систем и рассчитаны центросимметричные профили электронной плотности  $\rho(r)$  с помощью одномерного Фурье-преобразования:

$$\rho(r) = \sum_{l=1}^N s_l A(s, l) = \sum_{l=1}^N s_l \sin \pi s r [\pm \sqrt{S(l)}] ,$$

Здесь  $N$  число пиков, а  $s_l$  и  $S(l)$  – положение и площадь 1-го брегговского пика, соответственно.

Один из примеров полученных центросимметричных профилей электронной плотности показан на Рисунке 3.



**Рис. 3.** Слева: приближение кривой рассеяния исходным PODS (символы) набором гауссовых пиков (сплошные линии). Позиции пиков указаны стрелками, номера порядков вторичных рефлексов показаны цифрами. Справа: профили электронной плотности, в направлении, перпендикулярном к плоскости ламелл в образцах PODS: для образцов с наночастицами золота. 1 – 5: нумерация соответствует образцам Au1-Au5, (6) – без металла.

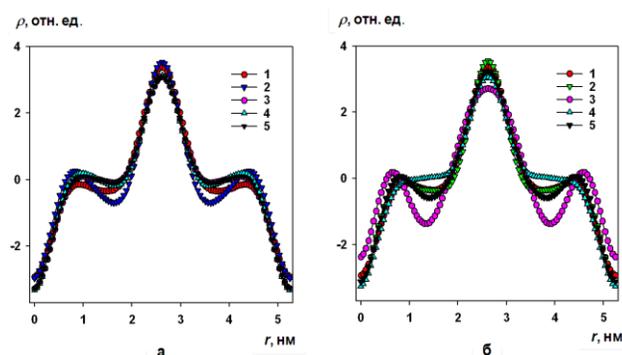
Учитывая низкую разрешающую способность МУРР  $2\pi/s_{\max}=1\text{нм}$ , атомы кремния, принадлежащие двум соседним монослоям, дают один пик профиля электронной плотности в центре бислоя. Полная ширина этого пика равна 2 нм, что хорошо соотносится с размером самых мелких частиц, сформированных в этих системах, и подтверждает предположение о том, что жесткая полимерная матрица ограничивает рост наночастиц внутри силоксанового бислоя. Вне центрального пика электронная плотность мало изменяется на протяжении 1.8 нм, соответствуя плотно упакованным алкильным хвостам. Достигая границ бислоя, электронная плотность резко падает, что свидетельствует об отсутствии упорядоченности в пограничных контактах типа «хвост-хвост». Высота центрального пика для металлсодержащих образцов уменьшается по сравнению с исходными PODS. Это связано с присутствием наночастиц в силоксановом бислое, процессы формирования которых приводят к частичной деформации регулярной слоевой структуры и, как следствие, к снижению электронной плотности упорядоченных мотивов. Наибольшие изменения наблюдаются для образцов, которые содержат максимальное количество частиц малых размеров. Это говорит о том, что эти частицы действительно формируются внутри кремниевого бислоя. В том случае, когда в образце присутствуют фракции более крупных частиц, они формируются в области алкильных хвостов и, возможно в пограничных «хвост-хвост» регионах. В пользу последнего свидетельствует некоторое увеличение электронной плотности периферийных областей бислоя.

По совокупности проанализированных нами данных МУРР мы смогли предложить общую структурную модель, которая объяснила характерные особенности формирования наночастиц металлов в системах PODS, в том числе в гибридных, где PODS был модифицирован октадецеином - PODS/ODC (система I) или октадециламином - PODS/ODA (система II). Источником ионов платины служили соединения  $K[(C_2H_4)PtCl_3] \times H_2O$  (соль Цейзе) для системы I и  $H_2PtCl_6$  для системы II. Восстановление ионов платины проводилось с помощью  $NaBH_4$  и с помощью  $H_2$ . Структурные характеристики обеих систем, вычисленные с помощью программы PEAK, представлены в Таблице 1.

**Таблица 1.** Структурные характеристики исходных систем PODS и с восстановленными наночастицами платины

Образцы	$s_1, \text{нм}^{-1}$	$L, \text{нм}$	$\Delta/\bar{d}$	$\bar{d}, \text{нм}$
Исходный PODS	$1.19 \pm 0.01$	$35 \pm 2.0$	$0.12 \pm 0.01$	$5.26 \pm 0.05$
Система I				
PODS/ODC	$1.17 \pm 0.01$	$35 \pm 2.0$	$0.12 \pm 0.03$	$5.35 \pm 0.06$
PODS/ODC+ соль Цейзе	$1.18 \pm 0.01$	$40 \pm 2.0$	$0.11 \pm 0.02$	$5.33 \pm 0.06$
PODS/ODC+ соль Цейзе- $NaBH_4$	$1.19 \pm 0.01$	$44 \pm 4.0$	$0.11 \pm 0.01$	$5.26 \pm 0.05$
PODS/ODC+ соль Цейзе- $H_2$	$1.20 \pm 0.03$	$39 \pm 2.0$	$0.12 \pm 0.01$	$5.24 \pm 0.04$
Система II				
PODS/ODA	$1.20 \pm 0.01$	$38 \pm 3.0$	$0.12 \pm 0.01$	$5.23 \pm 0.03$
PODS/ODA- $H_2PtCl_6 \times 6H_2O$	$1.21 \pm 0.02$	$43 \pm 4.0$	$0.11 \pm 0.03$	$5.20 \pm 0.06$
PODS/ODA- $H_2PtCl_6 \times 6H_2O$ - $NaBH_4$	$1.19 \pm 0.02$	$36 \pm 5.0$	$0.12 \pm 0.03$	$5.14 \pm 0.07$
PODS/ODA+ $H_2PtCl_6 \times 6H_2O$ - $H_2$	$1.20 \pm 0.02$	$30 \pm 5.0$	$0.13 \pm 0.03$	$5.18 \pm 0.05$

Соответствующие centrosymmetric profiles электронной плотности в направлении, перпендикулярном плоскости ламелл в этих структурах, показаны на Рисунке 4.

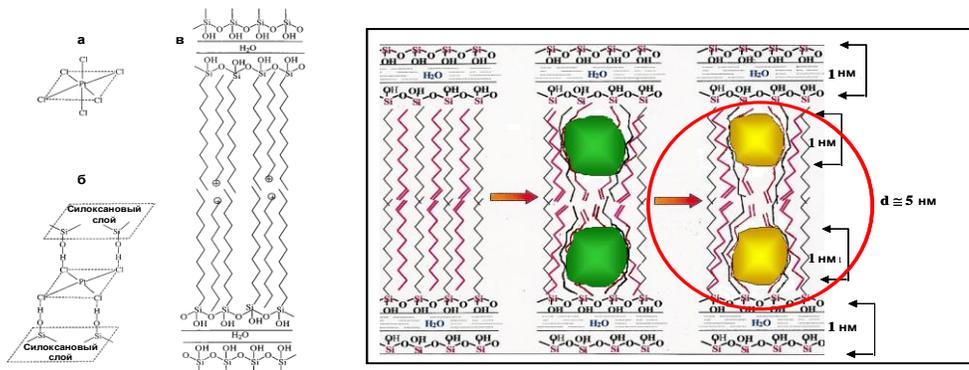


**Рис. 4.** Centrosymmetric profiles электронной плотности в направлении, перпендикулярном плоскости ламеллы в мультислойных структурах PODS/ODC (а) и PODS/ODA (б): исходный PODS (1); модифицированный PODS (2); модифицированный PODS с соответствующими соединениями платины (3); после восстановления ионов платины с помощью  $NaBH_4$  (4) и с помощью  $H_2$  (5).

Как видно из профилей электронной плотности, инкорпорация модификаторов ODC или ODA частично искажает регулярную упаковку алкильных хвостов (Рис. 4 а и б, кривые 2). Введение соли Цейзе ( $K[(C_2H_4)PtCl_3] \times H_2O$ ) в качестве источников ионов платины в систему I с последующим их восстановлением с помощью  $NaBH_4$  или  $H_2$  приводит к существенному повышению электронной плотности в области, прилегающей к силоксановому бислою. Однако, толщина бислоя при этом не меняется. Профили

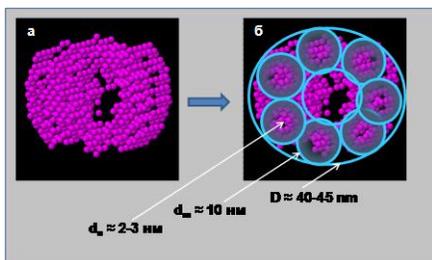
электронной плотности для системы II демонстрируют заметную структурную реорганизацию под влиянием металлизации с помощью  $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \times 6\text{H}_2\text{O}$ . Полуширина центрального пика, которая равна приблизительно 1 нм для PODS/ODA системы, вырастает до 1.6 нм для PODS/ODA- $\text{H}_2\text{PtCl}_6$ , указывая на увеличение расстояния между атомами Si. Более того, существенные изменения наблюдаются также в областях, которые занимают гидрофобные алкильные хвосты. Эти изменения могут быть отнесены к частичной инкорпорации  $\text{PtCl}_6^{2-}$  ионов в силоксановый бислои, а искажения структуры гидрофобного слоя происходят за счет образования молекул  $(\text{PtCl}_6^{2-})(\text{ODAH}^+)_2$ . Восстановление ионов Pt с помощью  $\text{NaBH}_4$  приводит и к восстановлению структуры PODS, в то время как при использовании  $\text{H}_2$  структурные нарушения частично сохраняются и полуширина центрального силоксанового пика становится равной 1.2 нм. Это свидетельствует о том, что в системе II наночастицы Pt могут формироваться в непосредственной близости силоксанового бислоя

Предложенная нами модель объединила все экспериментальные данные, полученные для этих композитов другими методами (Рис.5).



**Рис. 5.** Слева: геометрия  $\text{PtCl}_6^{2-}$  иона (а); схематическое взаимодействие планарного иона  $\text{K}_2\text{PtCl}_4$  с силанольной группой силоксанового бислоя (б); схематический вид гибридного комплекса PODS/CPC (в). Справа: Схематическое представление комплекса PODS после интеркаляции модификаторов ODC или ODA (цепи показаны красным цветом), введения соединения платины (зеленый цвет) и восстановления металлических наночастиц (желтый цвет).

Метод аномального МУРР и детальный структурный анализ был применен нами также для многих других композитов, в том числе для металлизированных мицелярных систем. Эти работы явились логическим продолжением наших исследований в области нанокompозитов, содержащих металлические наночастицы и здесь впервые для таких систем был применен принцип *ab initio* моделирования для получения многоуровневых структурных моделей изученных образцов (Рис. 6)

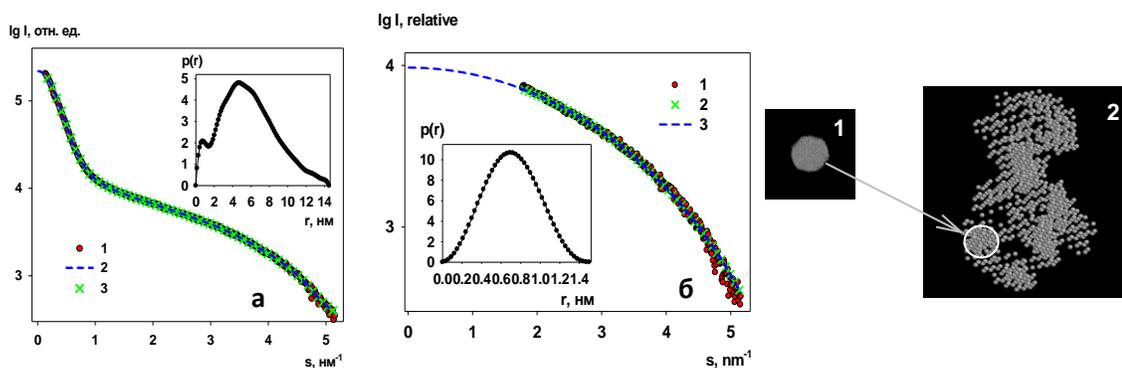


**Рис. 6.** Схема организации наночастиц платины в мицелярных структурах: а - *ab initio* модель, полученная с помощью программы DAMMIN и б - структурная модель комплекса ди-блок сополимеров. Определенные с помощью аномального МУРР распределения по размерам наночастиц платины показали, что они имеют размер  $d_n \approx 2-3$  нм и локализованы в мицеллах,

образованных сополимерами. Было показано, что эти мицеллы практически монодисперсны и имеют в среднем размер  $d_m \approx 10$  нм. Они агрегируют, образуя сплюснутые слегка полые сферы с размерами  $D \approx 40$  для ди-блок сополимера и  $D \approx 45$  нм для три-блок сополимера.

