

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

Диссертация на соискание ученой степени
доктора химических наук

Москва 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	7
Глава 1. Малоугловое рассеяние в современных структурных исследованиях (теория и эксперимент)	18
1.1. Краткая историческая справка и мотивация работы	18
1.2. Теоретические основы малоугловой дифракции	22
1.3. Малоугловой эксперимент	27
1.3.1. Измерение малоуглового рассеяния на лабораторных дифрактометрах	28
1.3.2. Малоугловые исследования с помощью синхротронного излучения	30
1.3.3. Аномальное малоугловое рассеяние	34
1.4. Обработка данных малоуглового рассеяния и методы интерпретации	35
1.4.1. Первичная обработка данных	36
1.4.2. Методы восстановления надатомной структуры по данным МУР	38
1.4.2.1. <i>Ab initio</i> протокол восстановления формы частиц	39
1.4.2.2. Проблема неоднозначности решения	41
1.4.2.3. Метод молекулярной тектоники и гибридные методы	43
1.4.3. Полидисперсные и взаимодействующие системы	48
1.4.3.1. Анализ полидисперсности	49
1.4.3.2. Структурный анализ частично упорядоченных полимерных образцов	51
1.4.3.3. Структурный анализ систем взаимодействующих частиц	55

1.4.3.4. Восстановление формы рассеивающих объектов в полидисперсных системах	56
1.5. Совместное использование малоуглового рассеяния и других структурных методов	57
Глава 2. Надмолекулярные комплексы и принципы их формирования (литературные данные)	65
Глава 3. Анализ возможности восстановления трехмерных структур низкого разрешения полидисперсных и полиморфных нанообъектов по данным малоуглового рассеяния (компьютерное моделирование)	77
3.1. Восстановление формы рассеивающих объектов в полидисперсных системах: возможности и ограничения	79
3.1.1. Однородные сферы	79
3.1.2. Моделирование формы спиральных тел	74
3.2. Восстановление формы монодисперсных соединений при наличии частичной агрегации	86
3.2.1. Реконструкция сферических тел	86
3.2.2. Восстановление формы спиральных тел в присутствии агрегатов	93
3.3. Влияние структурного полиморфизма на результаты определения формы рассеивающих объектов методом малоуглового рассеяния	95
3.4. Возможности определения формы рассеивающих объектов при межчастичной интерференции	97
3.4.1. Реконструкция формы ассоциатов взаимодействующих сфер и восстановление формы индивидуальных сферических тел в составе ассоциатов	98
3.4.2. Реконструкция формы ассоциатов взаимодействующих спиральных тел и восстановление формы индивидуальных спиральных тел в составе ассоциатов	101

3.5. Заключение к Главе 3	103
Глава 4. Малоугловое рентгеновское рассеяние и структурное моделирование частично упорядоченных полимерных нанокомпозитов	106
4.1. Изучение процессов формирования и стабилизации металлических наночастиц в полимерных матрицах	106
4.1.1. Самоорганизующиеся комплексы полиэлектролитных гелей с противоположно заряженными поверхностно-активными веществами и формирование в них металлических наночастиц	107
4.1.2. Мультислоевые полимеры в качестве сред, формирующих и стабилизирующих металлические наночастицы	117
4.1.3. Металлизированные мицелярные системы	132
4.1.4. Формирование наночастиц металлов в композитах в среде сверхкритического CO ₂	146
4.2. Структура квазикристаллических полимерных матриц	158
4.2.1. Полые наноструктуры, образованные <i>ι</i> - и <i>κ</i> -каррагинанами в комплексе с поверхностно-активными соединениями	158
4.2.2. Гибридные полимерные наночастицы	169
4.2.3. Новые диблок сополимеры: морфология и структурные переходы	179
4.3. Заключение к Главе 4	189
Глава 5. Структурные исследования монодисперсных нанокомпозитов ...	191
5.1 Монодисперсные ферромагнитные наночастицы в растворе, стабилизированные биodeградируемыми полимерами	191
5.1.1. Структура и свойства наночастиц оксида железа, стабилизированных модифицированным полиэтиленгликолем	191
5.1.2. Наночастицы оксида железа, стабилизированные с помощью альтернативного сополимера, содержащего блоки октадецена и малеиновой кислоты	195

5.1.3. Гидрофилизация магнитных наночастиц модифицированными альтернативными сополимерами: влияние оболочки на поведение наночастиц в растворе	199
5.2. Жесткоцепные ароматические дендримеры, содержащие квантовые точки CdS	205
5.2.1. Форма и размер исходных дендримеров	208
5.2.2. Форма и размер ассоциатов дендримеров	209
5.2.3. Форма и размер CdS/PPPD нанокомпозитов	210
5.2.4. Моделирование структуры CdS/PPPD нанокомпозитов методом молекулярной тектоники	212
5.2.5. Форма и размер ассоциатов CdS/PPPD нанокомпозитов	216
5.2.6. Общий анализ результатов	217
5.3. Заключение к Главе 5	218
Глава 6. Структурная нанодиагностика биологических макромолекул и их комплексов	219
6.1. Изменения структуры квазинематических слоев молекул ДНК, индуцированные катионами редкоземельных элементов и наночастицами золота	221
6.1.1. Структурные характеристики частиц холестерических жидкокристаллических дисперсий ДНК в комплексе с гадолинием	223
6.1.2. Структура квазинематических слоев молекул ДНК с инкорпорированными наночастицами золота	231
6.2. Структура и комплексообразование матричного белка вируса гриппа М1 в растворе	240
6.2.1. Интегральные характеристики белка М1 и NM-домена	243
6.2.2. <i>Ab initio</i> восстановление формы М1 белка и анализ гибкости и разупорядоченности С-домена	247

6.2.3. Анализ формы ассоциатов белка M1	252
6.2.4. Общий анализ результатов	254
6.3. Структурная организация и функция биологических комплексов	256
6.3.1. Структурный анализ хеликазы RecQ из бактерии <i>Deinococcus Radiodurans</i> и ее комплексов с ДНК-субстратами	257
6.3.2. Малоугловые исследования в растворе структурных особенностей (MHF1-MHF2) ₄ октамера, обеспечивающие образование комплекса MHF-FANCM с хроматином	262
6.4. Заключение к Главе 6	266
Заключение	273
Основные выводы	282
Цитируемая литература	286
Публикации по теме диссертации	315

ВВЕДЕНИЕ

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. Была продемонстрирована возможность эффективного использования для таких систем новых методов, предложенных ранее для монодисперсных биологических растворов, что открыло пути для углубленного анализа структуры и свойств современных нанотехнологических материалов. Проведенные работы 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 для структурных исследований.

Одним из важнейших мотивационных моментов использования МУРР для структурной диагностики вещества являются универсальность метода. МУРР эффективно для изучения 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, нанокомпозиты в твердом и гелеобразном состоянии, нанокластеры различного происхождения, сплавы, квазикристаллические структуры, 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 малоугловому эксперименту. 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,

заклученной 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. Задача определения условий и ограничений, необходимых для надежного восстановления структуры полидисперсных объектов по данным МУРР становится особенно актуальной в

настоящее время, когда развиты мощные методы интерпретации данных рассеяния монодисперсными системами. Этому, то есть 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 методов 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 нанокомпозитов 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 CO₂;
- 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. Разработанные методики были применены к решению структурных задач как по данным синхротронных измерений, так и при использовании лабораторных установок. Здесь следует отметить, что лабораторные рентгеновские камеры 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 гига- 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 ссылки. Список работ автора содержит 63 публикации, обозначенные в тексте диссертации буквой А.

Автор с огромной благодарностью посвящает эту работу своим учителям доктору физико-математических наук, профессору Л. А. Фейгину и доктору физико-математических наук Д. И. Свергуну.

Автор также выражает глубокую признательность академику А.Р.Хохлову, профессору Ю.М. Евдокимову, профессору В.В.Клечковской, профессору Л.А.Баратовой, д.б.н. С.Г.Скуридину, докторам М.Коху, Х.Рейнерсу, Ю.Донгу и Т.Фуджисаве, к.х.н. Л.М.Бронштейн, к.х.н. Э.Е.Саид-Галиеву, д.х.н. С.Г.Стародубцеву, к.х.н. В.А.Радюхину, к.х.н. Н.В.Федоровой, к.х.н. А.Л.Ксенофонтову за предоставление образцов и вдохновляющую дискуссию, д.х.н. В.В.Волкову, к.ф.-м.н. П.В.Конареву и к.ф.-м.н. М.В.Петухову за постоянную помощь в применении и развитии программного обеспечения метода малоуглового рассеяния, а также всем своим коллегам из Института кристаллографии и особенно лаборатории малоуглового рассеяния и лаборатории биоорганических структур за помощь, сотрудничество и конструктивное, теплое участие на разных стадиях работы.

Глава 1

Малоугловое рассеяние в современных структурных исследованиях (теория и эксперимент)

1.1. Краткая историческая справка и мотивация данной работы

Метод малоуглового рентгеновского рассеяния в настоящее время является одним из ключевых, универсальных методов структурной диагностики конденсированных фаз в нанометровом диапазоне. МУРР стремительно развивается и его популярность непрерывно растет, что отражается в резком увеличении числа публикаций и, особенно наглядно это видно во время специализированных научных встреч, посвященных этому методу. Престижные международные конференции по малоугловому рассеянию (SAS) проходят регулярно каждые три года и собирают в среднем по 500 участников из более чем 35-ти стран мира. Нами регулярно проводится анализ распределения докладов по научным секциям на этих конференциях [A1-A3]. Последняя из них на время написания диссертации, SAS2012, состоялась осенью 2012 года в Сиднее, Австралия. На конференции было представлено 474 доклада, 237 устных и 237 постерных. Распределение этих докладов показано в виде диаграммы на Рис. 1.1.

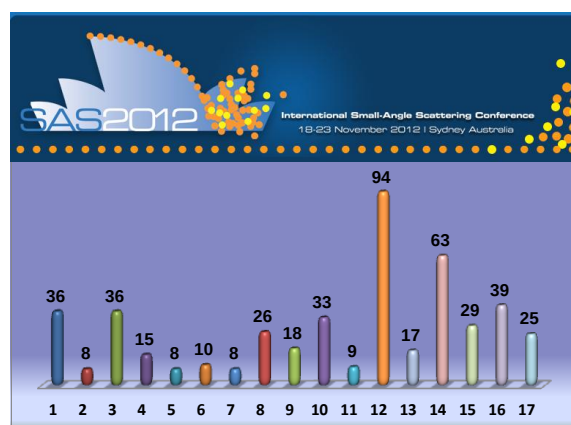


Рис. 1.1. Диаграмма распределений докладов по секциям SAS2012: 1- приложения и новые технологии; 2 - когерентное рассеяние и обработка

изображений; 3 - комплексные жидкости; 4 - вариация контраста; 5 - молодежная секция; 6 - магнитные материалы; 7 - медицина и здоровье; 8 - мембраны и бислои; 9 - металлы и металлизированные системы; 10 - инструментарий; 11 - пленарные доклады; 12 - полимеры и жидкие кристаллы; 13 - пористые системы, керамика, стекла и гели; 14 - структурная биология и рассеяние белками; 15 - поверхности и интерфейсы; 16 – теория и моделирование; 17 - динамика и неравновесные состояния.

Обращает на себя внимание, что в малоугловом рассеянии превалирует полимерная тематика (94 доклада), тогда как еще совсем недавно основными были исследования в области структурной биологии. Эта тенденция в целом отражает направленность развития МУРР с момента его возникновения и до настоящего времени.

Малоугловое рассеяние рентгеновских лучей было обнаружено еще в 1930 году индийским физиком П. Кришнамурти [1] из Университета Калькутты, однако впервые серьезное внимание на это явление обратил французский кристаллограф А. Гинье (Рис. 1.2) в 1938 году при исследовании сплавов методом рентгеновской дифракции. Он заметил, что центральная часть дифракционной картины содержит рассеяние, отражающее присутствие в веществе высокодисперсных неоднородностей с размерами в десятки нанометров. Для регистрации довольно слабого рассеяния вблизи мощного первичного пучка излучения Андре Гинье сконструировал специальную камеру с низким собственным уровнем фона.



Рис. 1.2. Французский физик А. Гинье

Это позволило ему заняться глубоким изучением явления, которому еще П. Кришнамурти дал название малоуглового рентгеновского рассеяния. Отметим, что камеры Гинье успешно используются и в настоящее время.

Спустя почти 20 лет вышел в свет первый основополагающий труд, посвященный малоугловому рассеянию [2], где Андре Гинье и Жерар Фурне показали, что этот метод дает информацию не только о размере и форме рассеивающих объектов, но и о внутренней структуре разупорядоченных или частично упорядоченных систем (Рис. 1.3).

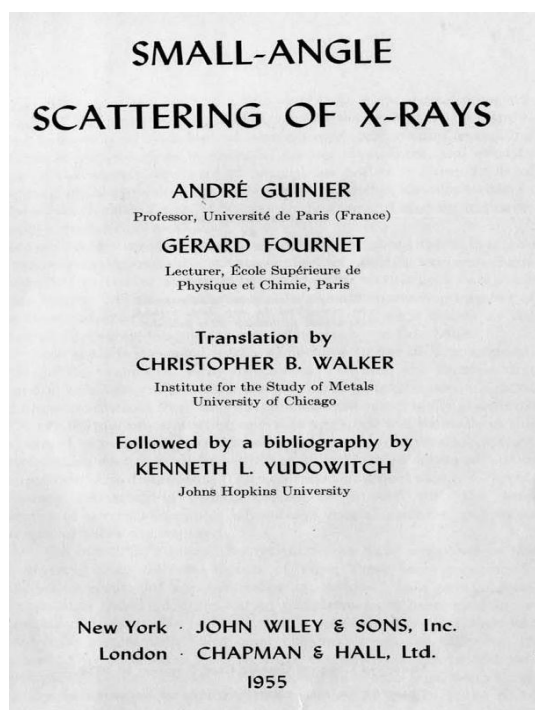


Рис. 1.3. Монография
А. Гинье и Ж. Фурье

Эта монография положила начало развитию метода. Однако, раскрытие реального потенциала МУРР смогло произойти только с появлением в 1980-х годах источников синхротронного излучения (СИ), благодаря тому, что они обладают целым рядом важнейших преимуществ по сравнению с излучением традиционных рентгеновских трубок, которыми пользовался еще А. Гинье, и в первую очередь неизмеримо более высокой интенсивностью и малой расходимостью пучка фотонов.