Аналогичные результаты, демонстрирующие наличие общих закономерностей в процессах формирования наночастиц в мицеллах блок сополимеров, были получены нами при формировании магнитных наночастиц в мицеллах амфифильного блок сополимера поли(этиленоксид)-блок-поли(метакриловой кислоты).

Нами также был проведен цикл работ, посвященных формированию наночастиц металлов в композитах в среде сверхкритического  $\text{CO}_2$ . Метод малоуглового рассеяния позволил определить не только характер внутреннего строения заполненных восстановленным или невосстановленным серебром пор различных композитов, но также определить форму индивидуальных наночастиц серебра и распределение по размерам в изученных полимерных системах. Кроме того, нами впервые была показана возможность на реальных образцах по одной и той же кривой рассеяния восстанавливать форму низкого разрешения как кластеров, так и наночастиц в составе этих кластеров, как это было продемонстрировано в главе 3 с помощью компьютерного моделирования (Рис. 7).

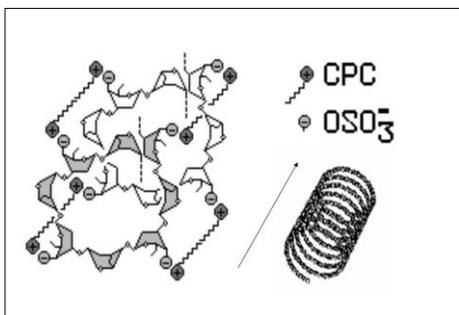


**Рис. 7.** Слева: экспериментальные и модельные кривые рассеяния, посчитанные для функции  $p(r)$  для образца с восстановленными наночастицами серебра, посчитанные на разных угловых интервалах: а - интервал  $0.07 < s < 5.2 \text{ nm}^{-1}$ ; б - интервал  $1.75 < s < 5.2 \text{ nm}^{-1}$ : 1 – экспериментальная кривая МУРР; 2 – кривая экстраполяции в нулевой угол при расчете функции  $p(r)$  программой GNOM; 3 – модельная кривая для данной функции  $p(r)$ . Во врезке: функции  $p(r)$  для данного интервала. Справа: восстановленные формы индивидуальных наночастиц серебра и их агрегатов в матрицах ПВП: 1 - пространственная модель индивидуальных наночастиц серебра; 2 - пространственная модель агрегатов наночастиц. Масштабы моделей соответствуют друг другу.

В цикле структурных работ методом МУРР нами была показана принципиальная и практическая возможность формирования наночастиц металлов в структурированных матрицах. Однако, для медицинских и биологических приложений желательно, чтобы формирующая и стабилизирующая матрица имела природное, биологическое происхождение. Среди работ, вошедших в данную диссертацию, исследование полых наноструктур, образованные такими биологическими объектами как  $i$ - и  $k$ -каррагинаны в комплексе с поверхностно-активными соединениями (например, СРС), следует отметить особо. При комнатной температуре водные растворы каррагинанов образуют слабо

эластичные физические гели, но будучи сильными полиэлектролитами за счет присутствия сульфатных групп они подвергаются коллапсу при взаимодействии с ионными ПАВ. В этом исследовании нами была впервые показана принципиальная возможность использования метода *ab initio* восстановления формы для полидисперсных образцов, а проведенный нами анализ с помощью комплементарных методов интерпретации данных МУРР, включая моделирование геометрическими телами, определение фрактальных размерностей и моделирование структуры с помощью квантово-механического метода полностью подтвердили правомочность такого подхода.

В результате нами была предложена детальная модель строения каррагинан/СРС комплекса (Рис. 8). Кроме того, в заключении этой работы нами было высказано предположение, что образование спиралей может быть одним из универсальных путей само-организации заряженных полимеров.



**Рис. 8.** Модель супер-спирали, представляющая каррагинан/СРС комплекс: слева схематично показаны 2 витка спирали, элементами которой являются мономеры каррагинана, и справа целая спиральная структура. Стрелкой показано направление оси спирали.

Помимо рассмотренных выше работ, изучение нами структуры гибридных полимерных наночастиц, сформированных с помощью гидролитической конденсации октадецилдиметил (3-триметоксисилилпропил) хлорида аммония и тринатриевой соли триуксусной кислоты N (триметоксисилилпропил) этилендиамина в процессе самосборки с неионным ПАВ на основе полиэтиленгликоля с гидрофобным октадециловым хвостом, а также исследование морфологии и структурных переходов в новых диблок сополимерах на основе 1-цетил [2-(акрилоилокси) этил] диметил аммоний бромида и 2-гидроксиэтилакрилат или N-изопропилакриламид методом МУРР убедительно показало возможность получения самых разных заранее заданных полимерных структур, варибельность которых определяется условиями синтеза, составом композитов и физическими параметрами окружающей среды. Для всех изученных нами систем были разработаны пространственные структурные модели, позволяющие понять физическую и химическую природу происходящих в них процессов.

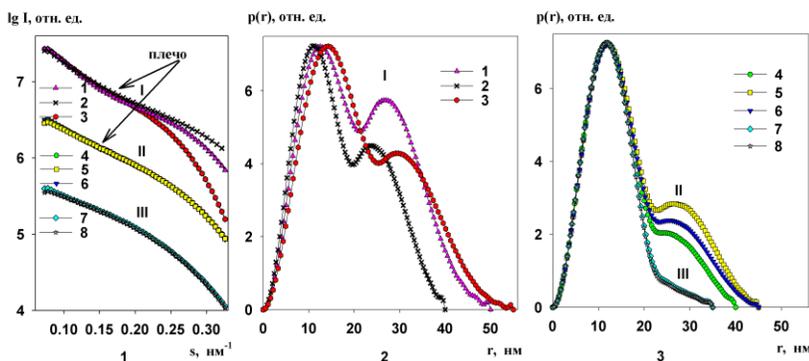
**Глава 5** посвящена структурным исследованиям монодисперсных нанокомпозитов, к которым относятся водорастворимые ферромагнитные наночастицы, стабилизированные биodeградируемыми полимерами, и жесткоцепные ароматические дендримеры, содержащие квантовые точки CdS.

Одной из самых интересных и важных с точки зрения применения является проблема создания ферромагнитных жидкостей, т.е. коллоидных растворов

ферромагнитных частиц нанометровых размеров. Существует несколько способов получения магнитных наночастиц, но одним из самых популярных является метод термальной декомпозиции соединений железа, кобальта, никеля и некоторых других металлов в среде поверхностно-активных веществ (ПАВ). При таком способе синтеза получается достаточно узкое распределение по размерам, что очень важно с точки зрения практического применения ферронаномагнетиков.

Следующей задачей является стабилизация таких наночастиц в растворе. Для этого их покрывают защитной оболочкой из различных полимерных соединений, которая не дает возможности частицам агрегировать под влиянием Ван-дер-Ваальсовых или магнитных сил. В зависимости от того, какое соединение было использовано для инкапсулирования, можно получить коллоидные органические или водные растворы. Последние особенно важны для применения ферромагнитных жидкостей в медицине и биологии. В этом случае для защитных оболочек используются биосовместимые соединения, например такие, как полиэтиленгликоль.

Структура ферромагнитных частиц с различными полимерными оболочками и их поведение в водных растворах были подробно изучены нами методом МУРР. Анализ данных малоуглового рассеяния был проведен в два этапа. Первым этапом было определение структурных характеристик индивидуальных наночастиц оксида железа по кривым МУР в интервале углов  $s > 0.3 \text{ нм}^{-1}$ . На втором этапе исследовалось взаимодействие наночастиц, используя для этого начальный участок профиля рассеяния  $s < 0.3 \text{ нм}^{-1}$ . При этом структурные модели, полученные на первом этапе, были использованы во второй фазе нашего исследования для изучения поведения в растворе ферромагнитных наночастиц, покрытых защитными оболочками с различной степенью модификации. В результате подходы, разработанные нами, позволили определить условия стабилизации ферромагнитных частиц в растворах в зависимости от состава и толщины полимерного покрытия (Рис. 9).



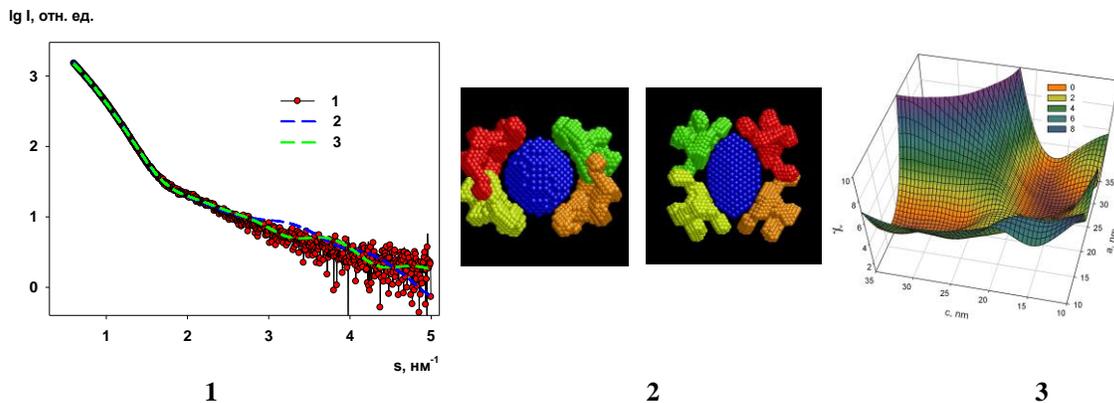
**Рис. 9.** 1 - сравнение начальных участков кривых рассеяния; 2 и 3 - функции распределения по расстояниям для наночастиц, покрытых защитными сополимерами с разной степенью модификации и толщины защитного слоя.

Как видно из Рис. 9, начальные участки экспериментальных кривых в интервале угловых векторов  $0.07 < s < 0.3 \text{ нм}^{-1}$  отличаются друг от друга по форме. Так, рассеяние образцами 1, 2 и 3 характеризуется хорошо выраженным плечом в интервале  $0.10 - 0.20 \text{ нм}^{-1}$  и, следовательно, в основном отражает межчастичную интерференцию и образование динамических кластеров взаимодействующих наночастиц. Наночастицы

этой группы покрыты наиболее плотными оболочками. Кроме того, все наночастицы этой группы имеют разные размеры, из чего следует, что взаимодействие наночастиц в растворе определяется не их размером, а свойствами защитного слоя.

Для второй группы образцов (4, 5 и 6) межчастичная интерференция выражена слабо. К этой группе относятся образцы с меньшей плотностью покрытия. Рассеяние образцами 7 и 8 (третья группа) не содержит признаки межчастичной интерференции. К этой группе относятся наночастицы, покрытые оболочкой, модифицированной короткими этиленгликольными хвостами.

В главе 5 представлены также результаты изучения процессов образования и стабилизации квантовых точек CdS в присутствии полипиридилфениленовых дендримеров третьей генерации (PPPD) в зависимости от условий синтеза и архитектуры PPPD. С помощью *ab initio* моделирования и метода молекулярной тектоники впервые удалось визуализировать трехмерную морфологию наночастиц композитов CdS/PPPD по данным МУРР. Структура нанокомпозитов CdS/PPPD была детально исследована и восстановлена при наличии некоторой полидисперсности образцов и кластеризации, а также в присутствии структурного полиморфизма квантовых точек CdS. В результате методом малоуглового рентгеновского рассеяния с применением предложенных нами новых методов интерпретации данных МУРР применительно к умеренно полидисперсным и полиморфным композитам удалось показать, что сильное взаимодействие между молекулами дендримера и растущими квантовыми точками приводит к образованию несферических, эллипсоидальных наночастиц CdS, окруженных и стабилизированных в среднем 4-мя макромолекулами дендримеров (Рис. 10). Следует отметить, что хорошее соответствие с экспериментальными данными (наименьшая невязка) было достигнуто в сравнительно узком интервале параметров модельных тел. Мало того, моделирование различными другими геометрическими телами разных размеров не приводило к улучшению решения, что свидетельствует о практически единственной возможной пространственной организации нанокомпозитов.



**Рис. 10.** Моделирование с помощью молекулярной тектоники для композита CdS/PPPD. Панель 1: экспериментальная кривая МУРР (1); рассеяние от модели с ядром  $1.7 \times 2.0 \times 2.3$  нм, показанной на панели 2 (слева) (2); рассеяние от модели с ядром  $2.5 \times 2.5 \times 1.5$  нм, показанной на панели 2 (справа) (3). Панель 2: реконструкция структуры нанокомпозита программой SASREF (синий цвет: CdS ядро, другие

цвета: tri-PPPD молекулы). Панель 3: цветовая поверхность решений: зависимость невязки от параметров CdS ядра с полуосями a, b, c. Полученные значения окрашены в разные цвета. Самый глубокий минимум наблюдается для сплюснутых частиц с a = 2.5 нм и c = 1.5 нм.

Полученные в данной работе структурные модели нанокompозитов CdS/PPPD подтверждаются свидетельствами других методов, включая ПЭМ, но значительно превосходят их по информативности. Так, например, МУРР позволил смоделировать стабилизирующую оболочку из дендримеров для квантовых точек CdS, в то время как с помощью ПЭМ эта оболочка не видна из-за низкого контраста. Опираясь на данные комплементарных методов, нет возможности также узнать число молекул дендримеров, необходимых для стабилизации квантовых точек, в то время как метод малоуглового рассеяния позволил успешно справиться с этой задачей.

В целом, результаты, представленные в данной главе, убедительно показали потенциал МУРР применительно к умеренно полидисперсным и полиморфным системам и возможность использования метода в структурной нанодиагностике сложных композиционных материалов.

**Глава 6** посвящена структурной нанодиагностике биологических макромолекул и их комплексов. В рассмотренных в этой главе работах представлены современные подходы к анализу малоугловых данных при исследовании биологических нанокompозитов и комплексов. Одним из важнейших мотивационных моментов использования МУРР для структурной диагностики биологических объектов является возможность измерения в растворе, то есть в условиях близких к физиологическим.

Усложнение объектов исследования неизбежно требует разработки новых подходов к решению структурных задач. В данной главе нами показана возможность построения моделей и восстановления структуры низкого разрешения для системных объектов - бионанокompозитов и биологических комплексов. Для уменьшения неоднозначности в решении обратных задач малоуглового рассеяния нами использовался комплексный подход, где МУРР сочетается с кристаллографией, АСМ, ПЭМ, УЦФ, хроматографией on-line, компьютерным моделированием и другими методами.

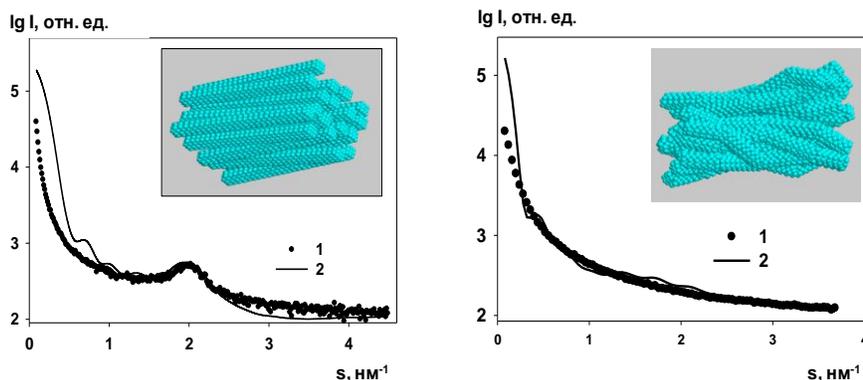
Среди недавно изученных бионаноконструкций жесткие частицы холестерических жидко-кристаллических дисперсий (ХЖКД), сформированные из двухцепочечных макромолекул ДНК, в которые инкорпорированы различные гостевые молекулы (биологически активные и/или химические вещества), заслуживают особого внимания благодаря возможности их использования в анти-раковой терапии. Так, ионы  $Gd^{3+}$ , связывающиеся с линейной двухцепочечной ДНК в водно-солевых растворах или в ХЖКД могут быть использованы в противоопухолевой терапии, в связи с известной реакцией захвата теплового нейтрона гадолинием-157:  $^{157}Gd + n \rightarrow ^{158}Gd + \gamma$ , когда происходит выделение энергии порядка 30 эВ на атом. Это вторичное излучение полностью уничтожает опухолевые клетки вокруг внедренного биокомплекса. Наночастицы золота также являются перспективными для лечения онкологических

заболеваний. Введение гостевых ионов в фосфатные группы или в основания полинуклеотидов приводит к формированию новых биологических наноматериалов, свойства которых зависят от условий приготовления и, соответственно, определяют их возможное применение. Поэтому комплексная структурная характеристика подобных наноконструкций, в том числе и с помощью малоуглового рассеяния, необходима при разработке новых наноразмерных противоопухолевых препаратов и других наноматериалов медицинского назначения.

Нами было проведено 2 цикла работ, посвященных структурным исследованиям квазинематических слоев молекул ДНК, индуцированных (1) катионами редкоземельных элементов и (2) наночастицами золота.

Жесткие частицы холестерических жидко-кристаллических дисперсий (ХЖКД), сформированные из двухцепочечных макромолекул ДНК в комплексе с гостевыми молекулами или наночастицами металлов демонстрируют уникальные свойства, которые выражаются в двух главных эффектах: 1) изменение отрицательной полосы спектра кругового дихроизма (КД), которая характерна для исходных ХЖКД на основе ДНК, и 2) исчезновение характеристических брегговских пиков на экспериментальных кривых МУРР, соответствующих пространственно организованным двухцепочечным макромолекулам ДНК. Изначально эти эффекты казались несовместимыми и противоречащими друг другу и, соответственно, нуждались в объяснении. Помимо определения характеристических параметров систем ХЖКД ДНК, нами было проведено структурное моделирование перехода между «жидким» и «жестким» состоянием макромолекул двухцепочечной ДНК в составе частиц ХЖКД в процессе их взаимодействия с гостевыми включениями, и сравнение полученной информации с результатами структурных исследований.

Пример моделирования структурных переходов в квазинематических слоях молекул ДНК, индуцированных катионами редкоземельных элементов ( $GdCl_3$ ), представлен на Рисунке 11. Наилучшее совпадение с экспериментальными данными дала модель ансамбля модельных цилиндров (линейных молекул ДНК) с небольшим нарушением параллельности упаковки (Рис. 11, слева).

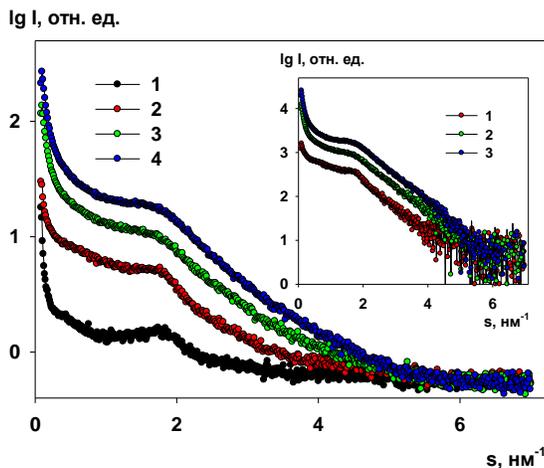


**Рис. 11.** Сравнение экспериментальных кривых МУРР для исходных систем ХЖКД ДНК (кружочки) с модельными кривыми от систем длинных цилиндров (непрерывные линии): слева - невысокая степень разупорядочения параллельной упаковки ДНК; справа - высокая степень разупорядочения с

изгибом цилиндров. Вставки: PDB-модели упаковок молекул ДНК. Диаметр цилиндров 2.3 нм, длина 40-50 нм и расстояние между центрами цилиндров приблизительно 3.0 - 3.3 нм.

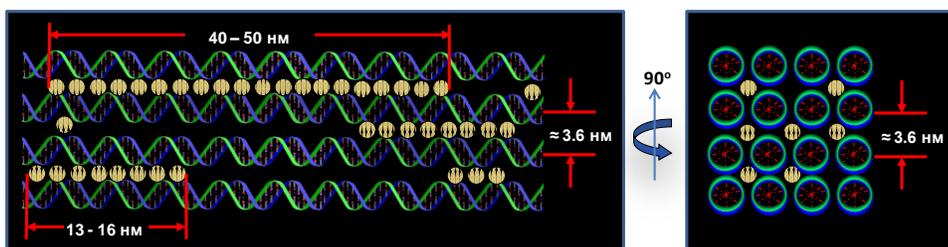
Результаты, полученные в этом исследовании, помогли разрешить противоречия между данными кругового дихроизма и малоуглового рассеяния. Структурное моделирование показало, что исчезновение характеристических брегговских пиков на кривых МУРР объясняется изменением упаковки молекул ДНК в частицах ХЖКД, в то время как спектры КД свидетельствовали о большем числе возникших связей ионов гадолиния с полинуклеотидом при повышении концентрации соли  $GdCl_3$  в системе. То есть совместное применение МУРР и КД позволило провести взаимодополняющий анализ системы ХЖКД ДНК на двух различных структурных уровнях.

Нами также было показано, что структура квазинематических слоев молекул ДНК с инкорпорированными наночастицами золота разных (возрастающих) концентраций (Au1, Au2 и Au3) изменяется главным образом в зависимости от размера наночастиц металла. На Рисунке 12 приведены кривые малоуглового рассеяния ХЖКД ДНК с инкорпорированными наночастицами золота с размером 2 нм.



**Рис. 12.** Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния образцов исходной ХЖКД ДНК (DNA) и жидко-кристаллической дисперсии ДНК с инкорпорированными наночастицами золота размером 2 нм: 1 – DNA; 2 - DNA+Au1; 3 - DNA+Au2; 4 - DNA+Au3. На вставке представлены разностные кривые, где рассеяние от исходной ХЖКД ДНК вычтено: 1 - (DNA+Au1)-DNA, 2 - (DNA+Au2)-DNA и 3 - (DNA+Au3)-DNA.

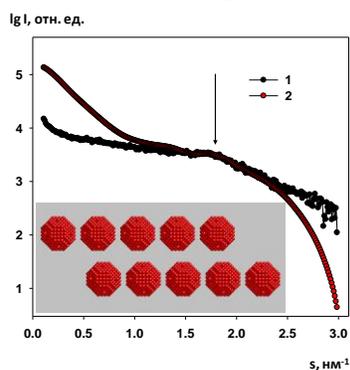
Совпадение посчитанных нами по данным МУРР основных характеристических параметров структуры исходной ХЖКД ДНК и структур, образованных непосредственно наночастицами золота, свидетельствует о том, что наночастицы, не изменяя архитектуру ХЖКД ДНК, встроились в нее: они обволакивают и контрастируют макромолекулы ДНК, воспроизводя таким образом структуру жидкокристаллической дисперсии. Иными словами наночастицы золота образуют контрастную реплику структуры исходной ХЖКД ДНК, как это показано на Рисунке 13.



**Рис. 13.** Гипотетическая модель строения комплекса DNA+ Au (2 нм) .

Дополнительным и независимым подтверждением слоевого расположения наночастиц золота в структуре ХЖКД ДНК было компьютерное моделирование

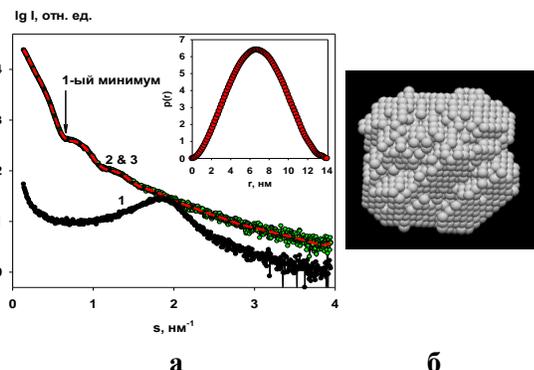
строения кластеров и их взаимного расположения с последующим сравнением теоретической кривой рассеяния от таких моделей с экспериментальным малоугловым профилем. При этом моделировался только участок брэгговского максимума на кривой рассеяния, поскольку в таком моделировании невозможно воспроизвести реальное расположение соседних кластеров наночастиц золота, их взаимодействие между собой и со структурой матрицы ДНК, а также многое другое, соответствующее сложной структуре комплекса в целом. Нам было важно показать, что межплоскостное расстояние в моделях соответствует межплоскостному расстоянию в реальных образцах. Результаты моделирования представлены на Рисунке 14.



**Рис. 14.** Сравнение экспериментальной (DNA+Au1)-DNA (1) и модельной (2) кривых рассеяния для кластеров золота в области Брэгговского пика (указан стрелкой). На вставке внизу – гипотетическое расположение наночастиц золота между слоями ДНК. Расстояние между слоями задано равным 3,6 нм.