Тем не менее, метод как таковой начал активно развиваться и применяться на два десятилетия раньше параллельно с развитием в те годы молекулярной биологии, когда стало доступно получение высокоочищенных препаратов белков, рибосом, вирусов. Растворы таких биополимеров близки к теоретической системе идентичных частиц, описанных А. Гинье и Ж. Фурне в их совместной монографии, а размеры биомакромолекул лежат в области от нескольких нанометров до нескольких сотен нанометров, что делает эти препараты практически идеальными объектами исследования с

помощью МУРР. Именно этим объясняется тот факт, что подходы к анализу данных малоуглового рентгеновского рассеяния были изначально развиты в основном для монодисперсных образцов.

Полимерная тематика постепенно стала занимать свое место в МУРР примерно в середине прошлого столетия, когда наука о полимерах превратилась в самостоятельную область знаний и была осознана огромная роль полимеров в развитии технического прогресса. Однако, полимерные вещества в качестве объектов изучения методом малоуглового рассеяния имели и имеют ряд специфических особенностей, среди которых полидисперсность является одной из самых важных. Если даже в случае изучения идентичных частиц в растворе с помощью МУРР происходит потеря структурной информации за счет усреднения по всем ориентациям, то для полидисперсных систем задача определения структуры значительно усложняется за счет распределения по размерам и/или по форме рассеивающих объектов.

Начало третьего тысячелетия ознаменовано развитием нанотехнологий, наноматериалов и наносистем. Наноматериалы объединяют в себе и полимеры и биологические объекты и сложные многокомпонентные системы, которые должны обладать специфическими свойствами для выполнения определенных функций. Исследование структуры таких веществ представляет собой очень сложную задачу, часто из-за сочетания композиционной неоднородности и полидисперсности. Получение для таких систем в качестве структурной информации только распределений по размерам уже недостаточно и не является решением структурной задачи, как это было еще совсем недавно. Необходимость получения более тонкой структурной информации для широкого класса сложных композиционных соединений, в том числе биологических, по данным малоуглового рассеяния была одним из основным стимулов при выполнении данной работы. Параллельно, другим важным мотивационным моментом была необходимость определения границ и возможностей метода малоуглового

рентгеновского рассеяния при восстановлении по данным МУРР строения рассеивающих объектов при наличии полиморфности и полидисперсности.

1.2. Теоретические основы малоугловой дифракции

Метод малоуглового рассеяния основан на анализе упругого рассеяния рентгеновских лучей на электронах атомных оболочек в образце. Рассеяние происходит на неоднородностях электронной плотности, то есть рассеивающая способность и связанная с ней структура вещества могут быть описаны распределением электронной плотности $\rho(\mathbf{r})$, где $\mathbf{r}$ – вектор, соединяющий точку в пространстве с рассеивающим центром. Эффективная рассеивающая способность вещества определяется разницей (контрастом) между средней электронной плотностью пространства ρ_s , в котором находится рассеивающая частица, и электронной плотностью самой частицы $\Delta\rho(\mathbf{r})=\rho(\mathbf{r})-\rho_s$. В предположении, что пространство имеет постоянную электронную плотность ρ_s , амплитуда упругого рассеяния частицей определяется преобразованием Фурье

$$A(\mathbf{s}) = \mathfrak{F}[\rho(\mathbf{r})] = \int_V \Delta\rho(\mathbf{r}) \exp(i\mathbf{s}\mathbf{r}) d\mathbf{r}, \quad (1.1)$$

где вектор рассеяния $\mathbf{s}$ есть разность между волновыми векторами рассеянной $\mathbf{k}_1$ и падающей и $\mathbf{k}_0$ волн (Рис. 1.4).

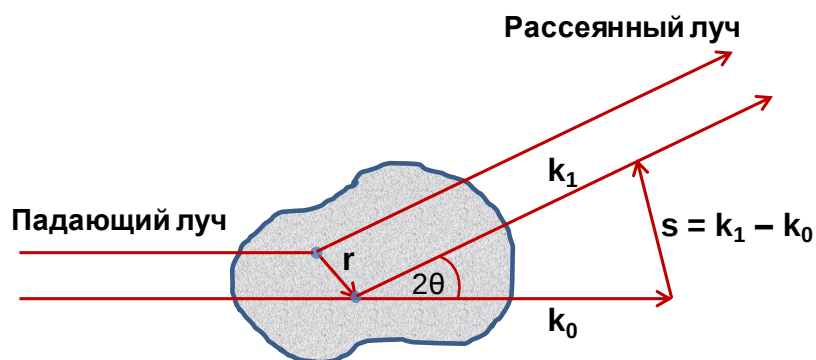


Рис. 1.4. Схема упругого рассеяния.

В эксперименте измеряется не амплитуда $A(\mathbf{s})$, а интенсивность рассеяния $I(\mathbf{s})=A(\mathbf{s})A^*(\mathbf{s})$, которая пропорциональна числу фотонов, рассеянных в направлении $\mathbf{s}$. Номинальное разрешение d , отвечающее вектору рассеяния $\mathbf{s}$, определяется соотношением $d = 2\pi/s$, где $s = 4\pi \sin\theta / \lambda$ - модуль вектора рассеяния и 2θ - угол рассеяния. Соответственно, чем больше размер рассеивающего объекта, тем в меньшем угловом интервале сосредоточено рассеянное им излучение. Поэтому рассеяние в малых углах (меньше нескольких градусов) несет информацию о достаточно крупных по сравнению с длиной волны излучения λ рассеивающих объектах. В исследованиях с помощью МУРР используется излучение с λ порядка одного ангстрема. Поскольку межатомные расстояния в конденсированной фазе вещества имеют такой же порядок величины, то для исследования надатомной структуры регистрируется дифракционная картина в области малых углов рассеяния, а в целом МУРР дает структурную информацию с разрешением 1-2 нм.

Для идентичных, хаотически расположенных в пространстве частиц, рассеяние которыми описывается уравнением (1.1), кривая малоуглового рассеяния при отсутствии межчастичной интерференции пропорциональна рассеянию одной частицей, усредненной по всем ориентациям $I(s)=\langle I(\mathbf{s}) \rangle_{\Omega}$, где Ω означает телесный угол в обратном пространстве, т.е. в пространстве интенсивностей. По такой кривой изотропного рассеяния однозначно определяются очень важные интегральные характеристики исследуемых частиц, которые называются инвариантами.

Инварианты - это геометрические и весовые характеристики рассеивающих объектов, которые могут быть выражены аналитически через интенсивность рассеяния $I(s)$. Вычисление инвариантов не требует никакой априорной информации. Геометрические характеристики частиц определяются из кривой

рассеяния, выраженной в относительных единицах, в то время как расчет весовых параметров требует абсолютизации измерений.

Одним из важнейших инвариантов является радиус инерции частицы R_g , определение которому впервые дал А. Гинье в своей классической работе [3] еще в 1939 году. Этот параметр может быть найден по начальному участку кривой рассеяния в области самых малых значений s с помощью формулы

$$I(s) = I(0) \exp(-s^2 R_g^2 / 3). \quad (1.2)$$

Из наклона прямолинейного участка графика Гинье - $\ln I(s)$ от s^2 - определяют интенсивность рассеяния в нулевой угол $I(0)$, которая характеризует общее количество рассеивающей материи и пропорциональна квадрату молекулярной массы рассеивающей частицы, а также радиус инерции R_g , который несет информацию о распределении материи относительно центра массы частицы и характеризует ее средний размер.

Объем V и площадь поверхности S рассеивающего объекта вычисляют с использованием нормированного инварианта Порода [4]:

$$Q_0 = \int_0^{\infty} i(s) s^2 ds, \quad i(s) = I(s) / I(0) \quad (1.3)$$

$$V = \frac{2\pi^2}{Q_0}, \quad \frac{S}{V} = \frac{\pi}{Q_0} \lim_{s \rightarrow \infty} [s^4 i(s)], \quad (1.4)$$

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

$$I(s) = 4\pi \int_0^{D_{max}} p(r) \frac{\sin(sr)}{sr} dr \quad (1.5)$$

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:

$$p(r) = \frac{r^2}{2\pi^2} \int_0^{D_{max}} s^2 I(s) \frac{\sin sr}{sr} ds. \quad (1.6)$$

В практических исследованиях, $p(r)$ рассчитывают не прямым интегрированием интенсивности (что приводит к сильным эффектам обрыва) а с помощью так называемого косвенного фурье-преобразования с регуляризацией решения [5, 6].

Для описания полидисперсных систем используются два подхода. Если система содержит несколько различных типов невзаимодействующих частиц с произвольной структурой, то интенсивность рассеяния от такой системы может быть записана в виде линейной комбинации

$$I(s) = \sum_{k=1}^K \nu_k I_k(s), \quad (1.7)$$

где $\nu_k > 0$ и $I_k(s)$ – объемная доля и интенсивность рассеяния от k -го типа частиц (компонент), соответственно, а K - число компонентов. В этом случае нельзя реконструировать структуру отдельных компонентов только по данным малоуглового рассеяния без помощи дополнительной информации. Но если число компонентов и их кривые рассеяния известны, то можно определить объем фракций ν_k в линейной комбинации (1.7) методом неотрицательных линейных наименьших квадратов [7].

Другой тип полидисперсности характерен для систем, где частицы одинаковы по форме, но отличаются по размерам. Такие системы удобно описывать объемной функцией распределения $D_V(R) = N(R)V(R)$, где $N(R)$ - число

частиц с характерным размером R в системе, а $V(R)$ - объем одной частицы данного размера. Интенсивность рассеяния в этом случае определяется интегралом

$$I(s) = (\Delta\rho)^2 \int_{R_{min}}^{R_{max}} D_V(R) V(R) i_0(sR) dR, \quad (1.8)$$

где $i_0(sR)$ – форм-фактор частицы, т.е. нормированная интенсивность рассеяния частицей заданной формы ($i_0(0)=1$), R_{min} и R_{max} - минимальный и максимальный размер частиц, соответственно. В большинстве практических случаев предполагается, что форм-фактор частицы известен, а для изотропной системы частиц обычно используют сферическое приближение. Тогда объемную функцию распределения по размерам $D_V(R)$ можно определить с помощью косвенного преобразования [5,6], аналогично тому, как решается интегральное уравнение (1.6).

Следует еще раз подчеркнуть, что сферическое усреднение интенсивности рассеяния, возникающее из-за хаотической ориентации идентичных частиц в пространстве, приводит к значительной потере структурной информации, содержащейся в дифракционных данных. Поэтому поиск трехмерных моделей по одномерным кривым малоуглового рассеяния является чрезвычайно трудной задачей, которая к тому же некорректна в математическом смысле и приводит к неоднозначности решений. Поэтому традиционные методы анализа кривых МУРР изотропными монодисперсными системами основывались прежде всего на расчете инвариантов, а также включали моделирование путем аппроксимации формы частицы трехпараметрическими геометрическими телами - так называемое моделирование простыми телами. Для построения более сложных моделей применяли метод проб и ошибок, с использованием априорной информации о строении частиц полученной другими методами (электронная микроскопия, различные физико-химические измерения). Как правило, строился ряд

предполагаемых моделей исследуемых частиц и проводилось сравнение рассеяния от них с экспериментальной кривой. Этот подход иногда позволял подобрать модель, наилучшим образом отвечающую как данным рассеяния, так и априорной информации, но ничего не говорил о единственности или правильности решения. Но если даже в случае изучения идентичных частиц с помощью МУРР происходит существенная потеря структурной информации за счет сферического усреднения по всем ориентациям, то для полидисперсных систем это происходит еще и за счет распределения по размерам, а часто еще и за счет структурного полиморфизма рассеивающих объектов. Поэтому так важно найти такие подходы к интерпретации данных малоуглового рассеяния, которые помогли бы значительно снизить эффект потери структурной информации.

1.3. Малоугловой эксперимент

Для малоуглового эксперимента используются два типа дифрактометров: лабораторные камеры, оснащенные рентгеновскими трубками, и станции на синхротронных источниках излучения (СИ). Исключая сложные технические детали, малоугловые дифрактометры состоят из источника излучения (1), системы формирования пучка (2), камеры держателя образца (3) и детектора (4), как это показано на Рис. 1.5.

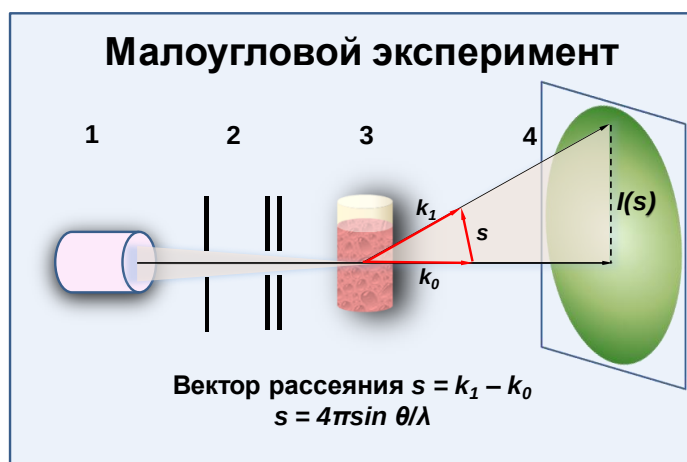


Рис. 1.5. Схема малоуглового эксперимента

Известно, что серьезный прогресс в малоугловом рассеянии связан с появлением источников синхротронного излучения, так как они обладают целым рядом важнейших преимуществ, в частности, неизмеримо более высокой интенсивностью непрерывного рентгеновского спектра, по сравнению с излучением традиционных лабораторных источников на рентгеновских трубках. Однако, значение лабораторных дифрактометров не должно умаляться. Тщательно проведенный малоугловой эксперимент на лабораторных установках также дает структурную информацию высокого качества. Кроме того, научных центров, использующих СИ в принципе немного – из-за высокой стоимости и колоссальной энергоемкости единицы даже на высокоразвитые страны, в то время как лабораторные дифрактометры доступны отдельным научно-исследовательским и академическим организациям. Это позволяет использовать лабораторные установки МУРР не только для фундаментальных научных изысканий, но и для рутинных структурных анализов, в частности для направленной корректировки и осуществления обратной связи в цепочке синтез-структура-свойства-синтез при разработке новых материалов с заданными характеристиками.

1.3.1. Измерение малоуглового рассеяния на лабораторных дифрактометрах.

Угловой диапазон лабораторных малоугловых дифрактометров охватывает достаточно широкий интервал, начиная с очень малых углов (десятых долей градуса) и до 10 - 15 градусов. Типичная схема малоуглового эксперимента приведена на Рис. 1.5. Традиционно для формирования пучка в таких установках используют коллиматор по схеме Кратки [4], позволяющего получать штриховой пучок с очень малой шириной. Малая ширина пучка приводит к необходимости использования его большой высоты, до 10-30 мм, чтобы получить первичный пучок с достаточной интенсивностью. А это, в свою очередь, приводит к необходимости учета коллимационных искажений, т.е. приведения картины

рассеяния к точечному источнику излучения путем введения коллимационных поправок. Положительным моментом является то, что алгоритмы решения таких коллимационных задач уже давно разработаны и их обзор приведен в [6]. Поэтому до известной степени это не является серьезной проблемой при малоугловых исследованиях с щелевой коллимацией.

Следует также отметить, что в лабораторных малоугловых дифрактометрах часто используется возможность изменения расстояния образец-детектор. Это позволяет более тщательно и надежно измерить рассеяние в области больших углов, где интенсивность падает на порядки.

При выполнении ряда экспериментальных работ данной диссертации был использован уникальный лабораторный малоугловой дифрактометр АМУР-К (разработка СКБ института кристаллографии РАН, Москва, [8]) с позиционно-чувствительным детектором и фиксированной длиной волны излучения λ , в нашем случае равной 0.1542 нм. Щелевая коллимация в проведенных нами экспериментах осуществлялась с применением геометрии Кратки [4] в двух экспериментальных режимах. Первый режим позволил проводить измерения в области значений волновых векторов $0.12 < s < 10.0 \text{ нм}^{-1}$ ($s = 4\pi \sin\theta/\lambda$, 2θ - угол рассеяния), т.е. при рассеянии в сравнительно большие углы. Вторым режим измерений в диапазоне $0.03 < s < 2.0 \text{ нм}^{-1}$ соответствовал области рассеяния самыми крупными частицами изучаемых систем. Полученные экспериментальные данные нормировались на интенсивность падающего пучка, после чего в них вводилась поправка на коллимационные искажения в соответствии со стандартной процедурой [5].

Ряд исследований был проведен также на лабораторном дифрактометре «NECUS» (Австрия) с линейным позиционно-чувствительным детектором на фиксированной длине волны излучения λ равной 0.1542 нм. Дифрактометр также снабжен щелевой системой коллимации Кратки, а экспериментальные кривые

рассеяния были измерены в области значений волновых векторов в интервале $0.07 < s < 6.0 \text{ нм}^{-1}$ с последующей стандартной процедурой введения коллимационных и нормировочных поправок [5].

1.3.2. Малоугловые исследования с применением синхротронного излучения

Особенности и преимущества синхротронного излучения были подробно рассмотрены в [9]. Для МУРР прежде всего очень важна огромная яркость, т.е. высокая интенсивность, малый размер и малая угловая расходимость пучка. Область длин волн в синхротронных источниках охватывает интервал от жесткого рентгеновского до ультрафиолетового излучения. Широкий спектральный интервал СИ находит свое применение для экспериментов с использованием аномального рентгеновского рассеяния, где с помощью вариации длины волны вблизи края поглощения атомами определенного типа удастся выделить сигнал от этих атомов [10]. Периодическое прерывание пучка во времени, возникающее из-за пакетной структуры электронов, вращающихся в накопителе, также оказывается полезным для кинетических экспериментов МУРР с высоким временным разрешением (см. например, [11]).

Как правило, синхротронный эксперимент МУРР занимает очень короткое время – секунды, минуты. Это время несравнимо со временем эксперимента на лабораторных дифрактометрах, которое часто занимает часы. Размер пучка на современных синхротронных станциях составляет, как правило, десятки микрон, а специализированные установки позволяют достигать субмикронных размеров [12]. Поэтому объем образца, необходимый для МУРР с применением СИ, составляет обычно меньше 50 мкл, но может быть и менее 10 мкл, что чрезвычайно важно для биологических исследований, где получение очищенных препаратов является чрезвычайно сложной процедурой и доступное количество образца как правило измеряется в микро- или миллиграммах.

Несмотря на очень короткое время измерений, огромная яркость пучка может приводить к радиационным повреждениям образца. Поэтому в процессе измерений необходим контроль за состоянием образца, который, как правило проводится автоматически по изменению профиля кривой рассеяния.

Малоугловые синхротронные измерения проводились нами в основном на синхротроне DESY в Гамбурге, Германия, на накопительном кольце DORIS III, beamline X33, а затем на недавно запущенном накопительном кольце PETRA III, beamline P12.

Малоугловая станции X33, построенная Европейской лабораторией молекулярной биологии (EMBL), показана на Рис. 1.6.

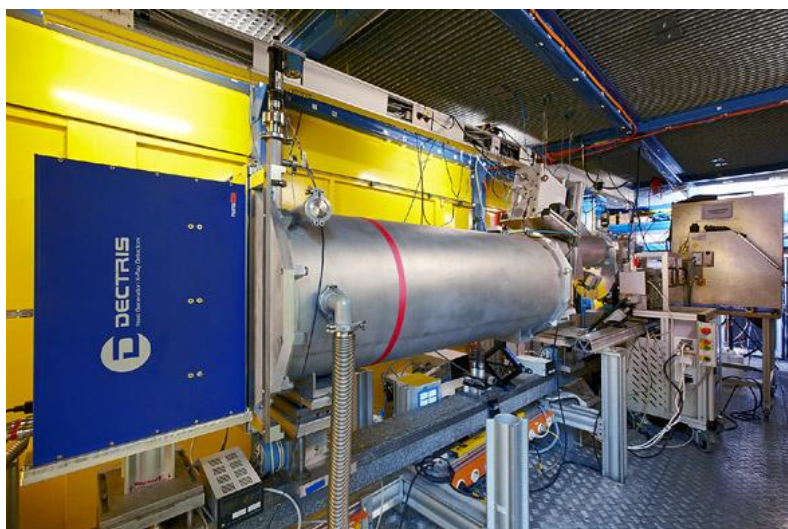


Рис. 1.6. Малоугловая установка X33 (ЕМБЛ, накопительное кольцо DORIS-3, синхротрон DESY, Гамбург.

Источник излучения станции X33 находился более чем в 20 метрах от оптической системы, что позволяло регистрировать самые малые углы рассеяния. Рассеянные фотоны одновременно регистрировались малоугловым и широкоугловым детектором, которые обеспечивали диапазон углов рассеяния от 0.1 до 25 градусов. При длине волны в 0.15 нм, которая вырезается

монохроматором, эти углы отвечают динамическому диапазону размеров от 0.4 до 100 нм. Такой диапазон достаточен для исследования самых разнообразных объектов без изменения расстояния образец-детектор и перефокусировки станции. Разрешение станции при малоугловых исследованиях находилось в интервале угловых векторов от $s = 0.06 \text{ нм}^{-1}$ до 6.0 нм^{-1} и при широкоугловых измерениях от $s = 3.8 \text{ нм}^{-1}$ до 17.5 нм^{-1} . Поток электронов на образце составлял 5×10^{11} фотон/сек. Весь путь прохождения пучка, включая камеру держателя образца и трубу рассеянного излучения был вакуумирован для уменьшения поглощения и паразитного фона. Эта установка была полностью переоборудована в течение последних лет [13] и оснащена, в частности, роботом для автоматических измерений рассеяния растворами [14, 15] и двумя новейшими пиксельными детекторами фирмы DECTRIS, Pilatus-1M для малых углов и Pilatus-300kW для больших углов рассеяния.

Малоугловая станции P12, заменившая в настоящее время станцию X33, показана на Рис. 1.7.



Рис. 1.7. Малоугловая установка P12 (ЕМБЛ, накопительное кольцо PERTA III, синхротрон DESY, Гамбург).

Характеристики малоугловой станции P12 (EMBL, DESY) приведены ниже:

Источник	Petra U29 андулятор
Монохроматор	Двойной кристалл Si (111)
Длина волны	0.1-0.3 нм, обычно 0.124 нм
Поток электронов	10^{13} фотон/сек
Размер пучка на детекторе	$0.2 \times 0.12 \text{ мм}^2$
Кюветы	капиллярные, интервал температур: 7°C до 55°C (на короткое время до 70°C)
Детектор	2D Pilatus 2M pixel X-ray detector (DECTRIS)
Расстояние образец-детектор	1.6 или 2.1 или 3.1 или 4.1 или 6.1 м; обычно 3.1 м.
Разрешение	10000 Å - 8 Å
Смена образца	новое поколение EMBL/ESRF робота

Как видно из приведенных выше данных, новая малоугловая линия P12 синхротрона DESY по своим характеристикам значительно превосходит станцию X33 [<http://www.embl-hamburg.de/biosaxs/p12/characteristics.html>].

Исследование структуры некоторых белковых препаратов с помощью малоуглового рассеяния синхротронного излучения проводились также на синхротроне BSRF Института физики высоких энергий Китайской академии наук в Пекине, Китай на малоугловой станции 3W1A, оснащенной детектором MAR CCD 165 мм в угловом интервале $0.13 < s < 2.4 \text{ нм}^{-1}$.

Кроме того, тонкие структурные исследования фосфолипидов в гексане были проведены на японском синхротроне Spring-8, beamline BL45XU с мощностью пучка 3×10^{11} фотон/сек, оснащенном кристаллическим монохроматором на двойном кристалле синтетического алмаза (111) и CCD детектором.

1.3.3. Аномальное малоугловое рассеяние

Широкий спектральный интервал СИ позволяет проводить исследования образцов, содержащих металлические наночастицы, с помощью аномального рентгеновского рассеяния. Эти эксперименты были проведены на синхротроне DESY в Гамбурге, Германия, на накопительном кольце DORIS III на приборе JUSIFA [16]. Измерения проводились на разных длинах волн рентгеновского излучения λ , то есть при различных энергиях падающего пучка E [17, 18]. Регистрируя кривые малоуглового рассеяния при энергиях рентгеновского пучка вблизи края полосы поглощения металла, можно разделить рассеяние от металлических атомов и рассеяние полимерной матрицей. Рассеивающий фактор атома определяется следующим образом:

$$f(E) = f_0 + f'(E) + if''(E), \quad (1.9)$$

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). Образец помещался на расстояниях 935 мм и 3635 мм от детектора для покрытия угловых диапазонов $0.4 < s < 7.3$ нм⁻¹ и $0.08 < s < 1.5$ нм⁻¹, соответственно. С целью уменьшения паразитного рассеяния кювета с образцом была вакуумирована. В кривые рассеяния, полученные при двух расстояний образца от детектора, были внесены поправки на фоновое рассеяние и флуоресценцию, после чего данные были приведены к абсолютным единицам и сшиты для получения единой кривой в угловом диапазоне $0.08 < s < 7.3$ нм⁻¹.

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.

1.4. Обработка данных малоуглового рассеяния и методы интерпретации

Малоугловое рентгеновское рассеяние частицей описывается в прямом пространстве с помощью математического аппарата фурье-преобразований (уравнение 1.1). Но для определения структуры рассеивающего объекта по данным МУРР необходимо решить обратную задачу. Рассеяние дисперсными системами как правило изотропно, а интенсивность рассеяния $I(s)$ в обратном пространстве зависит только от модуля вектора рассеяния $s = 4\pi \sin\theta / \lambda$. Проблема состоит в том, что в эксперименте вместо идеальной кривой $I(s)$ может быть получен лишь набор дискретных точек $J(s_i)$, содержащих приборные искажения. Поэтому обработка данных МУРР прежде всего представляет собой задачу перехода от набора $J(s_i)$ к функции $I(s)$. Основная трудность связана с тем, что набор дискретных точек $J(s_i)$ измеряется на конечном интервале углов рассеяния $[s_{min}, s_{max}]$, в то время как интенсивность $I(s)$ связана интегральным преобразованием (1.5) с характеристической функцией в прямом пространстве:

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

где $p(r)$ – функция распределения по расстояниям, а D_{max} - максимальный размер. Чтобы избежать эффектов обрыва, $p(r)$ рассчитывают не прямым интегрированием

интенсивности, а с помощью косвенных методов с регуляризацией решения [5, 6], что позволяет восстановить функцию $p(r)$, а следовательно и $I(s)$ без экстраполяции экспериментальных данных к $s \rightarrow 0$ и $s \rightarrow \infty$. Этот подход реализован в виде компьютерной программы GNOM [19]. Она используется для обработки данных МУРР как монодисперсными (глобулярные, вытянутые и сплюснутые частицы), так и полидисперсными системами. В последнем случае косвенными методами решается интегральное уравнение (1.8) при различных форм-факторах. Эта программа является важнейшей в структурных исследованиях МУРР, в частности, при восстановлении формы рассеивающих объектов.

1.4.1. Первичная обработка данных

Первичная обработка данных МУРР состоит в ряде манипуляций с набором экспериментальных данных, тщательность выполнения которых определяет количество и качество полученной структурной информации.

В настоящей работе был использован программный блок PRIMUS [20], разработанный для выполнения предварительных действий с исходными экспериментальными данными МУРР, что обеспечивало необходимый и достаточный базис для дальнейшего структурного анализа. Программа PRIMUS снабжена графическим интерфейсом (Рис. 1.8) с вызовом отдельных вычислительных модулей для первичной обработки и анализа исходных данных МУРР. Процесс первичной обработки включает в себя статистический анализ набора кривых малоуглового рассеяния для данного образца за период измерения, их усреднение и шкалирование. С помощью программного блока PRIMUS проводится калибровка и нормализация данных, вычитание рассеяния фоном (растворителем, матрицей), сшивка кривых рассеяния, измеренных на разных угловых интервалах, концентрационный анализ, вычисление инвариантов с использованием графиков Гинье и Порода, анализ Брегговских пиков для

упорядоченных или частично упорядоченных объектов, моделирование геометрическими телами, анализ смесей.