Анализ парных функций  $p(r)$  для этих систем показал, что ассоциаты Au состоят из индивидуальных наночастиц с размерами порядка 2.0 нм, которые образуют короткие и длинные кластеры, расположенные между молекулами ДНК, упорядоченными в квазинематических слоях частиц ХЖКД. Стабильность таких линейных кластеров может быть связана с рядом факторов: возможной s-p гибридизацией при связывании наночастиц Au с реакционно способными местами молекул ДНК, образованием «ауофильных» связей между атомами золота, уменьшением длины связи Au-Au и перекрыванием d-орбит. Распределение кластеров по размерам (длинам) может определяться кинетическими факторами и возможностью сосуществования кластеров разного размера.

Было важно также исследовать изменение в структуре жидко-кристаллических дисперсий двухцепочечных ДНК при инкорпорации в них более крупных наночастиц золота. Были измерены кривые малоуглового рассеяния от образцов ХЖКД ДНК с инкорпорированными наночастицами золота с размером 15 нм (Рис. 15, кривая 2).



**Рис. 15.** МУРР от образца ХЖКД ДНК с наночастицами золота с размером 15 нм и восстановление формы наночастиц золота. **а:** 1 - экспериментальная кривая; 2 - модельная кривая от формы наночастиц Au; 3 - кривая рассеяния, рассчитанная программой GNOM от парной функции. Вставка: парная функция  $p(r)$ . **б:** восстановленная *ab initio* форма наночастиц золота.

Структурные характеристики исходных ХЖКД ДНК ничем не отличались от измеренных нами ранее, в то время как для образца, содержащего наночастицы золота, упорядоченность была полностью нарушена и основной вклад в рассеяние давали металлические наночастицы - на экспериментальной кривой МУРР отчетливо видны максимумы от рассеяния формой наночастиц золота. По положению первого минимума на кривой рассеяния можно посчитать средний размер наночастиц. В предположении сферичности радиус аппроксимирующих сфер  $R=4.49/s_1$ , где  $s_1$  – положение первого минимума на кривой рассеяния. Размер наночастиц золота оказался равным  $R = 4.49/0.64 = 7$  нм, то есть 14 нм в диаметре, что в пределах ошибки измерения и некоторой полидисперсности образца хорошо совпадает с данными электронной микроскопии.

Определенная с помощью программы DAMMIN форма представлена на Рисунке 15 справа. Оказалось, что полученная форма имеет выраженные грани. В отличие от наночастиц золота с размером 2 нм, крупные наночастицы полностью разрушают квазинематическую упаковку ДНК. Кроме того, молекулы ДНК могут взаимодействовать с отрицательно заряженной поверхностью наночастиц металла, связываясь с ней и располагаясь в пространстве в соответствии с гранями этих частиц. Это объясняет резкое уменьшение амплитуды аномальной отрицательной полосы спектра КД для этого образца. Особо следует подчеркнуть здесь значение компьютерного моделирования пространственной структуры. В данном цикле работ такой подход был использован впервые для выяснения строения наноконструкций. Кроме того, с точки зрения разработки новых направлений структурной нанотехнологии была показана принципиальная возможность формирования наноконструкций ДНК с особыми свойствами, которые могут найти разнообразные применения в биологии и медицине.

В главе 6 также приведены результаты исследования структуры и комплексообразования матричного белка М1 вируса гриппа в растворе. Он был выделен из штамма вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (тип H1N1). Существует несколько различных штаммов этого очень популярного и опасного патогена, но, что очень важно, строение у всех штаммов примерно одинаковое. Мало того, такое же строение имеют и многие другие оболочечные вирусы. Это делает изучение гриппозного вириона и его составных частей чрезвычайно важным. Причина в том, что вирус гриппа сравнительно просто выделить в достаточных для исследования количествах, в отличие, например, от вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Поэтому гриппозный вирион часто служит полигоном для изучения свойств других чрезвычайно опасных патогенов.

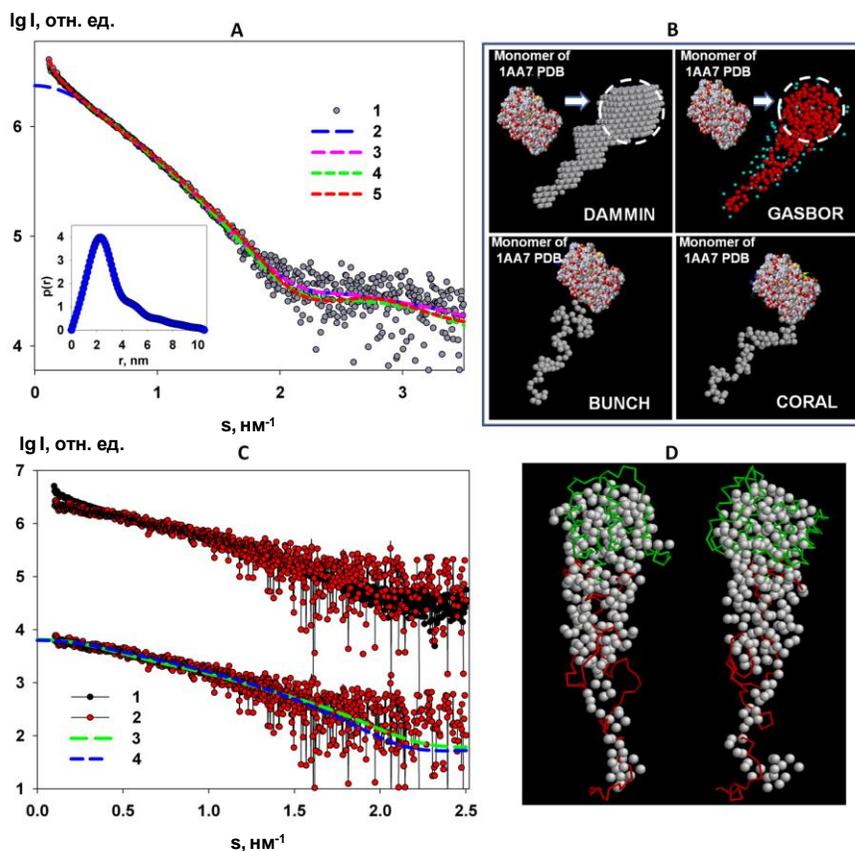
Внутренние компоненты вирусной частицы с липидной мембраной и поверхностными белками связывает белок М1, образующий под мембраной жесткий структурированный слой - матрикс. Этот матриксный белок - один из основных структурных компонентов вириона, который в процессе вирусной инфекции выполняет множество важных функций и осуществляет белково-белковые и белково-липидные взаимодействия.

Мультифункциональность М1 давно привлекает внимание ученых во всем мире.

Он относится к ключевым компонентам вируса гриппа, и поэтому его структуру пытаются исследовать самыми разными методами. Макромолекула М1 состоит из 252 аминокислот и трех доменов - N, М и С. Попытки кристаллизовать М1 предпринимались неоднократно, но в кристалле всегда оказывались только N- и М- домены (1-164 аминокислоты), а длинный С-концевой фрагмент (88 аминокислот - примерно треть макромолекулы) закристаллизовать не удалось.

Причиной малого количества работ и некоторой противоречивости их результатов при исследовании структуры М1 в растворе являются свойства этого белка. В вирионе он существует в виде структурированного слоя, и единственный момент в жизненном цикле вируса гриппа, когда М1 может находиться в виде отдельных макромолекул - это самое начало инфекции. В этот момент внутреннее пространство вириона внезапно закисляется до рН 4, матриксный слой взрывообразно разрушается и освобожденные рибонуклеопротеины проникают в заражаемую клетку. На этом основан и метод получения М1 в растворе - в кислой среде при рН < 5 белок существует в основном в виде индивидуальных макромолекул. Но даже при этих условиях всегда образуется некоторое количество агрегатов, осложняя или делая недоступными детальные структурные исследования.

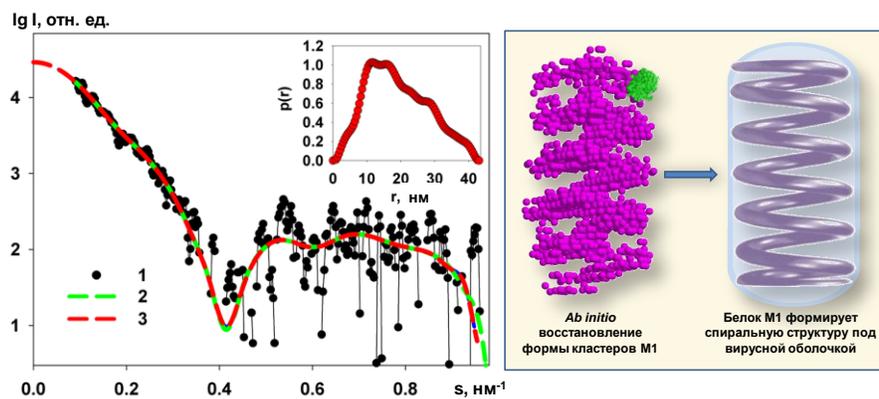
Основные результаты структурного анализа М1 белка, проведенного нами с применением практически всего арсенала современных методов интерпретации данных МУРР, представлены на обобщенном Рисунке 16.



**Рис. 16.** Восстановление структуры белка М1. А: экспериментальные данные МУРР (1), рассчитанная из функции  $p(r)$  и экстраполированная к нулевому углу интенсивность рассеяния (2), рассеяние, рассчитанное от *ab initio* моделей (DAMMIN & GASBOR), показанные на правой панели В, верхний ряд (3), кривые рассеяния, рассчитанные от гибридных моделей (BUNCH & CORAL), показанные на правой панели В, нижний ряд (4) и кривая рассеяния, посчитанная программой OLIGOMER (5). Вставка: функция распределения по расстояниям  $p(r)$ , рассчитанная программой GNOM. В: структурные модели, полученные *ab initio* и с

помощью гибридных методов. С: сравнение экспериментальной кривой МУРР от М1 белка (1) с профилем рассеяния белка, прошедшего on-line хроматографическую колонку (2), кривые рассеяния, рассчитанные от гибридных моделей, показанных на панели В: CORAL (3) и BUNCH (4). (D) Наложение *ab initio* модели, рассчитанной программой GASBOR от данных МУРР после хроматографической колонки (шарики) с BUNCH моделью, реконструированной по укороченным исходным данным МУРР от белка М1 (С<sub>α</sub> цепи: NM-домен - зеленый цвет; С-концевой домен - красный цвет). Модели показаны в двух ориентациях, развернутых на 90° относительно друг друга.

Нами также было проведено определение формы ассоциатов белка М1. Для их анализа из экспериментальной кривой рассеяния целого белка М1 было вычтено рассеяние индивидуальными макромолекулами М1, рассчитанное программой CRY SOL по восстановленным программами BUNCH и CORAL структурам белка. Полученная разностная кривая (Рис. 17, левая панель, кривая 1) была использована для *ab initio* восстановления структуры кластеров белка М1.



**Рис. 17.** Восстановление формы кластеров белка М1. Левая панель: разностная кривая, соответствующая рассеянию от кластеров (1), обратное преобразование функции  $p(r)$  и ее экстраполяция к интенсивности в нулевом угле (2), рассеяние от *ab initio* модели, полученной программой DAMMIN (3)

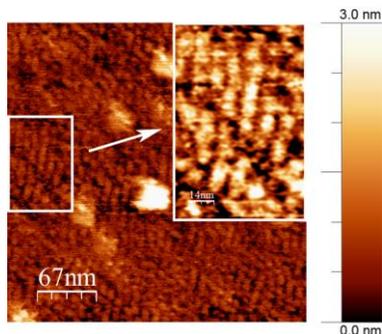
Вставка: функция распределения по расстояниям для кластеров. Правая панель: типичная модель восстановленной структуры кластера, полученная программой DAMMIN и гипотетическая модель самосборки белка М1 в качестве спиральной структуры (пружины), поддерживающей форму вириона. Кристаллографическая модель NM-домена показана зеленым для сравнения размеров.

Форма, восстановленная *ab initio* для кластеров с использованием программы DAMMIN (Рис. 17, правая панель) демонстрирует спиралеобразную структуру, аналогичную той, что была предсказана в работе Harris *et al* и наблюдалась Calder *et al* с помощью электронной криотомографии в аутентичном вирусе гриппа. Таким образом, следует сделать заключение, что самосборка белка М1 в растворе является его неотъемлемым биологически детерминированным свойством, то есть свойством образовывать матрикс, которое проявляется даже в кислых растворах. Мы уверены, что полученная нами спиральная структура может быть прототипом нативного матрикса, формируемого белком М1 под оболочкой вируса. Его гибкость, как и гибкость любой спирали (пружины), позволяет не только поддерживать форму вириона, но и при необходимости изменять ее, то есть менять геометрические параметры вируса в целом в процессе жизненного цикла и в процессе инфицирования.