С помощью всплывающих окон программа обеспечивает использование в едином блоке различных внешних модулей, что позволяет, например, вычислить характеристические функции на базе косвенных фурье-преобразований и провести моделирование рассеивающего объекта простыми геометрическими телами. При анализе смесей, PRIMUS позволяет моделировать количественный состав образца, если известно рассеяние от отдельных компонентов, а также проводить анализ многокомпонентных систем, составляющие которых могут быть представлены простыми геометрическими телами, учитывая при этом их полидисперсность и эффекты межчастичной интерференции.

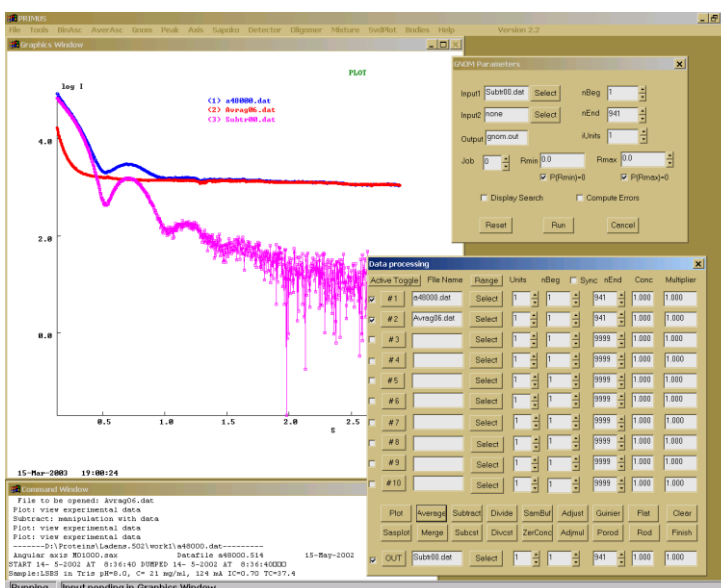


Рис. 1.8. Графический интерфейс программного блока PRIMUS.

Поскольку от результатов первичной обработки экспериментальных данных малоуглового рассеяния во многом зависит качество дальнейшего структурного анализа, особое внимание в программе PRIMUS уделяется визуальному контролю за производимыми манипуляциями с помощью графического интерфейса (Рис. 1.8). Например, визуальный контроль особенно важен при

вычитании фона, так как неточное или неправильное вычитание приводит к серьезному искажению кривых рассеяния от образца и/или к появлению множества отрицательных значений, что значительно усложняет структурный анализ, а в ряде случаев и не допускает его. Встроенная в PRIMUS программа SASPLOT [21] позволяет оценить качество разностных кривых рассеяния благодаря возможности детальной визуализации их отдельных участков. Определение геометрических и весовых характеристик и ряда других модельных параметров также требует тщательного визуального контроля, и хотя в настоящее время первичную обработку данных малоуглового рассеяния можно проводить в полностью автоматическом режиме [21], в случае исследования систем, обладающих полиморфизмом и полидисперсностью эту процедуру следует выполнять вручную, а графический интерфейс комплекса PRIMUS предоставляет возможность оценить качество выполняемых манипуляций.

1.4.2. Методы восстановления надатомной структуры по данным МУР

Возможности восстановления структуры низкого разрешения по данным МУРР были проанализированы Х. Штурманом еще в 1970 году [22]. Им был введен в употребление математический аппарат сферических гармоник, который лежит в основе современных методов решения обратной задачи рассеяния [23].

Основным достоинством сферических гармоник является то, что сферическое усреднение дифракционной картины существенно упрощается при использовании мультипольного разложения. Действительно, рассмотрим рассеяние отдельно взятой частицей, состоящей из N атомов. Для атомных координат $\mathbf{r}_k = (r_k, \omega_k) = (r_k, \theta_k, \varphi_k)$, $k = 1, 2, \dots, N$ и соответствующих атомных форм-факторов $f_k(s)$, трехмерная амплитуда рассеяния есть:

$$A(\mathbf{s}) = \sum_{k=1}^N f_k(s) \exp(i\mathbf{s}\mathbf{r}_k) \quad (1.10)$$

Функцию $\exp(i\mathbf{sr})$ можно представить в виде [24]:

$$\exp(i\mathbf{sr}) = 4\pi \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l i^l j_l(sr) Y_{lm}^*(\omega) Y_{lm}(\Omega) \quad (1.11)$$

где $j_l(sr)$ - сферические функции Бесселя, а $Y_{lm}(\Omega)$ - сферические гармоники.

Таким образом, амплитуда рассеяния записывается в виде

$$A(\mathbf{s}) = \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l A_{lm}(s) Y_{lm}(\Omega) \quad (1.12)$$

где функции $A_{lm}(s)$ называют парциальными амплитудами:

$$A_{lm}(s) = 4\pi i^l \sum_{k=1}^N f_k(s) j_l(sr_k) Y_{lm}^*(\omega_k) \quad (1.13)$$

При возведении (13) в квадрат и сферическом усреднении по Ω , благодаря ортогональным свойствам сферических гармоник все перекрестные члены исчезают, что приводит к простому выражению для интенсивности малоуглового рассеяния:

$$I(s) = \sum_{l=0}^L \sum_{m=-l}^l |A_{lm}(s)|^2 \quad (1.14)$$

где величина обрыва ряда L определяет разрешение представления структуры частицы.

Использование этого математического аппарата позволило создать ряд высокоэффективных алгоритмов и программ моделирования с заданным разрешением формы и строения наночастиц в монодисперсных системах [21].

1.4.2.1. *Ab initio* протокол восстановления формы частиц

В конце 90-х гг. был разработан метод *ab initio* восстановления формы с использованием модели конечных объемных элементов [25]. Поиск трехмерной формы частицы осуществляется здесь моделированием отжига, или так

называемого генетического алгоритма, который в целом представляет собой эвристический метод решения задачи глобальной оптимизации. Алгоритм, основанный на поиске решения методом моделирования отжига, оказался исключительно эффективным именно благодаря использованию аппарата сферических гармоник, описанных выше.

Основная идея моделирования конечными элементами, впервые предложенного в [26], заключается в следующем. Область поиска, (например, сфера с диаметром, равным максимальному размеру частицы D_{max}) заполняется N ($\sim 10^3$) плотноупакованными шариками (виртуальными атомами) радиуса $r_0 \ll D_{max}$. Каждому шарiku приписывается индекс X_j , обозначающий к какой фазе принадлежит данный объемный элемент ($X_j=0$ означает растворитель, $X_j=1$ – частица). При фиксированных положениях шариков форма и структура модели конечных объемных элементов полностью описывается конфигурационным вектором X , содержащим $N \approx (D/r_0)^3$ компонент. В *ab initio* методе, предложенном в [25], техника моделирования отжига заключается в вычислении интенсивности рассеяния от произвольной стартовой конфигурации виртуальных атомов, а затем в процессе отжига (отбрасывания тех или иных виртуальных атомов) теоретическая интенсивность рассеяния рассчитывается от случайных модификаций этой конфигурации с тем, чтобы в результате минимизировать невязку χ^2 :

$$\chi^2 = \frac{1}{N-1} \sum_{j=1}^N \left[\frac{I(s_j) - I_{exp}(s_j)}{\sigma(s_j)} \right]^2, \quad (1.15)$$

где $I_{exp}(s)$ экспериментальная интенсивность, определенная в N точках $s_j, j=1, \dots, N$, и $\sigma(s_j)$ соответствующие стандартные отклонения.

Для получения структурных моделей, отвечающих надатомному разрешению, на искомую модель накладываются условия связности и компактности. Поэтому целевая функция, минимизируемая в процессе

восстановления структуры имеет вид: $f(X) = \chi^2 + \alpha P(X)$, где $P(X)$ – штраф за некомпактность модели ($\alpha > 0$ – его вес, задаваемый пользователем).

Такой подход *ab initio* моделирования реализован в ряде программ восстановления формы рассеивающего объекта по данным МУРР: DAMMIN, DAMMIF, GASBOR, MONSA и другие [25, 27-29]. При этом, если программы DAMMIN [25] и DAMMIF [27] можно применять для любых монодисперсных образцов, то GASBOR была разработана для восстановления формы биологических объектов (белков) – виртуальные атомы в этой программе формируют белково-подобную цепь, свернутую так, чтобы рассеяние от полученной структуры соответствовало рассеянию от исследуемой белковой макромолекулы в растворе с разрешением порядка 0.5 нм [28]. Расширенная версия программы DAMMIN [25] программа MONSA используется для восстановления структуры многофазных систем, например, для исследования комплексов белков с нуклеиновыми кислотами [29].

1.4.2.2. Проблема неоднозначности решения

Структурные модели, получаемые по одному и тому же набору данных малоуглового рассеяния могут отличаться друг от друга. Это обусловлено неоднозначностью решения и/или его нестабильностью. В общем случае однозначное восстановление структуры трехмерного объекта по одномерной кривой малоуглового рассеяния невозможно. Теоретически существует множество разных структур, не приводимых друг к другу операциями симметрии, и имеющих одинаковые функции распределений по расстояниям, что соответствует одинаковым модельным кривым рассеяния. Неоднозначность интерпретации данных МУРР может быть, однако, уменьшена введением ограничений на искомую структуру, например, условием симметричности частицы или ее однородности. Кроме того, при *ab initio* моделировании неоднозначность во

многом компенсируется тем, что при многократном восстановлении структуры рассеивающего объекта найденные модели имеют один и тот же набор инвариантов, являются однородными и, отличаясь в деталях, сохраняют общую форму частиц. Поэтому основной идеей является определение общих черт в серии независимых восстановлений для получения пространственной структурной модели низкого разрешения, т.е. с разрешением 0.5 - 2 нм.

Для оценки устойчивости решений и нахождения наиболее вероятной модели разработан ряд программ. Программа SUPCOMB [30] позволяет производить автоматическое совмещение объектов, минимизируя степень различия между двумя моделями, представленными наборами точек (центрами шариков или узлами сетки, описывающей форму частиц). Критерием различия является нормализованное пространственное отклонение (NSD), рассчитываемое следующим образом: от каждой точки в первой модели определяются расстояния до каждой точки во второй модели и находятся их минимальные значения. Затем та же процедура выполняется для каждой точки второй модели относительно первой и все полученные величины суммируются и нормируются на средние расстояния между соседними точками в каждой модели. Для похожих структур NSD принимает значения меньше единицы. Программа DAMAVER [31] использует SUPCOMB для оптимального перекрестного совмещения нескольких (обычно не менее 10) независимо рассчитанных по одному и тому же набору данных моделей, после чего проводит их суммирование, подсчитывая число попаданий структур в соответствующие ячейки области поиска. Все полученные заселенные ячейки образуют структуру, которая представляет область разброса решений, из которой выделяется часть, представленная ячейками с наибольшими числами попаданий, и имеющую объем, соответствующий инварианту Порода (1.4). Полученная структура, представленная системой виртуальных атомов, уточняется в процессе нового поиска, осуществляемого внутри области разброса.

Анализ неоднозначности задачи по восстановлению формы частиц, описываемых геометрическими телами с различной анизометрией, был проведен в [31]. Форма частиц восстанавливалась по теоретическим кривым рассеяния от этих частиц. Эти теоретические кривые были использованы в качестве экспериментальных. Оказалось, что наименьший разброс имеют решения для глобулярных и вытянутых частиц, тогда как однозначное восстановление плоских структур с отношением диаметр/толщина более 5 невозможно без привлечения дополнительной информации (например, учета элементов симметрии формы). Использование аналитических выражений для специальных формфакторов, разработка которых продолжается до настоящего времени [32] также позволяет повысить устойчивость решения.

1.4.2.3. Метод молекулярной тектоники и гибридные методы

В тех случаях, когда рассеивающие частицы представляют собой макромолекулярные комплексы, чрезвычайно важным подходом к интерпретации данных МУР является моделирование жесткими телами, или метод молекулярной тектоники. Часто сложный биологический комплекс не может быть закристаллизован и расположение субъединиц в нем остается неизвестным, но удается закристаллизовать и определить структуру отдельных составляющих комплекса с атомным разрешением. Тогда взаимное расположение субъединиц в комплексе можно получить методом молекулярной тектоники из данных малоуглового рассеяния. То есть метод используется в том случае, когда известны структуры частиц, составляющих комплекс. Кроме того, этим методом можно анализировать внутреннюю структурную гибкость и подвижность, присущую субъединицам в комплексе или доменам в границах одной макромолекулы.

Идея моделирования методом молекулярной тектоники (жесткими телами) можно представить на примере бинарного комплекса, состоящего из субъединиц А и В, атомная структура которых известна, но неизвестна структура комплекса в

целом. Амплитуды рассеяния этих субъединиц $A(s)$ и $B(s)$ могут быть рассчитаны предварительно, например, с помощью программы CRY SOL [33]. Конфигурация комплекса может быть построена фиксацией субъединицы А и произвольным относительно нее движением (поворотом и сдвигом) субъединицы В. При этом вращение будет описываться эйлеровскими углами α , β и γ [34], а сдвиг вектором $\mathbf{u} = (u_x, u_y, u_z)$. В целом весь процесс характеризуется шестью параметрами (Рис. 1.9).

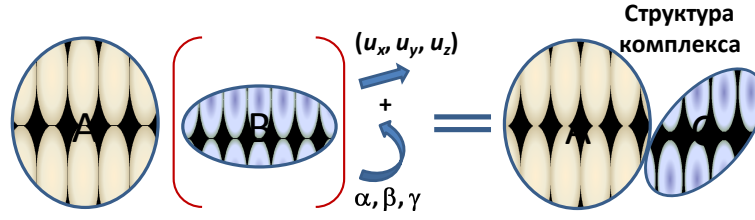


Рис. 1.9. Принцип метода моделирования жесткими телами, показанный для бинарного комплекса, состоящего из тел А и В и описываемого тремя параметрами вращения и тремя трансляционными параметрами.

Если обозначить амплитуду рассеяния перемещаемой в пространстве единицы (единицы В) как $C(s)$, то интенсивность рассеяния от комплекса может быть выражена [23] следующим образом:

$$I(s) = I_A(s) + I_B(s) + 2 \left\langle A(s) C^*(s) \right\rangle_{\Omega} \quad (1.16)$$

Используя разложение (1.10 – 1.14) и учитывая ортогональные свойства сферических гармоник, уравнение (1.16) можно представить следующим образом:

$$I(s) = 2\pi^2 \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l \left\{ |A_{lm}(s)|^2 + |B_{lm}(s)|^2 + 2 \operatorname{Re} [A_{lm}(s) C_{lm}^*(s)] \right\} \quad (1.17)$$

Существенно, что парциальные функции $C_{lm}(s)$ вращения и перемещения второй субъединицы могут быть выражены аналитически в виде

$$C_{lm}(s) = \sum_{k=-l}^l D_{mk}^l(\alpha, \beta, \gamma) C_{lk}^0(s, u) \quad (1.18)$$

где $D_{mk}^l(\alpha, \beta, \gamma)$ обозначают элементы матрицы конечных вращений [23,34 - 36].

Рассмотренная процедура легко обобщается на случай произвольного числа жестких тел K и в общем случае может быть описана с помощью $6(K - 1)$ параметров.

Таким образом, моделирование жесткими телами пространственной структуры комплексов заключается в моделировании перемещения и вращения отдельных элементов структуры и получения минимальной невязки χ (1.15) между модельной и экспериментальными кривыми, что осуществляется с помощью программы SASREF [36].

В целом, метод молекулярной тектоники в настоящее время стал одним из основных элементов малоуглового анализа при исследовании макромолекулярных комплексов и макромолекулярных машин (см., например, [37-39]), а его применение для небιологических объектов впервые было описано нами в 2007 году [A4].

Совместное использование разных подходов, например, сочетание молекулярной тектоники с кристаллографией или другими способами исследования структуры, образует большой кластер методов, которые называются гибридными. Они позволяют расширить возможности малоуглового рассеяния и проводить анализ возможных отличий между доменной структурой белков в кристалле и растворе, предсказывать доменное строение белковых комплексов в нативном состоянии и многое другое.

Привлечение дополнительной информации об объекте, полученной другими структурными методами (кристаллография, электронная микроскопия, ядерный магнитный резонанс и другие) всегда широко использовалось при анализе данных МУРР, в том числе в виде ограничений на возможную модель, чтобы уменьшить

неоднозначность интерпретации малоугловых данных. Однако, альтернативные методы исследования структуры как правило рассматривают образец в особом (высушенном, замороженном, кристаллизованном и т.д.) состоянии. Поэтому, например, строение нативных белков в растворе может отличаться от их строения в кристалле, из-за чего часто наблюдаются отклонения между экспериментальными данными малоуглового рассеяния растворами белков и теоретическими кривыми, рассчитанными из их кристаллографических моделей. Отклонение теоретических кривых рассеяния от экспериментальных может быть проверено прямым сравнением невязки χ (1.15) расчетного рассеяния кристаллографическими моделями (что можно сделать, например, программой CRY SOL). Это дает возможность анализировать возможные структурные отличия кристалл-раствор. Кроме того, появляется возможность интерпретировать кривые рассеяния биополимеров и их комплексов, кристаллическая структура субъединиц в которых известна, в терминах движения отдельных структурных доменов. В целом же использование кристаллографических данных при восстановлении структуры позволяет в малоугловом рассеянии оперировать моделями высокого разрешения, значительно повышая уровень разрешения и возможности МУРР [40, 41].

Одним из наиболее важных подходов к изучению макромолекулярных комплексов гибридными методами есть сочетание *ab initio* протокола и молекулярной тектоники. Кроме того, эффективность такого подхода существенно повышается, если использовать дополнительную информацию, полученную другими структурными, вычислительными и биохимическими методами [42, 43]

В случае, когда из-за массивности, развернутости или гибкости белковых цепей кристаллическая структура может быть получена только частично и в ней отсутствуют N- или/и C-концевые аминокислоты, линкеры, петли, то используют гибридные методы восстановления цельной структуры, сочетающие *ab initio*

протокол с моделированием жесткими телами. Этот подход реализован в таких программах как BUNCH [36], CORAL [21], EOM [44] и некоторых других, объединенных в программном комплексе ATSAS [21]. Программы используют структуры высокого разрешения, теоретическая интенсивность которых рассчитывается программой CRY SOL [33], и достраивают недостающие фрагменты макромолекул, используя *ab initio* процедуру. При этом недостающие аминокислоты, как и в программе GASBOR [28] моделируются с помощью виртуальных атомов, свернутых в белково-подобную цепь так, чтобы рассеяние от цельной структуры соответствовало экспериментальному рассеянию, минимизируя невязку χ (1.15). Среди этих программ следует особо упомянуть EOM (Ensemble Optimisation Method), с помощью которого проводится оптимизации ансамбля частиц (доменов, субъединиц) и, помимо *ab initio* восстановления цельной формы, анализируется гибкость биологических макромолекул, их развернутость и подвижность отдельных частей относительно друг друга, то есть этот метод, реализованный в программе EOM, представляет собой инструмент для описания распределения по форме и по размеру частично или полностью развернутых макромолекул в растворе [44, 45].

Использование аппарата сферических гармоник существенно ускоряет вычисления и позволяет использовать различные стратегии при моделировании. Так, были разработаны интерактивные программы для моделирования жесткими телами, в некотором смысле аналогичные интерактивному методу графической интерпретации карт электронной плотности в белковой кристаллографии (например, [46]). Используемая в малоугловом рассеянии программа MASSHA [47] имеет трехмерный дисплей и возможность работы как с моделями высокого, так и низкого разрешения. Встроенные в программу вычислительные модули позволяют быстро рассчитывать рассеяние от комплексов, максимально приближая его к экспериментальным данным. В чисто интерактивной моде можно

двигать и вращать элементы комплекса так, чтобы вводимые изменения наилучшим образом соответствовали кривой рассеяния. Кроме того, в программе MASSHA доступен режим улучшения результатов, когда программа выполняет автоматический поиск, слегка изменяя уже найденную конфигурацию элементов комплекса для минимизации невязки χ (1.15).

За последнее время были разработаны разные подходы к моделированию мульти-доменных или мульти-субъединичных белков по данным малоуглового рассеяния [36, 48, 49], эффективность которых была продемонстрирована в ряде исследований сложных биологических систем [50 - 53]. В целом, новые методы анализа и интерпретации данных малоуглового рассеяния принципиально изменили роль МУРР в структурных исследованиях биологических макромолекул в растворе. Более того, эти методы оказались применимы и для анализа небиологических наноструктурированных систем.

1.4.3. Полидисперсные и взаимодействующие системы

При отклонении от монодисперсности, как уже говорилось выше, существенно уменьшаются возможности структурной интерпретации соответствующей дифракционной картины. При этом пространственное разрешение для таких объектов также резко снижается и во многих случаях при исследовании полидисперсных систем можно ограничиться только областью достаточно малых векторов рассеяния, то есть центральной частью дифракционной картины. Собственно так и возник метод малоуглового рассеяния [1 - 3].

Наиболее важными случаями полидисперсных систем являются системы частиц, отличающихся по размерам, форме или конформации (например, полимеры или гибкие монодисперсные макромолекулы и белки) и системы взаимодействующих частиц (например, в сильно концентрированных растворах

или заряженные частицы). Для таких образцов очень трудно получить структурную модель индивидуальной частицы. Существует, однако, несколько специальных подходов для исследования таких систем методом малоуглового рассеяния.

1.4.3.1. Анализ полидисперсности

Самый простой тип полидисперсности имеют системы, в которых частицы имеют схожие формы, но отличаются только размерами. Рассеяние частицей с радиусом R может быть записано как $(\Delta \rho)^2 V^2(R) i_0(sR)$, где $\Delta \rho$ - контраст для данной частицы, $V(R)$ - ее объем, $i_0(sR)$ - форм-фактор частицы, т.е. нормированная интенсивность рассеяния частицей ($i_0(0)=1$). В общем случае размеры частиц не приобретают дискретные значения, а варьируются непрерывно и могут быть описаны объемной функцией распределения $D_V(R) = N(R)V(R)$, где $N(R)$ – число частиц с характеристическим размером R . Как уже говорилось выше, интенсивность рассеяния в этом случае определяется интегралом (1.8):

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

где R_{min} и R_{max} - минимальный и максимальный размер частиц, соответственно. Тогда объемную функцию распределения по размерам $D_V(R)$ можно определить с помощью косвенного фурье-преобразования [5, 6] и программы GNOM [19].

Чаще всего в качестве форм-фактора частицы используют сферу с радиусом R . В этом случае ее объем $V(R)$ равен $4\pi R^3/3$, а форм-фактор $i_0(x) = 3[\sin(x) - x\cos(x)]/x^3$, где $x = sR$.

Полидисперсность по размеру обычно приводит к драматическим изменениям профиля кривой малоуглового рассеяния по сравнению с монодисперсными системами, как это хорошо видно из Рис. 1.10, где

представлено теоретическое рассеяние от сферы с радиусом 5 нм и рассеяние полидисперсной системой сфер с тем же самым средним радиусом.

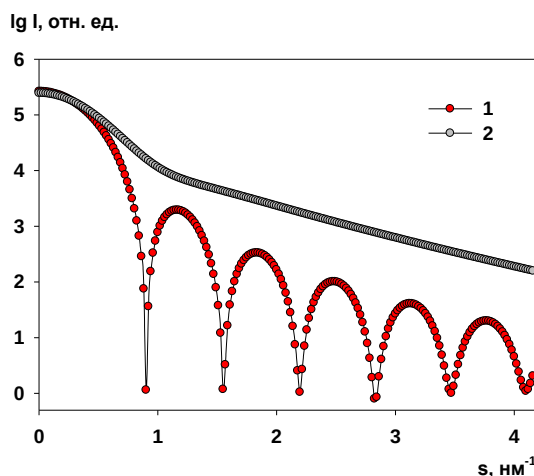


Рис. 1.10. Сравнение рассеяния сферической частицей с радиусом 5 нм (1) с рассеянием полидисперсной системой сферических частиц с тем же средним размером (2).

В случае полидисперсных систем структурные параметры, определяемые по кривым малоуглового рассеяния, имеют усредненный характер. Так, радиус инерции R_g полидисперсной системы сплошных сфер является z -усредненной величиной, т.е. $R_g = (3\langle R^2 \rangle_z / 5)^{1/2}$, и определяется вкладом в малоугловое рассеяние всех присутствующих в образце размеров в соответствии с их объемной долей [4, 5]:

$$\langle R_g^2 \rangle_z = \int_0^\infty R_g^2(R) D_V(R) R^6 dR / \int_0^\infty D_V(R) R^6 dR = \int_0^\infty R_g^2(R) D_V(R) R^6 dR / \langle R^6 \rangle \quad (1.19)$$

В более сложном случае полидисперсная система содержит несколько различных типов невзаимодействующих частиц с произвольной структурой. Интенсивность рассеяния от такой системы может выражается в виде линейной комбинации (1.7):

$$I(s) = \sum_{k=1}^K \nu_k I_k(s) ,$$

где $v_k > 0$ и $I_k(s)$ – объемная доля и интенсивность рассеяния от k -го типа частиц (компонент), соответственно, а K - число компонент. В общем случае нельзя реконструировать структуру отдельных компонент только по данным малоуглового рассеяния без помощи дополнительной информации, но если число компонент и их кривые рассеяния известны, то можно определить объем фракций v_k в линейной комбинации (1.7) методом неотрицательных линейных наименьших квадратов [7], который реализован в программе MIXTURE [20].

Программа OLIGOMER [54] для расчета объемных фракций составляющих смеси различных частиц при условии, что рассеяние каждой компонентой известно, также использует алгоритм неотрицательных линейных наименьших квадратов [7, 55], чтобы минимизировать расхождение между предсказанной кривой рассеяния от смеси и экспериментальными малоугловыми данными. Для работы с программой OLIGOMER требуется файл, содержащий интенсивности каждой индивидуальной компоненты смеси, то есть форм-факторы каждой компоненты. Поскольку подготовка такого файла вручную может быть достаточно трудоемкой процедурой, для создания таких вспомогательных файлов используется специальная программа FFMAKER [21]. С помощью нее можно комбинировать интенсивности рассеяния, полученные из разных источников: теоретические кривые рассеяния, рассчитанные программой CRY SOL [33] от структур высокого разрешения, экспериментальные кривые рассеяния и сглаженные, с введенными коллимационными поправками кривые рассеяния, полученные с помощью программы GNOM [19].

1.4.3.2. Структурный анализ частично упорядоченных полимерных образцов

Как уже говорилось выше, исследование структуры полимеров методом малоуглового рассеяния очень трудная задача из-за ограничений, налагаемых

полидисперсностью и/или полиморфностью, из-за чего во многих случаях в полимерных образцах приходится ограничиваться только вычислением объемного распределения по размерам структурных неоднородностей. Но если полимер в той или иной степени структурирован, задача становится значительно более интересной, а решение более информативным. Упорядоченность образца отражается на кривой малоуглового рассеяния появлением брэгговских пиков. Поскольку рассеяние Брэгга характерно для кристаллов, структурированные области называются квазикристаллическими. По взаимному расположению пиков на кривой рассеяния можно судить о структуре квазикристаллических зон, а если регистрируется достаточное количество пиков, то можно определить профиль электронной плотности в выделенном направлении и, следовательно, получить ценную информацию о внутреннем строении образца.

Характеристики внутренней структуры упорядоченных или частично упорядоченных полимерных образцов вычисляются с помощью интерактивной программы PEAK [20] путем подгонки гауссовых профилей к выбранным брегговским пикам на кривых рассеяния. Средний размер кристаллитов L и степень разупорядоченности в системе $\Delta/\bar{d}$ определяются тогда в соответствии с формулами [56]:

$$L = \frac{\lambda}{\beta_s \cos \theta} \quad (1.20)$$

$$\Delta/\bar{d} = \frac{1}{\pi} \cdot \sqrt{\frac{\beta_s \cdot \bar{d}}{\lambda}} \quad , \quad (1.21)$$

где β_s полуширина брегговского пика (в радианах) при угле рассеяния 2θ , $\bar{d} = 2\pi/s_{\max}$ - характеристический размер упорядоченных областей, соответствующий положению брегговского пика $s_{\max}$, а Δ - среднеквадратичное отклонение расстояния между двумя ближайшими периодическими мотивами структуры.