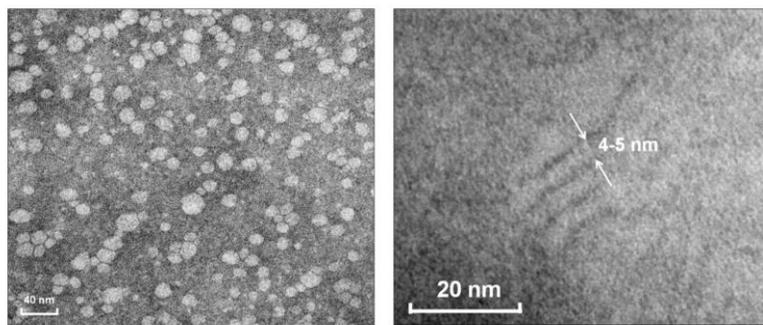
Имея две *ab initio* модели: индивидуального мономера М1 и его кластера, были рассчитаны объемные доли каждого из компонентов смеси с использованием программы

OLIGOMER. Оказалось, что объемная фракция кластеров в растворе белка M1 составляет  $0.03 \pm 0.01$ , что хорошо совпадает с данными УЦФ. Модельная кривая OLIGOMER дала хорошее соответствие с экспериментальными данными МУРР с  $\chi = 1.04$  (Рис. 16, кривая 5).

Атомно-силовая (Рис. 18) и просвечивающая микроскопия (Рис. 19) подтвердили данные малоуглового анализа.



**Рис. 18.** Атомно-силовая микроскопия структур, образованных белком M1 на отрицательно заряженной подложке. На вставке показано увеличенное изображение участка, обведенного белыми линиями.



**Рис. 19.** Типичное изображение кластеров M1 с помощью ПЭМ. Белок M1 формирует на поверхности сетки агрегаты вирусо-подобных частиц с размерами порядка 20 - 40 нм (левая панель). Увеличенное изображение одной из таких вирусо-подобных частиц показано на правой панели.

В данном исследовании МУРР, УЦФ и АСМ были использованы, чтобы определить структуру полного белка M1 и его самосборку в кислых растворах. Подобные исследования проводились во всем мире в течении многих лет, но нами были впервые получены результаты, детально показывающие структуру белка M1 в кислом растворе, и на основании которых был сделан вывод, что именно ярко выраженная структурная анизометрия белка в целом (Рис. 16), гибкость и частичная разупорядоченность С-домена обеспечивает мультифункциональность белка и отвечает за способность M1 быть посредником в многоступенчатом процессе клеточной инфекции.

Следует особо отметить, что в большинстве случаев присутствие агрегатов в растворе белка налагает запрет на восстановление его формы по данным малоуглового рассеяния. Однако, для M1 и многих других биологических объектов наличие агрегатов или кластеров является тем свойством, которое определяет их функциональность, и поэтому, не разрушив их функциональные свойства, практически нельзя избавиться от всегда сопутствующей им ассоциации и кластеризации. Нами эта задача для белков впервые была решена двумя способами. Во-первых, был проведено компьютерное моделирование и показаны подходы для решения этой проблемы: использование

усеченной кривой, где влиянием рассеяния от крупных объектов можно пренебречь, и предложены простые способы определения необходимого углового интервала. Во-вторых, был использован on-line метод очистки белка от ассоциатов с помощью хроматографии. За очень короткий период (доли секунды) измерений на синхротроне образование ассоциатов в той части раствора, которая была освобождена от крупных частиц, не успевает произойти. Поэтому впервые удалось зафиксировать малоугловое рассеяние только от индивидуальных молекул М1. Оба подхода дали абсолютно совпадающие результаты, что очень важно в дальнейшем с методологической точки зрения. Наблюдаемая гибкость С-концевого домена М1 помимо объяснения невозможности кристаллизации полного белка, является той важной его особенностью, которая обеспечивает мультифункциональность М1 и его способность быть посредником в многоступенчатом процессе инфицирования. Нами также впервые было показано, что М1 сам, без участия белков-партнеров может образовывать вирусоподобные частицы в растворе или на липидном бислое. Частичная разупорядоченность и гибкость С-концевого домена с множеством доступных для контактов регионов делает целую молекулу М1 политопическим белком, имеющим сродство и к гидрофильным и гидрофобным средам, обеспечивая белково-липидные и белково-белковые взаимодействия. Именно поэтому следует рассматривать белок М1 как ключевую молекулу-адаптер вируса гриппа.

Наше исследование является базисом для дальнейшего анализа иерархии взаимодействий матричного белка М1 и, соответственно, движения в сторону поиска новых путей дезактивации этого и других опасных патогенов.

В главе 6 также рассмотрены результаты изучения структурной организации и функций различных биологических комплексов. В настоящее время основным направлением структурных исследований в биологии является переход от частного и единичного к целому, и все больше внимания уделяется исследованию процессов взаимодействия и изучению многокомпонентных систем. Это происходит потому, что именно во взаимодействии проявляется функциональность биологических молекул, а изучение структуры отдельных, индивидуальных белков, ферментов, нуклеотидов и других биологических объектов является в этом процессе начальным шагом понимания интерактома в целом.

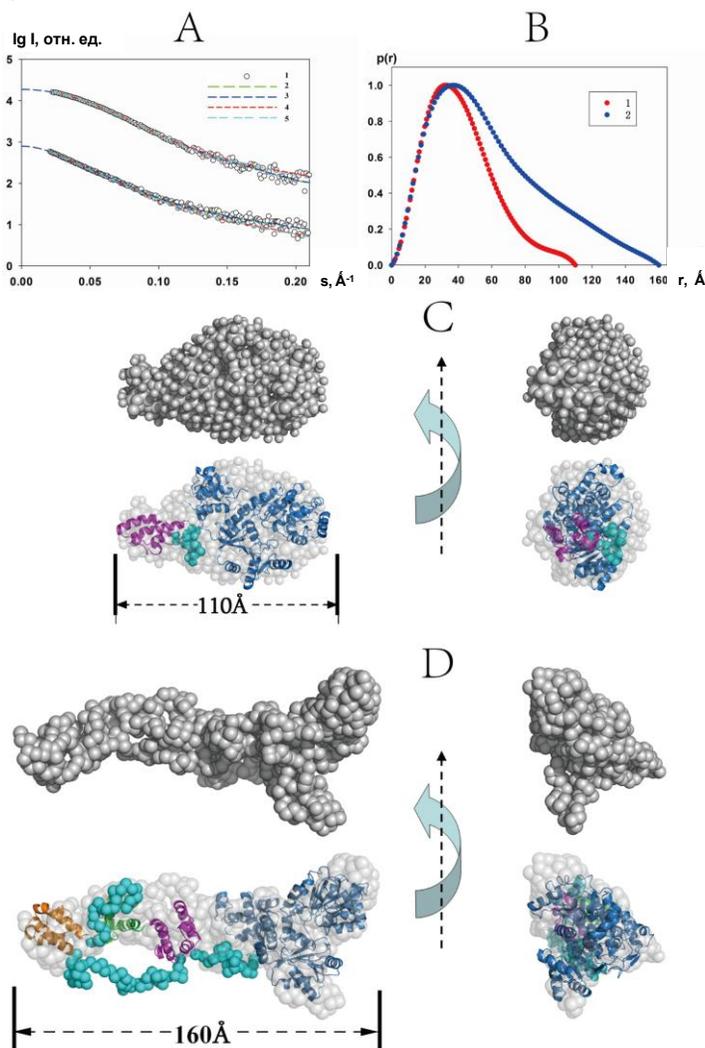
Нами был проведен структурный анализ хеликазы RecQ из бактерии *Deinococcus Radiodurans* и ее комплексов с ДНК-субстратами. *Deinococcus radiodurans* представляет собой радиорезистентные организмы, которые могут выдержать уровень радиации в 7000 раз более высокий, чем тот, что способен убить человека. Они характеризуются необычной устойчивостью к интенсивным повреждениям ДНК, вызванными гамма-излучением, ультрафиолетом, высушиванием и другими сильными воздействиями. Чтобы понять причину такой феноменальной выносливости и способности к самовосстановлению в настоящее время уделяется огромное внимание исследованию

структуры и функции различных составляющих (белков, ферментов, ДНК) этого микроорганизма и особенно репарации и репликации его ДНК.

В отличие от большинства хеликаз, полученных из различных источников (например из *E. coli*), RecQ, экспрессированная из *Deinococcus radiodurans* (DrRecQ хеликаза), содержит не один, а 3 последовательных HRDC домена. «Избыточное» присутствие HRDC доменов в бактерии *Deinococcus radiodurans*, необычайно устойчивой к радиации и другим мощным воздействиям, привлекает особое внимание. В нашей работе малоугловое рентгеновское рассеяние использовалось для выявления молекулярной архитектуры DrRecQ и ее комплексов с ДНК-субстратами (fork junction и Holliday junction формы ДНК: Y-ДНК и HJ-ДНК, соответственно) и для того, чтобы прояснить общие механизмы работы этого уникального фермента.

Отдельные фрагменты RecQ были закристаллизованы и в нашем распоряжении оказались структуры атомного разрешения всех трех HRDC доменов DrRecQ и гомолога каталитического ядра хеликазы из *E. coli*.

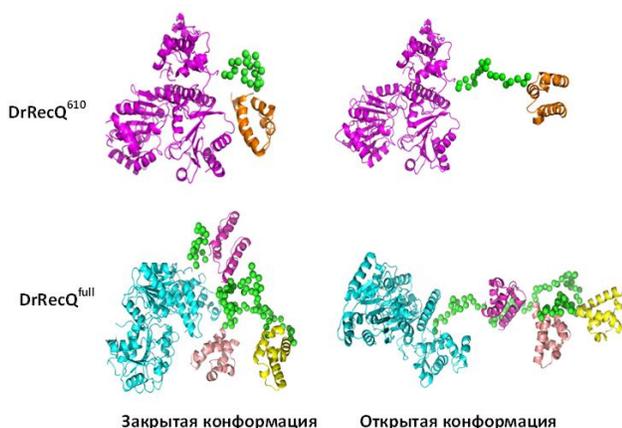
Были измерены синхротронные кривые малоуглового рассеяния в растворе полной хеликазы - DrRecQ<sup>full</sup>, и конструкции без HRDC2 и HRDC3 доменов - DrRecQ<sup>610</sup> (Рис. 20).



**Рис. 20.** Анализ данных МУРР для DrRecQ<sup>610</sup> и DrRecQ<sup>full</sup>. (А) кривые малоуглового рассеяния в растворе от DrRecQ<sup>610</sup> (верхняя кривая) и DrRecQ<sup>full</sup> (нижняя кривая): 1 - экспериментальные данные; 2 - рассеяние, рассчитанное от *ab initio* моделей (программой DAMMIN и GASBOR); 3 - рассчитанные из функции  $p(r)$  и экстраполированные к нулевому углу интенсивности рассеяния; 4 - рассеяние, рассчитанное от моделей CORAL; 5 - усредненные кривые рассеяния, рассчитанные от оптимизированных моделей, найденных программой EOM. (В) Функции распределения по расстояниям для DrRecQ<sup>610</sup> (кривая 1) и DrRecQ<sup>full</sup> (кривая 2). (С, D) *Ab initio* формы и формы восстановленные с помощью метода молекулярной тектоники для DrRecQ<sup>610</sup> (С) и для DrRecQ<sup>full</sup> (D). Типичные формы низкого разрешения, полученные программами DAMMIN и GASBOR показаны отдельно (верхние формы) и с наложением на них атомных моделей, реконструированных программой CORAL (нижние формы). Модели развернуты на 90 градусов вдоль вертикальной оси для лучшей визуализации.

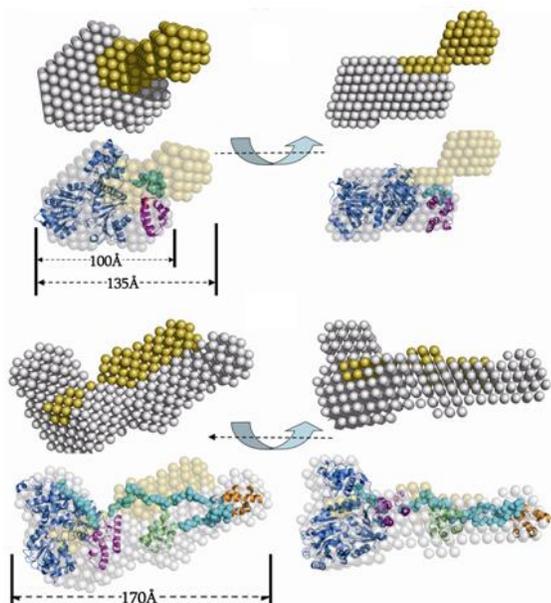
Шариками бирюзового цвета обозначены восстановленные программой CORAL соединительные аминокислотные цепочки между отдельными частями ферментов.