Таким образом, наличие системы брегговских пиков на кривой малоуглового рассеяния свидетельствует об определенном упорядочении в образце и об образовании квазикристаллических участков, размеры L которых определяются из соотношения (1.20) по первому брегговскому максимуму, а тип упорядочения, или что то же самое - тип кристаллической упаковки в упорядоченных регионах, по взаимному расположению брегговских максимумов с использованием индексов Миллера.

Самым простым типом квазикристаллической упаковки в полидисперсных системах является ламеллярная структура. Она характеризуется эквидистантной последовательностью брегговских рефлексов: $s_n = 2\pi n/d_1$, $n = 1, 2, 3, \dots$, где $d_1 = 2\pi/s_1$ – период (межплоскостное расстояние) упорядоченных мотивов, которых определяется из положения первого пика s_1 на кривой рассеяния.

Ламеллярную структуру имеет широкий класс веществ – кристаллические полимеры, мембраны, многие жидкие кристаллы и другие. Подробный структурный анализ таких соединений зависит от степени упорядочения ламелл и наиболее полную информацию можно получить в случае высокой степени ориентации ламеллярных слоев относительно выбранного направления. Так, для этого типа упаковки, т.е. для мультислойных структур, при достаточном количестве (не меньше трех) брегговских рефлексов можно определить centrosymmetric профиль электронной плотности в направлении, перпендикулярном плоскости ламеллы. Профиль электронной плотности может быть вычислен с помощью одномерного Фурье-преобразования:

$$\rho(r) = \sum_{l=1}^N s_l A(s, l) = \sum_{l=1}^N s_l \sin \pi s r [\pm \sqrt{S(l)}] \quad , \quad (1.22)$$

где N число пиков, а s_l и $S(l)$ – положение и площадь 1-го брегговского пика, соответственно. Проблема, однако, состоит в определении знаков

соответствующих структурных амплитуд $A(s,l)$. Чаще всего рассматриваются все комбинации знаков амплитуды рассеяния $A(s,l)$ и наиболее вероятный порядок их чередования выбирается с помощью визуальной оценки полученных профилей электронной плотности. Для нивелирования эффектов обрыва, полученные профили обычно подвергаются низкочастотной фильтрации с периодом $T=2\pi/s_N$.

Тем не менее при исследовании даже полностью ориентированных кристаллических полимеров решить задачу восстановления профиля электронной плотности $p(r)$ в пределах периода ламеллярной системы не всегда удается, поскольку эта система не является строго периодической.

Двумерная гексагональная фаза определяется последовательностью брегговских рефлексов: $s_n = 2\pi(2/\sqrt{3})\sqrt{n}/d_1$, $n = (h^2 + k^2 + hk)$, где h , k – целочисленные индексы Миллера, а латеральное расстояние между упакованными элементами рассчитывается по формуле $d_{hex} = 2 d_1/\sqrt{3}$.

Для кубической фазы максимумы Брегга располагаются в соответствии с последовательностью: $s_n = 2\pi\sqrt{n}/d_1$, $n = (h^2 + k^2 + l^2)$, где h , k , l – целые числа. Периодичность кубической системы определяется либо как $d_c = d_1=2\pi/s_1$ (если для первого брегговского пика индексы Миллера $hkl=100$), либо $d_c = d_1 \times \sqrt{2}$ (первый рефлекс определяется как $hkl=110$).

Перечисленные выше типы квазикристаллической упаковки могут быть определены по взаимному расположению структурных максимумов на кривой малоуглового рассеяния при наличии достаточного количества брегговских пиков. Однако, существует множество других типов упаковки в квазикристаллических зонах полимерных систем, в том числе и сложных, комбинированных форм, определение которых всегда осложняется, во-первых, недостаточным количеством квазикристаллических рефлексов на кривых малоуглового рассеяния и, во-вторых, их размытостью, характерной для полимерных образцов.

1.4.3.3. Структурный анализ систем взаимодействующих частиц

К особому типу систем следует отнести системы взаимодействующих частиц, где в дифракционной картине помимо рассеяния от индивидуальных макромолекул присутствует рассеяние от ансамбля взаимодействующих рассеивающих объектов. К такой картине рассеяния могут приводить, например, концентрационные или зарядовые эффекты. В любом случае раствор становится неоднородным, что отражается соответствующим образом на профиле МУРР. Так например, при возрастании концентрации усиливается межчастичная интерференция, что сказывается прежде всего на рассеянии в самых малых углах. На Рис. 1.11 показан пример эффекта межчастичных взаимодействий на кривую малоуглового рассеяния, рассчитанный нами для системы сплошных сфер.

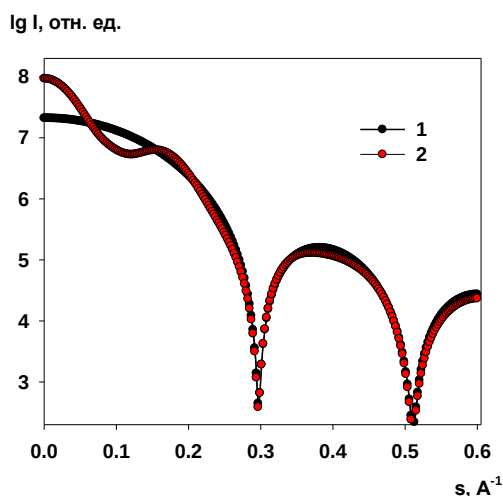


Рис. 1.11. Сравнение кривых малоуглового рассеяния для изолированной сферы с радиусом 30 Å (1) и для системы взаимодействующих сфер того же размера (2).

Межчастичное взаимодействие приводит к модуляции профиля рассеяния от изолированных частиц (Рис. 1.11) за счет структурного фактора $S(s, c)$, который отражает их взаимное расположение. Структурный фактор может быть определен из отношения интенсивности рассеяния I_{exp} при концентрации c к интенсивности при нулевой концентрации c_0 , которая может быть получена при экстраполяции к

бесконечному разведению или измерена при существенно низкой концентрации, когда взаимодействие между частицами отсутствует [57 - 61]:

$$S(s, c) = c_0 I_{\text{exp}}(s, c) / c I(s, c_0) \quad (1.23)$$

Эффективный структурный фактор $S(s, c)$ равен ≈ 1 для разбавленных растворов невзаимодействующих частиц. Для взаимодействующих частиц характерен пик функции $S(s)$ в самых малых углах и позиция этого пика s_m определяет среднее расстояние между соседними взаимодействующими объектами $d \approx 2\pi/s_m$.

1.4.3.4. Восстановление формы рассеивающих объектов в полидисперсных системах

В общем случае восстановление формы низкого разрешения для индивидуальных рассеивающих объектов в составе полидисперсных систем невозможно из-за потери структурной информации не только за счет сферического усреднения по всем ориентациям, но и из-за влияния полидисперсности (Рис. 1.10). Однако в ряде специфических случаев возможно *ab initio* восстановление формы и моделирование жесткими телами даже для полидисперсных систем. Например, расширенный вариант программы GASBOR [28] – программа GASBORMX позволяет построить *ab initio* модель мультимерных структур, учитывая присутствие в растворе свободных мономеров. В процессе поиска адекватной модели рассчитывается рассеяние от мультимера и от мономера и вычисляется рассеяние от их смеси как линейная комбинация компонент в соответствии с уравнением (1.7):

$$I(s) = \sum_{k=1}^K \nu_k I_k(s)$$

где $\nu_k > 0$ и $I_k(s)$ – объемная доля и интенсивность рассеяния от k -го типа частиц (компонент), соответственно, а K - число компонентов. Объемные фракции

компонент определяются тогда либо методом неотрицательных линейных наименьших квадратов [7], либо, если они известны *a priori*, просто фиксируются. Похожая идея используется в расширенной версии программы SASREF [36] - в программе SASREFMX. Указанные программы можно найти в последней версии программного пакета ATSAS [21]. Кроме того, с помощью SASREFMX можно выделить в качестве отдельных компонент диссоциированные субъединицы, например, в том случае, когда четвертичный комплекс частично диссоциирует на димеры и свободную третью компоненту. Тогда объемные фракции всех присутствующих в растворе компонент определяется методом неотрицательных линейных наименьших квадратов аналогично процедуре, используемой для таких смесей при *ab initio* восстановлении в программе GASBORMX.

Следует однако отметить, что введение полидисперсности при восстановлении формы рассеивающих объектов неизбежно приводит к увеличению неоднозначности полученных решений. В Главе 3 данной работы с помощью компьютерного моделирования нами будут рассмотрены условия, при которых такое моделирование возможно и дает надежный результат восстановления формы.

1.5. Совместное использование малоуглового рассеяния и других структурных методов

В силу принципиальной неоднозначности решения обратной задачи в малоугловом рассеянии для адекватной интерпретации данных МУРР необходим комплексный, мультидисциплинарный подход и привлечение данных независимых методов. Для биологических исследований это прежде всего комплементарные по отношению к МУРР методы молекулярной кристаллографии (МК) и ядерного магнитного резонанса (ЯМР): для мульти-субъединичных комплексов, которые трудно или невозможно кристаллизовать, структуры атомного разрешения и данные ЯМР отдельных субъединиц комплексов служат

строительными элементами для моделирования жесткими телами по данным малоуглового рассеяния [37, 62-66].

Следует подчеркнуть, что наличие структур атомного разрешения не только существенно ускоряет структурный анализ в малоугловом рассеянии, но и способствует разработке новых компьютерных программ МУРР, где эти структуры являются стартовым моментом в моделировании (см. программный комплекс ATSAS [21]). Так, если еще совсем недавно моделирование сложных четвертичных структур и макромолекулярных ассоциатов базировалось в основном на электронной микроскопии (ЭМ) [67, 68], то в последнее время для биологических макромолекул структурный анализ чаще всего начинается с моделей атомного разрешения.

Тем не менее, очень важными методами структурной диагностики были и остаются методы современной микроскопии – электронной (ЭМ) и атомно-силовой (АСМ). Они, так же как и малоугловое рассеяние, позволяют визуализировать форму исследуемых образцов. В сочетании с МУРР эти методы особенно полезны при исследовании полимерных систем и сложных нанокомпозитов, для которых структуры атомного разрешения недоступны. В настоящее время большинство исследований полимерных систем с помощью малоуглового рассеяния дополняются данными ЭМ и АСМ (см. Главу 4).

Аналитическое ультрацентрифугирование (АУЦ) представляет собой еще один метод, сочетание которого с малоугловым рассеянием дает возможность построить адекватные структурные модели. Во-первых, с помощью АУЦ определяется молекулярная масса, размер и форма исследуемых образцов, что позволяет сравнить эти характеристики с теми, что получены с помощью МУРР. Во-вторых, аналитическое ультрацентрифугирование выявляет наличие агрегатов и определяет степень полидисперсности, что особенно ценно для биологических образцов и позволяет оценить их чистоту и монодисперсность еще до применения малоуглового рассеяния, определяя тем самым дальнейшую стратегию

исследований МУРР. В целом, структурные данные, полученные АУЦ, комплементарны данным малоуглового рассеяния и позволяют резко снизить проблему неоднозначности.

Интересно, что метод моделирования структуры с помощью виртуальных атомов, осуществленный в малоугловом рассеянии (программы DAMMIN, DAMMIF, GASBOR и др.), используется также в аналитическом ультрацентрифугировании: поскольку коэффициент седиментации и фрикционный коэффициент для сфер данного размера могут быть вычислены аналитически, то можно также рассчитать и гидродинамические параметры моделей, состоящих из совокупности таких сфер (виртуальных атомов). Эта идея впервые была предложена и реализована в программе HYDRO в 1994 году [69]. В настоящее время этот подход продолжает использоваться и развиваться (см. например, [70]). В целом, сейчас аналитическое ультрацентрифугирование широко применяется как в сочетании с МУРР, так и с другими современными методами исследования структуры вещества [38, 69 - 72].

Динамическое рассеяние света (ДРС), известное как квазиупругое светорассеяние или фотонная корреляционная спектроскопия, использует когерентное излучение лазера для исследования гидродинамического поведения макромолекул в растворе. С помощью ДРС определяется такая важная гидродинамическая характеристика образца как радиус Стокса или гидродинамический радиус, а также распределение частиц по размеру. То есть этот метод также комплементарен малоугловому рассеянию и часто используется вместе с ним в структурных исследованиях [38, 73].

Методы, о которых было кратко упомянуто выше, наиболее часто применяются в малоугловых исследованиях в качестве источника дополнительной, независимой информации при моделировании структуры широкого класса дисперсных образцов биологического и небиологического происхождения. Большинство из них было также использовано в наших

исследованиях, равно как и описанные выше компьютерные программы обработки и интерпретации данных малоуглового рентгеновского рассеяния. В качестве справочного материала ниже приведена краткая сводка этих программ:

Программы	Функции	Ссылки
ATSAS	Многофункциональный программный комплекс, включающий в себя все основные программы обработки и интерпретации данных МУРР	[21]
GNOM	Программа основана на косвенных методах фурье-преобразования с регуляризацией решения. Позволяет восстановить функцию парных расстояний $p(r)$ без экстраполяции экспериментальных данных к $s \rightarrow 0$ и $s \rightarrow \infty$. Используется для обработки данных МУРР для монодисперсных (глобулярных, вытянутых и сплюснутых частиц) и для расчета объемной функции распределения по размерам $D_V(R)$ полидисперсных систем.	[5, 6, 19]
PRIMUS	Программный блок, разработанный для первичной обработки экспериментальных данных МУРР. Программа снабжена графическим интерфейсом с вызовом отдельных вычислительных модулей для калибровки и нормализации данных, вычитания рассеяния фоном (растворителем, матрицей), сшивки кривых рассеяния, измеренных на разных угловых интервалах, концентрационного анализа, вычисления инвариантов с использованием графиков Гинье и Порода, анализа брегговских пиков, моделирования геометрическими телами, анализа смесей.	[20]
SASPLOTT	Вспомогательная программа программного блока PRIMUS. Используется также самостоятельно для графического отображения данных МУРР. Позволяет оценить качество кривых рассеяния благодаря возможности детальной визуализации их отдельных участков.	[21]

DAMMIN	В программе используется математический аппарат сферических гармоник для решения обратной задачи и <i>ab initio</i> восстановления формы с использованием модели конечных объемных элементов. Поиск трехмерной формы частицы осуществляется моделированием отжига с помощью генетического алгоритма, который представляет собой эвристический метод решения задачи глобальной оптимизации.	[23, 25, 26]
MONSA	Расширенная версия программы DAMMIN. Программа MONSA используется для восстановления структуры многофазных систем, например, для исследования комплексов белков с нуклеиновыми кислотами.	[29]
DAMMIF	В программе так же, как и в DAMMIN, используется математический аппарат сферических гармоник для решения обратной задачи и <i>ab initio</i> восстановления формы. Новый алгоритм позволяет восстанавливать форму в 25-40 раз быстрее, чем с помощью DAMMIN. Чтобы избежать пограничных эффектов, в отличие от DAMMIN в программе DAMMIF используется неограниченная область поиска.	[27]
GASBOR	Используется для <i>ab initio</i> восстановления формы биологических объектов (белков) – виртуальные атомы в этой программе формируют белково-подобную цепь, свернутую так, чтобы рассеяние от полученной структуры соответствовало рассеянию от исследуемой белковой макромолекулы в растворе с разрешением порядка 0.5 нм.	[28]
GASBORMX	Программа является расширенным вариантом программы GASBOR и позволяет построить <i>ab initio</i> модель мультимерных структур, учитывая присутствие в растворе свободных мономеров. В процессе поиска адекватной модели рассчитывается рассеяние от мультимера и от мономера и вычисляется рассеяние от их смеси как линейная комбинация компонент смеси.	[21, 28]
SASCOMB	Программа SUPCOMB позволяет производить автоматическое совмещение объектов, минимизируя степень различия между двумя моделями, представленными наборами точек (центрами шариков или узлами сетки, описывающей форму частиц). Критерием различия является нормализованное пространственное отклонение (NSD).	[30]

DAMAVER	Программа DAMAVER использует SUPCOMB для оптимального перекрестного совмещения нескольких (обычно не менее 10) независимо рассчитанных по одному и тому же набору данных моделей, после чего проводит их суммирование, подсчитывая число попаданий структур в соответствующие ячейки области поиска. Все полученные заселенные ячейки образуют структуру, которая представляет область разброса решений, из которой выделяется часть, представленная ячейками с наибольшими числами попаданий, и имеющую объем, соответствующий инварианту Порода. Полученная структура, представленная системой виртуальных атомов, уточняется в процессе нового поиска, осуществляемого внутри области разброса.	[31]
CRY SOL	Рассчитываются амплитуды рассеяния от известных структур высокого разрешения	[33]
SASREF	Используется метод молекулярной тектоники или моделирование жесткими телами пространственной структуры комплексов. Моделирование заключается в перемещения и вращения отдельных элементов структуры и получения минимальной невязки χ между модельной и экспериментальными кривыми.	[36]
SASREFMX	Программа является расширенным вариантом программы SASREF. С помощью SASREFMX можно выделить в качестве отдельных компонент диссоциированные субъединицы. Тогда объемные фракции всех присутствующих в растворе компонент определяется методом неотрицательных линейных наименьших квадратов аналогично процедуре, используемой для таких смесей при <i>ab initio</i> восстановлении в программе GASBORMX.	[21, 36]

BUNCH	Гибридный метод восстановления цельной структуры, сочетающий <i>ab initio</i> протокол с моделированием жесткими телами. Производит моделирование многодоменных белковых комплексов по нескольким наборам данных рассеяния от мутантных (неполных) структур высокого разрешения. Достаивают недостающие фрагменты макромолекул, используя <i>ab initio</i> процедуру. При этом недостающие аминокислоты, как и в программе GASBOR моделируются с помощью виртуальных атомов, свернутых в белково-подобную цепь так, чтобы рассеяние от цельной структуры соответствовало экспериментальному рассеянию, минимизируя невязку χ .	[36]
CORAL	Гибридный метод восстановления цельной структуры, сочетающий <i>ab initio</i> протокол с моделированием жесткими телами. В программе применены подходы, использованные в программах BUNCH и SASREF.	[21]
EOM	Гибридный метод восстановления цельной структуры, сочетающий <i>ab initio</i> протокол с моделированием жесткими телами. С помощью Ensemble Optimisation Method (EOM) проводится оптимизации ансамбля частиц (доменов, субъединиц) для наилучшего соответствия экспериментальным данным и, помимо <i>ab initio</i> восстановления цельной формы, анализируется гибкость биологических макромолекул, их развернутость и подвижность отдельных частей относительно друг друга. Программа описывает распределение по форме и по размеру частично или полностью развернутых макромолекул в растворе.	[44, 45]
MASSHA	3D графическая система для работы как с моделями высокого, так и низкого разрешения. Встроенные в программу вычислительные модули позволяют быстро рассчитывать рассеяние от комплексов, максимально приближая его к экспериментальным данным. В интерактивной моде можно двигать и вращать элементы комплекса так, чтобы вводимые изменения наилучшим образом соответствовали кривой рассеяния. Доступен также режим улучшения результатов, когда программа выполняет автоматический поиск, слегка изменяя уже найденную конфигурацию элементов комплекса для минимизации невязки χ .	[47]

MIXTURE	Производит анализ полидисперсности для многокомпонентных систем в случае, если число компонент смеси и их кривые рассеяния известны. Объем фракций определяется методом неотрицательных линейных наименьших квадратов.	[20]
OLIGOMER	Программа предназначена для расчета объемных фракций составляющих смеси различных частиц при условии, что рассеяние каждой компонентой известно. Используется алгоритм неотрицательных линейных наименьших квадратов, чтобы минимизировать расхождение между предсказанной кривой рассеяния от смеси и экспериментальными малоугловыми данными.	[7, 54, 55]
FFMAKER	Используется для работы с программой OLIGOMER для определения интенсивности рассеяния каждой индивидуальной компоненты смеси. С помощью программы можно комбинировать интенсивности рассеяния, полученные из разных источников: теоретические кривые рассеяния, рассчитанные программой CRYSol от структур высокого разрешения, экспериментальные кривые рассеяния и сглаженные, с введенными коллимационными поправками кривые рассеяния, полученные с помощью программы GNOM.	[21]
PEAK	Интерактивная программа PEAK используется для определения характеристик внутренней структуры упорядоченных или частично упорядоченных полимерных образцов путем подгонки теоретических гауссовых профилей к выбранным брегговским пикам на кривых рассеяния.	[20]
FRACTAL	Интерактивная программа FRACTAL вычисляет фрактальные размерности D_f . Программа позволяет выделять соответствующие области вектора рассеяния для вычисления коэффициентов степенной зависимости, описывающих интенсивность рассеяния в терминах фрактальных размерностей.	[21]

Глава 2

Надмолекулярные комплексы и принципы их формирования (литературные данные)

Поскольку одной из основных задач настоящей диссертационной работы является структурная диагностика современных наноразмерных композиционных материалов и биологических комплексов, целесообразным представляется дать краткий обзор достижений 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.

Надмолекулярные комплексы, природные или искусственно созданные, включают в себя компоненты с размерами меньше 100 нм хотя бы в одном измерении. По определению IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry, Международный союз теоретической и прикладной химии) такие соединения относятся к наносистемам. Совокупность методов для создания этих систем в настоящее время образуют обширную область нанотехнологий, с помощью которых создаются объекты с принципиально новыми, прогнозируемыми качествами (см., например, научно-технический портал <http://nano.su/portal/faces/public/info/>, портал Научно-образовательного центра по нанотехнологиям МГУ <http://www.nano.msu.ru/>).

Принято считать, что исторически концепция "нано" восходит к лекции Ричарда Фейнмана в Американском Физическом Сообществе 29 декабря 1959 года («There's Plenty of Room at the bottom»), в которой он обрисовал перспективы перехода физики, химии и инженерии на молекулярный и атомный уровень, где «сделано мало, но принципиально может быть сделано невероятно много». Р.Фейнман заявил, что «принципы физики не говорят о невозможности манипулирования веществом на уровне атомов» и таким образом обозначил

перспективы целенаправленного влияния на отдельные атомы с целью создания новых материалов с заданной структурой и свойствами.

Важно подчеркнуть, что приставка «нано» возникает не потому, что размеры объектов укладываются в нанометровый диапазон. Уменьшение частиц до нанометровых размеров приводит к проявлению в них особых размерных эффектов, причиной которых является рост относительной доли атомов на поверхности частиц, находящихся в иных условиях по сравнению с атомами внутри объемной фазы [74-76]. С энергетической точки зрения уменьшение размеров частицы приводит к возрастанию роли поверхностной энергии. Поэтому на интервале пространственной шкалы от 1 до 10^3 нм реализуются важнейшие химические и физические взаимодействия. Однако следует заметить, что эффект уменьшения размера частиц вещества был известен давно. Так например, французский химик Поль Сабатье, нобелевский лауреат 1912 года, обнаружил, что порошок железа гораздо более сильный катализатор, нежели само железо и показал, что чем тоньше порошок, тем выше его каталитические свойства [77]. Но только в настоящее время появилась реальная возможность манипулировать структурой вещества на атомном и молекулярном уровне.

Впервые термин «нанотехнология» в 1974 году употребил Норио Танигучи на конференции Британского Общества Точной Инженерии в докладе «Об основной концепции нанотехнологии» [78]. Н.Танигучи дал такое определение нанотехнологии: обработка, разделение, соединение и деформация материалов по одной молекуле или атому. Позднее манифестом будущего нанотехнологического прогресса стала книга Кима Эрика Дрекслера «Engines of Creation. The Coming Era of Nanotechnology», изданная в 1986 [79].

Одним из важнейших подходов в нанотехнологиях при создании упорядоченных наноструктур, обладающих нужными функциональными свойствами, является использование процессов самоорганизации, самосборки и/или темплатного синтеза, то есть такого синтеза, который позволяет

конструировать сложные по составу продукты из более простых блоков [80]. Этот подход заимствован из природы, где он осуществляется как на уровне белков клеток, так и на уровне целых организмов. Так, аминокислоты являются теми простейшими блоками, из которых строится вся живая материя. Первичная структура белка, т. е. последовательность аминокислот в молекуле полипептида, определяет его вторичную и третичную структуры. Взаимодействие белковых молекул с другими белковыми и небелковыми органическими соединениями приводит к образованию четвертичной структуры белков и их встраиванию в те надмолекулярные комплексы, для которых эти белки предназначены. Процессы транскрипции и трансляции в клетках - это первый этап на пути формирования внутриклеточных структур. Следующие этапы - сборка надмолекулярных комплексов и их доставка в определенные участки клетки. Все эти этапы превращений белковой молекулы, начиная от синтеза ее рибонуклеиновой матрицей и до вхождения наряду с другими соединениями в состав определенных компонентов клетки, связаны с процессами самосборки. Именно эти процессы лежат в основе формирования и биогенеза живой материи [81]. Аналогичные принципы самоорганизации используются при создании современных нанокмпозитов, в которых упорядоченные наноструктуры служат матрицами для формирования и стабилизации высокодисперсных функциональных частиц [82 - 86].

Высокодисперсные, то есть наноразмерные, частицы демонстрируют, как уже говорилось выше, особые физические и химические свойства. Эти свойства являются следствием так называемого эффекта квантовых размеров, вызванного переходом от макроскопических тел с огромным числом атомов к размерам в несколько тысяч или даже сотен атомов. В первую очередь это отражается на свойствах, обусловленных поведением электронов [87]. Так, благодаря эффекту квантовых размеров, наночастицы металлов проявляют высокую реакционную способность, повышенную склонность к ионному и атомному обмену, адсорбции

на различных поверхностях, к образованию поверхностных связей с другими адсорбирующимися частицами и т.д. [88]. Особые свойства наноразмерных частиц открывают широкие возможности для создания новых эффективных катализаторов [89, 90], магнитных устройств хранения данных с высокой плотностью [91, 92] сенсорных систем [93, 94], специализированных композиционных материалов [95, 96], препаратов с высокой биологической активностью для применения в экологии, биологии и медицине [97-100] и других.

Однако, высокая реакционная способность наночастиц является причиной их малого времени жизни - они легко агрегируют, а также вступают в реакции с другими химическими соединениями. Поэтому одной из важнейших проблем является формирование стабильных наночастиц заданного размера, в течение длительного времени сохраняющих свои уникальные свойства. То есть стабилизация очень маленьких, наноразмерных частиц является наиважнейшей задачей современных нанотехнологий.

Существует два принципиально разных подхода к решению этой проблемы - получение наночастиц, поверхность которых покрыта специальным защитным слоем [101-113], или же стабилизация наночастиц в матрицах [114-120]. Использование структурно организованной полимерной или органической матрицы в качестве среды для формирования наночастиц дает возможность как стабилизировать частицы, так и контролировать их рост в процессе формирования, а также придает самой матрице новые уникальные свойства [121 - 127].

При разработке наноразмерных материалов необходимо определение соответствующих теоретических параметров формирования различных структурно организованных матриц. Для того чтобы полимерные нанокомпозиты эффективно осуществляли прогнозируемые для них функции, необходимо выполнить ряд требований к таким системам:

(1) функционализированные наночастицы в нанокомпозитах должны иметь узкое распределение по размерам;

(2) характерные линейные размеры наночастиц и полимерных макромолекул должны быть одного порядка величины;

(3) взаимодействие между наночастицами и полимерными макромолекулами должно быть оптимальным для эффективного диспергирования наночастиц.