По данным малоуглового рассеяния впервые несколькими независимыми способами были восстановлены структуры этих соединений. При восстановлении формы DrRecQ гибридным методом использовались структуры атомного разрешения. Анализ гибкости DrRecQ<sup>full</sup> и DrRecQ<sup>610</sup> показал, что обе макромолекулы могут существовать в растворе в двух конформациях - закрытой и открытой. Из Рисунка 21 видно, что HRDC домены находятся на некотором расстоянии от каталитического ядра даже в закрытой конформации и далеко простираются в раствор в открытой форме, предположительно осуществляя взаимодействие с различными молекулами-целями в биохимических реакциях.

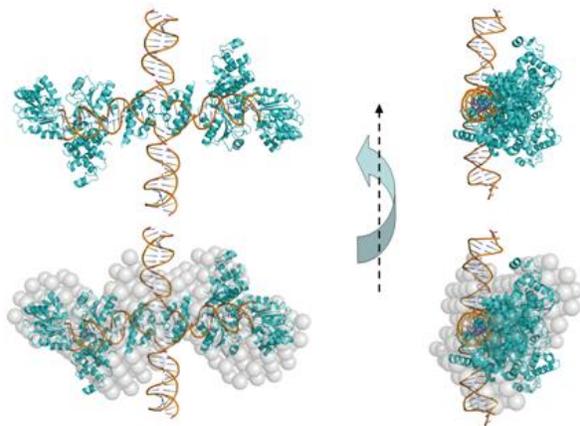


**Рис. 21.** Структура DrRecQ<sup>610</sup> и DrRecQ<sup>full</sup> в растворе по данным МУПП. Каталитическое ядро DrRecQ<sup>610</sup> обозначено пурпурным цветом, а для DrRecQ<sup>full</sup> - бирюзовым. Зелеными шариками обозначены восстановленные программой CORAL соединительные аминокислотные цепочки между отдельными частями ферментов.

Дальнейший структурный анализ комплексов DrRecQ с различными формами ДНК показал, что фермент образует стабильные ассоциаты с Y-ДНК и HJ-ДНК именно благодаря HRDC доменам. При этом впервые с помощью программ MONSA и SASREF удалось определить локализацию ДНК в комплексе, определяя тем самым роль HRDC доменов при взаимодействии с ней (Рис. 22 и 23).



**Рис. 22.** Восстановление структуры комплекса DrRecQ с Y-DNA. Верхние два ряда (блок 1): мультифазное восстановление структуры комплекса DrRecQ<sup>610</sup>-Y<sub>18-12</sub>. Нижние два ряда (блок 2): мультифазное восстановление структуры комплекса DrRecQ<sup>full</sup>-Y<sub>18-12</sub>. Структурные модели, полученные с помощью программы MONSA демонстрируют белковую фазу серыми виртуальными атомами, а фазу ДНК - желтыми. Атомные модели наложены на соответствующие модели и показаны в нижних рядах каждого блока. Для лучшей визуализации модели повернуты на 90 градусов вокруг горизонтальной оси.



**Рис. 23.** Восстановление структуры комплекса DrRecQ<sup>610</sup>-HJ методом молекулярной тектоники (верхний ряд). Наложение структурной модели DrRecQ<sup>610</sup>-HJ и *ab initio* модели (нижний ряд). Модели повернуты на 90 градусов вокруг вертикальной оси.

Нами было показано, что (1) при взаимодействии с DrRecQ<sup>610</sup> с HJ ДНК фермент димеризуется и (2) при этом он преимущественно находится в закрытом состоянии. Однако, DrRecQ активирует открытую конформацию для поиска поврежденного участка ДНК и только связываясь с ним образует компактную конформацию. Процесс раскручивания двухспиральной ДНК продолжается в закрытом состоянии фермента до тех пор, пока происходит репарация ДНК. После этого он трансформируется обратно в открытую конформацию и такой фермент снова активен для поиска поврежденных участков ДНК. Моделирование комплекса DrRecQ<sup>full</sup>-HJ дало аналогичные результаты. Таким образом, наша работа стала новым этапом в понимании процессов активации и взаимодействия семейства RecQ в целом и DrRecQ в частности с молекулами ДНК при ее восстановлении.

В главе 6 представлены и другие исследования, связанные со структурной нанодиагностикой биологических макромолекул и их комплексов. В том числе нами был проведен цикл работ по структурным исследованиям бактериальной целлюлозы *Acetobacter Xylinum* и ее модификаций, что вызвано возможностью использования ее композитов в медицинской практике в качестве раневого покрытия, несущего разнообразные лекарственные препараты, например, кластеры ионов серебра и селена, стабилизированные поливинилпирролидоном (ПВП). Нами были также изучены структурные характеристики и поведение в растворе таких биологических объектов как:

- (MHF1-MHF2)<sub>4</sub> октамер, обеспечивающий образование комплекса MHF-FANCM с хроматином при анемии Фанкони;
- DrRRA (фермент, участвующий в ответе клетки на внешние воздействия (Response Regulator) из *Deinococcus Radiodurans*;
- MPN домен CSN6 из *D. melanogaster* - одной из субъединиц COP9 сигнасомы, участвующей во множестве физиологических процессов, включая деградацию белков, ответ на повреждение ДНК и передачу сигналов в клетках;
- метилтрансфераза RsmH, ответственная за метилирование C1402 в 16S rRNA;
- метилтрансфераза RsmE (m<sup>3</sup>U1498), метилирующая U1498 в 16S рРНК;
- метилтрансфераза RlmG (m<sup>2</sup>G1835), выполняющей метилирование в 23S рРНК;

- суб-комплекс Psy3–Csm2 из комплекса белков SHU, поддерживающих геномную стабильность с помощью сочетания пост-репликативной репарации с гомологичной рекомбинацией при межцепочечных сшивках молекул ДНК;
- фермент Uch37, который активируется субъединицей Rpn13 19S регуляторной частицы протеасомы и участвует в протеосомной деградации белков;
- макро-иммуноглобулин (IgM) и ревматоидный иммуноглобулин М (IgM-RF), последний из которых относится к группе ревматоидных факторов, играющих важную роль в патогенезе ревматоидных артритов.

В настоящее время детальное исследование структуры сложных биологических комплексов и их отдельных компонентов невозможно представить без малоуглового рентгеновского рассеяния. Несмотря на то, что МУРР представляет собой метод низкого разрешения и размеры, которые можно изучать с его помощью, находятся в довольно узком интервале в среднем от 1 до  $10^3$  нм, его роль сейчас только возрастает. Это объясняется, во-первых, тем, что не все биологические макромолекулы и тем более их комплексы можно кристаллизовать для получения структур атомного разрешения. Во-вторых, даже в уже полученных и расшифрованных кристаллических структурах часто кристаллизуется только часть исследуемого объекта. Следует также отметить, что даже при наличии кристалла белковой молекулы расшифровка его структуры на атомной уровне сама по себе представляет сложную и не всегда разрешимую задачу. В третьих, структура в кристаллах нередко отличается от структуры в растворе из-за специфичности условий кристаллизации. Можно также добавить, что решение задач рентгеновской дифракции не всегда бывает корректным и в ряде случаев задачу приходится решать заново. Именно поэтому МУРР приобретает все большую значимость для решения структурных задач в биологии. Особенно важно сочетание кристаллографии и МУРР. Примеры наших исследований, представленных выше, подчеркивают это. С помощью малоуглового рассеяния были определены пространственные структуры единичных белков и биологических комплексов, которые было бы невозможно построить, опираясь только на кристаллографические данные. Кроме того, исследования МУРР проводились в растворе, то есть условиях, близких к условиям в живой материи. И, наконец, на основании анализа совокупности всех данных были предложены структурные модели, отражающие функциональные свойства белков и биологических комплексов, образованных при взаимодействии белков с полинуклеотидами.

Работы, представленные выше, иллюстрируют современный уровень малоуглового рассеяния и его возможности, особенно в сочетании с комплементарными методами. Сведения, полученные нами при проведении этих исследований, являются важными и необходимыми, так как вносят определенный вклад в понимание фундаментальных процессов, происходящих в живой материи.

### 3. Основные результаты и выводы

Главной целью диссертационной работы являлось развитие метода малоуглового рассеяния и систематический анализ возможности его применения в структурных исследованиях полидисперсных, полиморфных и полностью или частично разупорядоченных соединений для решения современных научных и нанотехнологических задач. Этим объясняется широкий спектр структурных исследований, как компьютерных, так и экспериментальных, которые были выполнены в цикле работ, представленных в диссертации. В качестве практического и научного вклада, было проведено последовательное и систематическое исследование методом малоуглового рентгеновского рассеяния надатомной структуры различных дисперсных систем, начиная с самоорганизующихся полимерных матриц, мицеллярных систем, пористых материалов, новых классов дендримеров и заканчивая сложными современными нанокompозитами, белками и биологическими комплексами. Развитые подходы и методики были использованы для построения моделей, отражающих взаимосвязь структуры и функциональных особенностей разнообразных супрамолекулярных синтетических и биологических ансамблей и нанокompозитов.

В целом, решение обратных структурных задач, поставленных в данной работе, имеет определенное научное значение и важно для ответа на фундаментальные вопросы строения вещества на надатомном уровне, в том числе для живой материи (белков, нуклеиновых кислот, биологических комплексов).

**Основные выводы проведенных исследований можно суммировать следующим образом:**

1. Определены условия и ограничения построения трехмерных моделей для полиморфных и полидисперсных образцов и для систем взаимодействующих частиц по данным малоуглового рентгеновского рассеяния.

С помощью компьютерного моделирования нами было впервые показано, что для таких объектов возможно надежное восстановление трехмерных структур низкого разрешения как по полным кривым МУРР в случае умеренной степени полидисперсности или полиморфности, не превышающей разрешение метода, так и по укороченным кривым рассеяния, где область влияния примесей исключена. В последнем случае адекватное восстановление формы рассеивающего тела возможно даже в присутствии 10% добавок (агрегатов, полидисперсности, полиморфности) без потери структурной информации.

Предложены простые методики по определению участка кривой МУРР, по которому надежно восстанавливается форма исследуемого объекта.

Найденные условия и ограничения были использованы в структурных исследованиях, выполненных в диссертации.

2. Впервые с разрешением 1 нм определены структурные характеристики различных многокомпонентных полимерных нанокомпозитов (гидрогель/ПАВ комплексов, мультислойных и гибридных квазикристаллических полимерных матриц, мицеллярных систем, твердотельных полимерных матриц).

3. Исследованы процессы формирования и стабилизации наночастиц различных металлов (серебра, золота, платины) в структурно организованных надмолекулярных комплексах и показано, что рост металлических частиц в них определяется условиями восстановления ионов металла, контролируется структурой полимерной матрицы и ограничен размерами ее внутренних ячеек. Обнаруженные закономерности позволяют создавать новые металлизированные наноматериалы с заданными характеристиками.

4. Впервые были выявлены особенности формирования в среде сверхкритического  $\text{CO}_2$  наночастиц серебра, платины и палладия в пленках поливинилпирролидона, хитозана и полиарилата. Был определен характер внутреннего строения заполненных металлом пор полимерных матриц, определены формы индивидуальных наночастиц металла в них и распределение по размерам в изученных полимерных системах.

5. Структурные исследования монодисперсных нанокомпозитов на основе ферромагнитных наночастиц, стабилизированных биodeградируемыми полимерами, позволили определить условия их стабилизации в водных растворах в зависимости от состава, толщины и плотности полимерной оболочки. Проведенные исследования необходимы для создания лекарственных форм при лечении онкологических заболеваний методом интерстициальной гипертермии.

6. Были исследованы процессы образования и стабилизации квантовых точек CdS в присутствии полипиридилфениленовых дендримеров третьей генерации (PPPD) в зависимости от условий синтеза и архитектуры PPPD. С помощью *ab initio* моделирования и молекулярной тектоники впервые была визуализирована трехмерная морфология нанокомпозитов CdS/PPPD по данным МУРР. Было показано, что сильное взаимодействие между молекулами дендримера и растущими квантовыми точками приводит к образованию несферических, эллипсоидальных наночастиц CdS. По данным МУРР впервые было выяснено количество молекул дендримеров, необходимых для стабилизации одной квантовой точки. Проведенное исследование необходимо для разработки дендримерных носителей для диагностики и лечения широко распространенных социально значимых нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера, прионовые болезни и др.)

7. С применением МУРР, метода кругового дихроизма и компьютерного моделирования был проведен взаимодополняющий структурный анализ холестерических жидко-кристаллических дисперсий, сформированных из двухцепочечных макромолекул ДНК в комплексе с солью гадолиния и при инкорпорации наночастиц золота. В результате полученных в серии работ результатов были предложены модели строения нанокомпозитов на основе жидкокристаллических дисперсий двухцепочечных ДНК и было показано, что происходит формирование

нанобиоматериала с новыми физико-химическими свойствами, которые могут найти разнообразные применения в биологии и медицине, в том числе для лечения раковых заболеваний.

8. В процессе комплексного исследования структуры матричного белка М1 вируса гриппа впервые получены результаты, детально показывающие структуру этого белка в растворе, на основании которых был сделан вывод, что гибкость и частичная разупорядоченность С-домена М1 обеспечивает мультифункциональность белка и отвечает за способность М1 быть посредником в многоступенчатом процессе клеточной инфекции. Полученная нами спиральная структура ассоциатов белка М1 является прототипом нативного матрикса, формируемого им под оболочкой вируса. Нами впервые было показано, что белок М1 может образовывать вирусо-подобные частицы в растворе или на липидном бислое без участия белков-партнеров. Полученные данные необходимы для создания средств дезактивации гриппозного вириона и других опасных патогенов.

9. Была выполнена структурная нанодиагностика биологических макромолекул и их комплексов: хеликазы RecQ из бактерии *Deinococcus Radiodurans* (DrRecQ); клеточных ферментов по репликации ДНК при анемии Фанкони; фермента DrRRA из *Deinococcus Radiodurans*, участвующего в ответе клетки на внешние воздействия; MPN домена CSN6 из *D. melanogaster* - одной из субъединиц COP9 сигнасомы; метилтрансфераз RsmH, RsmE и RlmG и некоторых других. В результате были получены новые знания о строении и функциональных особенностях исследованных биологических объектов и их связи с жизненно важными процессами в живой материи.

10. Развитые в диссертации подходы и методики были использованы для построения моделей, отражающих взаимосвязь структуры и функциональных особенностей разнообразных супрамолекулярных синтетических и биологических ансамблей и нанокомпозитов. Это необходимо как для разработки новых композиционных материалов, так и для ответа на фундаментальные вопросы строения вещества на надатомном уровне, в том числе для живой материи.

### Публикации по теме диссертации

1. D.I.Svergun, E.V.Shtykova, A.T.Dembo, L.M.Bronstein, O.A.Platonova, A.N.Yakunin, P.M.Valetsy, A.R.Khokhlov. Size distributions of metal nanoparticles in polyelectrolyte gels. // J. Chem. Phys., 1998, 109 (24), 11109 - 11116.
2. E.Shtykova, A.Dembo, E.Makhaeva, A.Khokhlov, G.Evmenenko, H.Reynaers. SAXS study of i-carragenan - surfactant complexes. // Langmuir, 2000, 16(12), 5284-5288.
3. D.I.Svergun, E.V.Shtykova, M.B.Kozin, V.V.Volkov, A.T.Dembo, E.V.Shtykova-Jr., L.M.Bronstein, O.A.Platonova, A.N.Yakunin, P.M.Valetsy, A.R.Khokhlov. Small-angle X-ray scattering study of platinum-containing hydrogel/surfactant complexes. // J.Phys.Chem. B, 2000, 104, (22), 5242-5250.
4. D.I.Svergun, M.B.Kozin, P.V.Konarev, E.V.Shtykova, V.V.Volkov, D.M.Chernyshov, P.M.Valetsy, L.M.Bronstein. Formation of metal nanoparticles in multilayered poly (octadecylsiloxane) as revealed by anomalous small-angle X-ray scattering. // Chemistry of Materials, (2000), v.12, N 12, pp 3552-3560.
5. V.G.Babak, E.A.Merkovich, L.S.Galbraikh, E.V.Shtykova, M.Rinaudo. Kinetics of diffusionally induced gelation and ordered nanostructure formation in surfactant-polyelectrolyte complexes formed at water/water type interfaces. // Mendeleev Communications, 2000, 3, 94-95.
6. Д.И.Свергун, Э.В.Штыкова, М.Б.Козин, В.В.Волков, П.В.Конарев, А.Т.Дембо, Е.В.Штыкова, Л.М.Бронштейн, Д.М.Чернышов, О.А.Платонова, А.Н.Якунин, П.М.Валецкий, А.Р.Хохлов. Малоугловые исследования структуры самоорганизующихся полимерных матриц и процессов формирования в них металлических наночастиц. // Кристаллография, 2001, 46, (4), 651-660.
7. А.В.Сидорович, Ю.Г.Баклагина, А.К.Хрипунов, А.Э.Бурсиан, В.М.Денисов, В.К.Лаврентьев, О.Е.Праслова, Ю.П.Кузнецов, Е.В.Кручинина, Э.В.Штыкова, Т.Е.Суханова. Исследование структуры и массообменных характеристик пленок из сложных смешанных эфиров целлюлозы. // Журнал прикладной химии, 2002, 75, (10), 1700-1704(5).
8. A.T. Dembo, K.A. Dembo, V.V. Volkov, A.I. Kokorin, A.A. Lyubimov, E.V. Shtykova, S.G. Starodoubtsev, and A.R. Khokhlov. Structure of binary and ternary complexes formed by sodium poly (2-acrylamide-2-methyl-1-propanesulfonate) gel in the presence of copper (II) nitrate and cetylpyridinium chloride. // Langmuir, 2003, 19, 7845
9. S. G.Starodoubtsev, E.V.Saenko, A.R.Khokhlov, V.V.Volkov, K.A.Dembo, V.V.Klechkovskaya, E.V.Shtykova, I. S. Zanaveskina. Poly (acrylamide) gels with embedded magnetic nanoparticles. // Microelectronic Engineering, 2003, 69(2-4), 324-329.
10. В.В.Волков, Р.Л.Каюшина, В.А.Лапук, Э.В.Штыкова, Е.Ю.Варламова, М.Мальфуа, Д.И.Свергун. Определение строения иммуноглобулинов человека IgG, IgM и ревматоидного фактора IgM-Rf в растворе. // Кристаллография, 2003, 48, (1), 103-110.

11. V.V.Volkov, R.L.Kajushina, V.A.Lapuk, E.V.Shtykova, E.Yu.Varlamova, M.Malfois, D.I.Svergun. Low resolution structure of immunoglobulins IgG1, IgM and rheumatoid factor IgM-RF from solution X-ray scattering data. // *J. Appl. Crystallography*, 2003, 36, 503-508.
12. E.V. Shtykova, E.V. Shtykova, Jr., V.V. Volkov, P.V. Konarev, A.T. Dembo, E.E. Makhaeva, A.R. Khokhlov, I.A. Ronova, H.Reynaers, D.I. Svergun. Small-angle X-ray scattering reveals superhelical nanostructures in  $\iota$ - and  $\kappa$ -carrageenan/surfactant complexes. // *J. Appl. Crystallography*, 2003, 36, 669-673.
13. E.V.Shtykova, D.I.Svergun, D.M.Chernyshov, I.A.Khotina, P.M.Valetsy, R.J.Spontak, L.M.Bronstein. Platinum nanoparticles generated in functionality-enhanced reaction media based on polyoctadecylsiloxane with long-chain functional modifiers. // *J. Phys. Chem. B*, 2004, 108, 6175-6185.
14. L.M.Bronstein, S.N.Sidorov, V.Zhirov, D.Zhirov, Y.A.Kabachii, S.Y.Kochev, P.M.Valetsy, B.Stein, O.I.Kiseleva, S.N.Polyakov, E.V.Shtykova, E.V.Nikulina, D.I.Svergun, A.R.Khokhlov. Structure of metallated diblock and triblock poly(ethylene oxide)-block-poly (4-vinylpyridine) copolymers. // *J. Phys. Chem. B.*, 2005, 109, 18786-18798.
15. E.V.Shtykova, V.V.Volkov, H.Wang, T.Fujisawa, J.-Y.Wang. Autoxidized phospholipids in hexane: new types of nanoparticles studied by synchrotron small-angle X-ray scattering. // *Langmuir*, 2006, 22 (19), 7994 -8000.
16. L.M. Bronstein, S.Dixit, J.Tomaszewski, B.Stein, D.I. Svergun, P.V. Konarev, E.Shtykova, U.Werner-Zwanziger, B.Dragnea. Hybrid polymer particles with a protective shell: synthesis, structure, and templating. // *Chem. Mater.*, 2006, 18(9), 2418-2430.
17. Л.Н. Никитин, М.О. Галлямов, А.Ю. Николаев, Э.Е. Саид-Галиев, А.Р. Хохлов, С.С.Букалов, Г.И.Магдануров, В.В.Волков, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, Г.К.Ельяшевич, Структура композитов, полученных формированием полипиррола в сверхкритическом  $\text{CO}_2$  на микропористом полиэтилене. // *Высокомолекулярные соединения, Серия А*, 2006, 48, (8), 1431–1447.
18. Г.Ю.Юрков, Д.А.Астафьев, Л.Н.Никитин, Ю.А.Кокшаров, Н.А.Катаева, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, В.В.Волков, А.Р.Хохлов, С.П.Губин. Железосодержащие наночастицы в матрице силиконовых каучуков. // *Неорганические материалы*, 2006. 42, (5), 556–562.
19. В.И. Саянов, А.И.Евсеев, В.И.Попенко, А.А.Гасанов, К.А.Дембо, О.В.Кондрашина, Э.В.Штыкова, Ю.М. Евдокимов, Некоторые характеристики комплексов гадолиния с линейной и жидкокристаллическими формами ДНК. // *Биофизика*, 2007, 52, (3), 452-459.
20. Ю.М.Евдокимов, В.И.Саянов, О.В.Кондрашина, А.А.Гасанов, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, Изменение холестерической закрутки соседних молекул нуклеиновых кислот, индуцированное катионами редкоземельных элементов. // *Журнал теоретической и экспериментальной физики (ЖТЭФ)*, 2007, 131, (3), 556-566.

21. E.V.Shtykova, X.Huang, N.Remmes, D.Baxter, B.Stein, B.Dragnea, D.I.Svergun, L.M.Bronstein, Structure and properties of iron oxide nanoparticles encapsulated by phospholipids with poly(ethylene glycol) tails. // *J. Phys. Chem.*, 2007, 111, (49), 18078-18086.
22. V.V.Klechkovskaya, V.V.Volkov, E.V.Shtykova, N.A.Arkharova, Yu.G.Baklagina, A.K.Khripunov, R.Yu.Smyslov, L.N.Borovikova, A.A.Tkachenko. Network model of acetobacter xylinum cellulose intercalated by drug nanoparticles. // In: *Nanomaterials for application in medicine and biology*. Eds. By M.Giersig and G.B.Khomutov. (NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics) Springer Netherlands. 2008, 165-177.
23. E.V.Shtykova, X.Gao, X.Huang, J.C.Dyke, A.L.Schmucker, N.Remmes, D.V.Baxter, B.Stein, B.Dragnea, P.V.Konarev, D.I.Svergun, L.M.Bronstein. Hydrophilic Monodisperse magnetic nanoparticles protected by an amphiphilic alternating copolymer. // *J.Phys. Chem.*, 2008, 112(43), 16809-16817.
24. Yu.M.Yevdokimov, V.I.Salyanov, E.V.Shtykova, K.A.Dembo, V.V.Volkov, P.V.Spirin, A.S.Slusheva, V.S.Prassolov. Transition in DNA molecule's spatial ordering due to nano-scale structural changes. // *The Open Nanoscience Journal*, 2008, 2, 17-28.
25. L.M.Bronstein, M.Kostylev, E.V. Shtykova, T.Vlahu, X.Huang, B.D.Stein, A.Bykov, N.B.Remmes, D.V.Baxter, D.I.Svergun. Mixed Co/Fe oxide nanoparticles in block copolymer micelles. // *Langmuir*, 2008, 24(21), 12618-12626.
26. В.В.Волков, В.А.Лапук, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, А.В.Соколова, С.В.Амарантов, В.Р.Тимофеев, Р.Х.Зиганьшин, Е.Ю.Варламова. Особенности структуры Fab-фрагментов иммуноглобулина IgM и ревматоидного фактора IgM-RF в растворе. // *Кристаллография*, 2008, 53, (3), 499-506.
27. В.В.Волков, В.В.Клечковская, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, Н.А.Архарова, Г.И.Ивакин, Р.Ю.Смыслов. Определение размера и фазового состава наночастиц серебра в гелевой пленке бактериальной целлюлозы методами малоуглового рентгеновского рассеяния, электронной дифракции и электронной микроскопии. // *Кристаллография*, 2009, 54, (2), 197-201.
28. Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, В.В.Волков, Э.Е.Саид-Галиев, А.И.Стаханов, А.Р.Хохлов. Формирование наночастиц серебра в матрице ПВП в среде сверхкритического CO<sub>2</sub>: малоугловое рентгеновское рассеяние и моделирование. // *Российские нанотехнологии*, 2009, 4, (9-10), 64-71.
29. S.G.Starodubtsev, E.K.Lavrentyeva, E.V.Shtykova, K.A.Dembo, V.V.Volkov. Montmorillonite-polycation multilayers incorporated in polyacrylamide. // *Applied Clay Science*, 2009, 46, 88-94.
30. Э.В.Штыкова. Малоугловое рассеяние: возможности и перспективы (по материалам XIV Международной конференции в Оксфорде, Великобритания, 13-18 сентября 2009 года). *Российские нанотехнологии*, 2009, 4, (11-12), 16-19.

31. Э.Е.Саид-Галиев, А.И.Стаханов, И.В.Благодатских, Е.М.Кобицкая, А.Р.Хохлов, А.В.Наумкин, И.О.Волков, В.В.Волков, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, С.А.Писарев. Синтез поливинилпирролидона и его нанополимерных композитов в среде сверхкритического диоксида углерода. // Высокомолек. соед., Серия А, 2010, 52, (3), 536-544.
32. Т.А.Бабушкина, Т.П.Климова, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, В.В.Волков, А.К.Хрипунов, В.В.Клечковская. Исследование гель-пленок целлюлозы *Acetobacter Xylinum* и ее модифицированных образцов методами ЯМР  $^1\text{H}$  крипорометрии и малоуглового рентгеновского рассеяния. // Кристаллография, 2010, 55, (2), 344 – 349
33. S.G.Starodubtsev, T.V.Laptinskaya, A.S.Yesakova, A.R.Khokhlov, E.V.Shtykova, K.A.Dembo, V.V.Volkov. Comb-like poly (4-vilylpyridinium) salts with dodecylsulfate, sodium bis (2-ethylhexyl) sulfosuccinate and bromide counter ions. Small-angle X-ray scattering and dynamic light scattering study. // Polymer, 2010, 51 (1), 122-128.
34. E.V.Shtykova, V.V.Volkov, V.I.Salyanov, Yu.M.Yevdokimov. SAXS-data-based structural modeling of DNA-gadolinium complexes fixed in particles of cholesteric liquid-crystalline dispersions. // Eur Biophys J., 2010, 39 (9), 1313 – 1322.
35. L.M.Bronstein, E.V. Shtykova, A.Malyutin, J.C.Dyke, E.Gunn, X.Gao, B.Stein, P.V.Konarev, B.Dragnea, D.I. Svergun. Hydrophilization of magnetic nanoparticles with modified alternating copolymers. Part 1: The influence of the grafting. // J.Phys. Chem. C, 2010, 114, (50), 21900–21907.
36. E.V.Shtykova, A.Malyutin, J.Dyke, B.Stein, P.V.Konarev, B.Dragnea, D.I. Svergun, L.M.Bronstein. Hydrophilization of magnetic nanoparticles with modified alternating copolymers. Part 2: Behavior in solution. // J.Phys. Chem. C, 2010, 114, (50), 21908–21913.
37. A.Priola, A.Di Gianni, R.Bongiovanni, S.G.Starodubtsev, S.S.Abramchuck, S.N.Polyakov, V.V.Volkov, E.V.Schtykova, K.A.Dembo. Effect of the swelling degree on the formation of magnetite nanoparticles in hydrogels. // European Polymer Journal, 2010, 46, 2105–2111.
38. Э.Е.Саид-Галиев, А.И.Гамзазаде, Т.Е.Григорьев, А.Р.Хохлов, Н.П.Бакулева, И.Г.Лютова, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, В.В.Волков. Синтез Ag- и Cu-хитозановых нанометаллополимерных композитов в среде сверхкритического диоксида углерода и исследование их структуры и антимикробной активности. // Российские нанотехнологии, 2011, 6, (5-6), 94-104.
39. С.Г.Скуридин, В.А.Дубинская, Э.В.Штыкова, В.В.Волков, В.М.Рудой, О.В.Дементьева, В.А.Кузьмин, Е.С.Лисицына, С.Т.Захидов, И.А.Зеленина, Ю.М.Евдокимов. Фиксация наночастиц золота в структуре квазинематических слоев, образованных молекулами ДНК. // Биологические мембраны. 2011, 28, (3), 191-198.
40. Д.И.Свергун, Э.В.Штыкова, В.В.Волков, Л.А.Фейгин. Рентгеновское малоугловое рассеяние, синхротронное излучение и структура био- и наносистем. Обзор. // Кристаллография, 2011, 56, (5), 847-875.

41. Yu.M.Yevdokimov, S.G.Skuridin, V.I.Salyanov, V.I.Popenko, V.M.Rudoy, O.V.Dement'eva, E.V.Shtykova. A Dual effect of Au-nanoparticles on nucleic acid cholesteric liquid-crystalline particles. // *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2011, 2, 461-471.
42. E.V.Shtykova, N.V.Kuchkina, Z.B.Shifrina, L.M. Bronstein, D.I. Svergun. Unusual structural morphology of dendrimer/CdS nanocomposites revealed by synchrotron X-ray scattering. // *J. Phys. Chem. C*, 2012, 116, 8069–8078.
43. Y.Liu, Z.-Q.Gao, Z.She, K.Qu, W.Wang, E.V.Shtykova, J.Xu, C.-N.Ji, Y.Dong, The structural basis of the response regulator DrRRA from *Deinococcus radiodurans*. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2012, 417(4), 1206-1212.
44. V.V.Volkov, V.A.Lapuk, A.I.Toropova, E.Yu.Varlamova, E.V.Shtykova, K.A.Dembo, V.P.Timofeev. A comparative study of immunoglobulin IgM and rheumatoid factor IgM RF in solution by small-angle X-ray scattering. *Mendeleev Commun.*, 2012, 22, 159-161.
45. H.Zhang, Z.-Q.Gao, W.Wang, G.Liu, E.V.Shtykova, J.Xu, L.-F.Li, X.-D.Su, Y.Dong, The crystal structure of the MPN domain from the COP9 signalosome subunit CSN6. // *FEBS Letters*, 2012, 586, 1147–1153.
46. Y.Wei, H.Zhang, Z.-Q.Gao, W.Wang, E.V.Shtykova, J.Xu, Q.-S.Liu, Y.Dong, Crystal and solution structures of methyltransferase RsmH provide basis for methylation of C1402 in 16S rRNA. // *Journal of Structural Biology*, 2012, 179 (1), 29–40.
47. H.Zhang, Z.-Q.Gao, Y.Wei, W.Wang, G.Liu, E.Shtykova, J.Xu, Y.Dong. Insights into the catalytic mechanism of 16S rRNA methyltransferase RsmE (m3U1498) from crystal and solution structures. // *Journal of Molecular Biology*, 2012, 423, 576–589.
48. H.Zhang, Z.-Q.Gao, Y.Wei, W.Wang, G.Liu, E.V.Shtykova, J.Xu, Y.Dong. Structural insights into the function of 23S rRNA methyltransferase RlmG (m<sup>2</sup>G1835) from *Escherichia coli*. // *RNA*, 2012, 18 (8), doi:10.1261/rna.033407.112.
49. Z.She, Z.-Q.Gao, Y.Liu, W.Wang, G.Liu, E.V.Shtykova, J.Xu, Y.Dong. Structural and SAXS analysis of the budding yeast SHU-complex proteins. // *FEBS Letters*, 2012, 586 (16), 2306–2312.
50. Э.Е., Саид-Галиев, А.Ю.Васильков, А.Ю.Николаев, А.И.Лисицын, А.В.Наумкин, И.О.Волков, С.С.Абрамчук, О.Л.Лепендина, А.Р.Хохлов, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо. Структура моно- и биметаллических гетерогенных катализаторов на основе благородных металлов, полученных с помощью флюидной технологии и металлопарового синтеза. // *Журнал физической химии*, 2012, 86 (10), 1706–1713.
51. Ю.М.Евдокимов, Э.В.Штыкова, С.Г.Скуридин, В.И.Салаянов. Линейные кластеры из наночастиц золота в квазинематических слоях частиц жидкокристаллических дисперсий ДНК. // *Биофизика*, 2013, 58(2), 210-220.
52. С.Г.Скуридин, В.И.Салаянов, В.И.Попенко, Э.В.Штыкова, Е.С.Лисицына, В.А.Дубинская, В.А.Быков, Ю.М.Евдокимов. Структурные эффекты, вызываемые наночастицами золота в частицах холестерических жидкокристаллических дисперсий

- двухцепочечных нуклеиновых кислот. // Химико-фармацевтический журнал, 2013, 47 (2), 63-71.
53. А.Р.Коригодский, С.А.Барулина, В.В.Киреев, Н.П.Бессонова, В.В.Волков, К.А.Дембо, Э.В.Штыкова, М.А.Ванцян, Е.А.Симакина. Короткоблочные полимочевин-полидиметилсилоксановые блок-сополимеры на основе вторичных диаминов. // Высокомолекулярные соединения. 2013, 55 (4), 488-495.
  54. W.Wang, Q.Guo, E.V.Shtykova, G.Liu, J.Xu, M.Teng, P.Liu, Y.Dong. Structural peculiarities of the (MHF1-MHF2)<sub>4</sub> octamer provide a long DNA binding patch to anchor the MHF-FANCM complex to chromatin: a solution SAXS study. // FEBS Letters, 2013, 587, (18), 2912-2917.
  55. W.Wang, H.Hou, Q.Du, W.Zhang, G.Liu, E.V.Shtykova, J.Xu, P.Liu, Y.Dong. Solution SAXS studies of RecQ from *Deinococcus radiodurans* and its complexes with junction DNA substrates. // J. Biol. Chem., 288, 32414-32423.
  56. E.V.Shtykova, Y.A.Kabachii, P.M.Valetsky, S.S.Kochev, A.G.Malyutin, B.D.Stein, L.M.Bronstein, D.I.Svergun. Solution study of novel diblock copolymers: morphology and structural transition. // Polymer, 2013, 54 (26), 6971-6978.
  57. Э.В.Штыкова. Малоугловое рассеяние, нано, грипп, etc..., Природа, 2013, 11, 28-36.
  58. E.V.Shtykova, L.A.Baratova, N.V.Fedorova, V.A.Radyukhin, A.L.Ksenofontov, V.V.Volkov, A.V.Shishkov, A.A.Dolgov, L.A.Shilova, O.V.Batishchev, C.M.Jeffries, D.I.Svergun. Structural analysis of influenza A virus matrix protein M1 and its self-assemblies at low pH. // PLoS One, 2013, e82431. doi:10.1371/journal.pone.0082431.
  59. Ю.М.Евдокимов, В.И.Салянов, Э.В.Штыкова, Е.И.Кац, Н.Г.Хлебцов, С.Г.Скуридин. Структурная нанотехнология нуклеиновых кислот: создание «жидких» и «твердых» наноконструкций ДНК. // Вестник Российской академии наук, 2014, 84 (8), 694-707.
  60. L. Jiao, S. Ouyang, N. Shaw, G. Song, Y. Feng, F. Niu, W. Qiu, H. Zhu, L.-W. Hung, X. Zuo, E. Shtykova, P. Zhu, Yu.Dong, R. Xu, Z.-J. Liu. Mechanism of the Rpn13-induced activation of Uch37. // Protein Cell 2014, 5 (8), 616-630 DOI: 10.1007/s13238-014-0046-z.
  61. Yu.M.Yevdokimov, V.I.Salyanov, E.V.Shtykova, N.G.Khlebtsov, E.I.Kats, S.G.Skuridin. The physicochemical and nanotechnological approaches to creation of "rigid" DNA nanoconstructions. // The Open Nanoscience Journal, 2014, 8, 1-12.
  62. Ю.М.Евдокимов, В.И.Салянов, С.Г.Скуридин, Э.В.Штыкова, Н.Г.Хлебцов, Е.И.Кац. Физико-химический и нанотехнологический подходы к созданию «твердых» пространственных структур ДНК. // Успехи химии, 2015, 84 (1), с. 27-42.
  63. Э.В.Штыкова. Восстановление структуры низкого разрешения полидисперсных и полиморфных нанобъектов по данным малоуглового рассеяния (компьютерное моделирование). // Российские нанотехнологии, 2015, 10, (5-6), 60-70.