Последнее требование представляется наиболее важным, поскольку управление взаимодействием наночастица-полимер открывает дополнительные возможности придания новых свойств полимерным нанокомпозитам в целом. Это возможно потому, что состояние отдельной частицы сложной системы определяется состоянием системы в целом, а последнее в свою очередь зависит от состояния каждой частицы. Другими словами состояние каждой из подсистем автоматически согласуется с состояниями всех остальных частей и системы в целом. При этом также должны выполняться принципы пропорциональности части и целого. Поэтому для определения соответствующих параметров при разработке нанокомпозитов использовались два основных теоретических подхода: теория пропорциональности для полимеров [128, 129] и теория самосогласованных полей [130, 131]. Оба теоретических подхода в отдельности или их сочетание необходимы при создании полимерных матриц с целью формирования в них наночастиц с заданным распределением по размерам и с заданными функциями.

В соответствии с разработанными теоретическими подходами на практике было предложено несколько методов формирования металло-коллоида в полимерной среде. В числе первых, идея формирования неорганических (металлических, магнитных и других) наночастиц в полимерной среде возникла при изучении стабильных самоорганизующихся комплексов полиэлектролитных гелей с противоположно заряженными поверхностно-активными веществами (ПАВ), так называемых сколлапсированных гелей [132 - 136]. Впервые явление

коллапса гелей, то есть резкое изменение их объема в сотни раз, наблюдал Т. Танака в конце 70-х годов прошлого века [137]. Дальнейшее последовательное изучение этого эффекта показало, что скачкообразное изменение объема может быть вызвано изменением температуры, pH среды и различными добавками: солей, поверхностно-активных веществ, линейных полимеров и др. В результате таких конформационных изменений, которыми (1) можно управлять и которые (2) можно прогнозировать, образуются упорядоченные, регулируемые структуры [138-148]. Именно это породило идею использовать подобные материалы в качестве матриц для иммобилизации функциональных наночастиц.

Для реализации идеи формирования наночастиц в таких упорядоченных полимерных матрицах как сколлапсированные гели были использованы их важнейшие в практическом отношении особенности - суперабсорбционные свойства по отношению к воде. Вместе с водой гель абсорбирует и растворенные в ней вещества, например, соли металлов, которые затем можно восстановить до металлического состояния и сформировать таким образом металлические наночастицы. При этом размер наночастиц будет определяться внутренней структурой полимерной матрицы, то есть ее характеристическими размерами. Сама же полимерная матрица должна служить стабилизационной средой для наночастиц, не позволяя им агрегировать.

В целом, как уже говорилось выше, в ходе химического синтеза неорганических наночастиц возможны два общих варианта:

- (1) получение частиц поверхность которых покрыта поверхностно-активными веществами или специфическими по отношению к материалу частицы лигандами;
- (2) методы, где одновременно с приготовлением наночастиц происходит их фиксация/стабилизация в полимерных матрицах.

Первый случай хорош тем, что сохраняется возможность работать с поверхностью наночастиц, например проводя замену лигандов или продолжая дальнейшую поверхностную модификацию, получение монослоев частиц и т.д., а

во втором случае чаще всего имеют дело с наноматериалом, для которого особо важны коллективные свойства вещества. Отдельный интерес представляет класс композиционных материалов представляющий собой смеси наночастиц и органических полимеров. Эти материалы технологически привлекательны благодаря своей пластичности, кроме того, они демонстрируют перспективные электрические, оптические, магнитные и механические свойства, обусловленные не только индивидуальными особенностями наночастиц и полимеров, но и взаимодействиями на границе раздела двух различных по своей природе материалов – неорганика/органика в супрамолекулярном масштабе [149, 150].

Чрезвычайно селективный метод состоит в образовании желаемых неорганических наночастиц в ядрах мицелл амфифильных блок-сополимеров [151 – 156]. При этом наночастицы в водных средах могут быть синтезированы в водорастворимых незаряженных полимерах, полиэлектролитах, а также используя дигидрофильные блок-сополимеры, которые образуют мицеллы при взаимодействии с металлическими соединениями [154, 156, 157].

Помимо амфифильных блок-сополимеров, для формирования наночастиц применяются самые разные материалы, которые обеспечивают эффект "клетки", то есть ограничивают рост наночастиц размерами ячеек или пор. Если эти ячейки обладают также какими-либо функциональными свойствами, то это позволяет ввести дополнительный контроль за ростом и стабилизацией наночастиц. В работах [158 и A5] представлены результаты формирования металлических наночастиц в силоксановых бислоях полиоктадецилсилоксана (PODS), полученного с помощью октадецилхлорсилана, подвергнутого гидролитической поликонденсации. Полости PODS, содержащие силаноловые группы, обеспечивают превосходный контроль роста наночастиц. Размер полученных наночастиц не зависит ни от использованных соединений металла, ни от его концентрации, ни от восстановителя, но определяется исключительно внутренней геометрией полимера, т.е. архитектурой "клетки". К сожалению, степень

инкорпорации металла в такую полимерную матрицу невелика, поскольку она не содержит соответствующих функциональных групп. Другим недостатком PODS, как и многих других сшитых полимеров, является нерастворимость матрицы ни в какой среде. Недавно были опубликованы результаты синтеза нового семейства коллоидов с помощью гидролитической конденсации прекурсора с функциональными N-(6-аминогексил)-аминопропилтриметоксиксана (АНAPS) до поли(аминогексил)(аминопропил) силсесквиоксана (РАНАPS) [159]. Структура РАНАPS является высокофункционализированной и ее функциональность может изменяться протонированием аминогрупп. Это делает полученный полимер весьма перспективным материалом, который можно достаточно легко синтезировать и в дальнейшем использовать в качестве матрицы для формирования наночастиц магнетитов, металлов, полупроводников и окислов металлов, вводя только незначительные изменения в процедуру синтеза. Подробнее ознакомиться с методами стабилизации наночастиц в матрицах полимеров, цеолитах, пористых оксидах можно в обзорах [113 - 116]. В [160] представлен обзор по методам исследования структуры и исследованию свойств разнообразных наноструктур на базе полимерных пленок с наночастицами, как органическими, так и неорганическими. В данном обзоре описаны методы установления связи структура-свойства полимеров с металлическими наночастицами и эта работа может рассматриваться как достаточно полный справочник-руководство по исследованию структуры и физических свойств полимерных композитов. Дополнительно, данная книга содержит описание методов синтеза наноструктурированных систем с помощью лазерного излучения и электронных пучков. Вопросам формированию *in situ* металлических наночастиц в тонких полимерных пленках также посвящен обзор [161]. В нем подчеркивается взаимное влияние друг на друга металлических наночастиц и полимеров в составе полимерных композитов, которые именно благодаря этим мутуалистическим эффектам представляют собой материалы с уникальными свойствами.

Особое внимание в мировой научной литературе уделяется созданию и стабилизации магнитных наночастиц (МНЧ). Взрыв интереса за последнее десятилетие к исследованиям в этой области мотивирован широкими технологическими возможностями применения МНЧ, например, в качестве одно-битных элементов памяти для магнитных устройств хранения данных с высокой плотностью [162, 163], для повышения контраста в магнитно-резонансной томографии [164 - 166], в качестве селективных датчиков для исследования молекулярных взаимодействий в биологии [167], для разделения клеток (сортеры) [168], для направленной доставки лекарственных препаратов [169 - 172], в лечении онкологических заболеваний методом гипертермии [166, 171, 173, 174] и многое другое для биомедицинских исследований [175].

Магнитные наночастицы представляют собой класс веществ с особыми, практически важными свойствами: они структурируются под влиянием внешнего магнитного поля, зависимость их намагниченности от напряженности магнитного поля существенно нелинейная, и эквивалентное значение магнитной восприимчивости вещества может составлять десятки и сотни тысяч. Кроме того, ферромагнетики сильно разогреваются под влиянием внешнего индукционного поля. Однако, несмотря на впечатляющие успехи применения МНЧ в самых разных областях, наибольшие надежды связаны с возможностью их использования в онкологии. Лечение онкологических заболеваний с помощью ферромагнитных препаратов проще и безопаснее по сравнению с применением традиционных методов терапии. МНЧ вводятся либо непосредственно в опухоль, либо концентрируются там с помощью внешнего магнитного поля [176]. Известно, что раковые клетки начинают разрушаться уже при температуре 39 - 40° С. На этом основан принцип интерстициальной гипертермии [177, 178]. Поэтому, если в течение определенного периода с помощью внешних полей разогревать ферромагнитные наночастицы внутри опухоли до температур выше критической, то больные клетки гарантированно погибнут. Основные проблемы при создании

лечебных форм МНЧ - предотвращение агрегации и определение такого размера наночастиц, который биологически целесообразен. Если стабилизация, как задача синтеза, в известной мере уже решена, то определенности в вопросе о размере биосовместимым магнитных наночастиц пока нет. Токсичность, магнитные свойства, стабильность и терапевтический эффект МНЧ безусловно зависят от их размеров и распределения по размерам и здесь еще только предстоит найти тот диапазон размеров, который будет оптимальным образом удовлетворять всем этим иногда взаимоисключающим качествам [179, 180].

Существенным моментом в синтезе биологических зондов и лечебных форм МНЧ является также формирование необходимой биосовместимой оболочки на поверхности вещества. Было доказано, что оболочки, содержащие полиэтиленгликоль (ПЭГ), являются биосовместимыми, водо-растворимыми и подходят для биомедицинских приложений [181]. Такие оболочки на поверхности частиц могут быть созданы с помощью нескольких методов: путем адсорбции или роста полимерных или блок сополимерных цепей [182], формированием частиц в присутствии полимерных поверхностно-активных веществ [183], с помощью присоединения функциональных лигандов [184, 185 - 187] или путем формирования бислоя амфифильных молекул, взаимодействующего с гидрофобной поверхностью частиц [188-190]. Подробно с техниками и методами модификации поверхности магнитных наночастиц можно ознакомиться в обзорах [101, 107].

Помимо биосовместимости оболочек МНЧ, сами наночастицы также не должны представлять угрозу для организма и после выполнения своей терапевтической функции должны быть либо утилизированы организмом, либо выведены из него. Именно поэтому среди разнообразных магнитных наночастиц особой популярностью пользуются супермагнитные наночастицы оксида железа. Они состоят из биodeградируемого железа, которое биологически совместимо и

поэтому может быть переработано клетками естественным путем биохимического метаболизма железа [191, 192].

В настоящее время разработано множество методов получения практически монодисперсных магнитных наночастиц [108, 193 - 195] или их кластеров [196 - 201]. Для последних было показано, что они, в отличие от индивидуальных магнитных наночастиц, имеют преимущества и в магнитной гипертермии и для магнитно-резонансной терапии [196 - 201]. Впрочем, монодисперсные магнитные наночастицы в целом являются более предпочтительными, поскольку (1) магнитные свойства и размер взаимозависимы и (2) монодисперсные наночастицы могут быть одинаковым образом функционализированы, что важно для биомедицинских приложений. При этом наиболее гибким и эффективным методом получения МНЧ в растворах принято считать термолиз металлсодержащих соединений в высококипящих некоординирующих растворителях в присутствии стабилизирующих веществ [108, 110, 193 - 195, 202 - 207].

В этом очень кратком обзоре были рассмотрены лишь общие подходы к созданию искусственных наноразмерных композиционных материалов и приведены лишь некоторые, наиболее общие принципы их формирования и функционализации. Широкое и детальное рассмотрение этих вопросов лежит далеко за рамками данной работы, основной целью которой является структурная диагностика надмолекулярных комплексов методом малоуглового рентгеновского рассеяния. Поэтому мы ограничились описанием только сравнительно небольшой группы синтетических нанокомпозитов, интересных и важных с точки зрения их практического применения и которые последовательно и детально были исследованы этим методом. Кроме того, не рассматривались природные надмолекулярные комплексы поскольку даже общее их описание ввиду колоссального разнообразия и сложности живой материи невозможно в сравнительно небольшой по объему работе. Однако, именно метод малоуглового

рассеяния является тем универсальным методом, который широко используется в настоящее время для исследования структуры биологических макромолекул в растворе, то есть в условиях максимально приближенных к физиологическим. Так, например, в вышедшей в 2013 году монографии представлен огромный материал по достижениям в этой области [208].

В качестве заключительного замечания к этому разделу следует особо отметить важность выбора метода исследования структуры. Важным здесь является не только получение адекватных структурных характеристик, но также возможность исследования образцов в их 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 МУР является тем методом неразрушающего контроля, который позволяет исследовать надатомную структуру вещества как в твердом состоянии, так и в растворах различной концентрации, а также проводить структурный мониторинг в процессе создания сложных композиционных систем. А сочетание малоуглового рассеяния с упомянутыми выше современными методами изучения строения вещества вывело МУРР в настоящее время на уровень одного из самых затребованных структурных методов. Ниже на примере работ автора настоящей диссертации будут показаны возможности метода малоуглового рентгеновского рассеяния в изучении сложных надмолекулярных структур как синтетических, так и биологических.

Глава 3

Анализ возможности восстановления трехмерных структур низкого разрешения полидисперсных и полиморфных нанообъектов по данным малоуглового рассеяния (компьютерное моделирование)

В кривых малоуглового рассеяния содержится структурная информация об исследуемых рассеивающих объектах с максимальным разрешением порядка 1 нм, причем разные угловые диапазоны отвечают за свой уровень и разрешение. Это происходит потому, что интенсивность рассеяния $I(s)$ пропорциональна числу фотонов, рассеянных в направлении s , а 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 2θ - 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 условно кривую рассеяния можно разделить на 3 участка (Рис. 3.1): I - диапазон углов в непосредственной близости от первичного пучка (область центрального рассеяния) соответствует рассеянию самых крупных неоднородностей электронной плотности и по этому участку можно определить общую форму рассеивающего объекта или распределение по размерам в случае полидисперсных образцов; II - на этом угловом диапазоне доступно определение внутренней организации исследуемого вещества с разрешением 0.5-1.0 нм; и, наконец, участок III – соответствует атомной структуре рассеивающих объектов и этот уровень недоступен для малоуглового рассеяния. Отсюда следует, во-первых, что область доступная для анализа угловой зависимости интенсивности рассеяния $I(s)$ в МУРР сравнительно узка и не превышает 10 нм^{-1} и, во-вторых, возможен до

известной степени независимый анализ строения вещества разных структурных уровней по разным участкам кривой рассеяния.

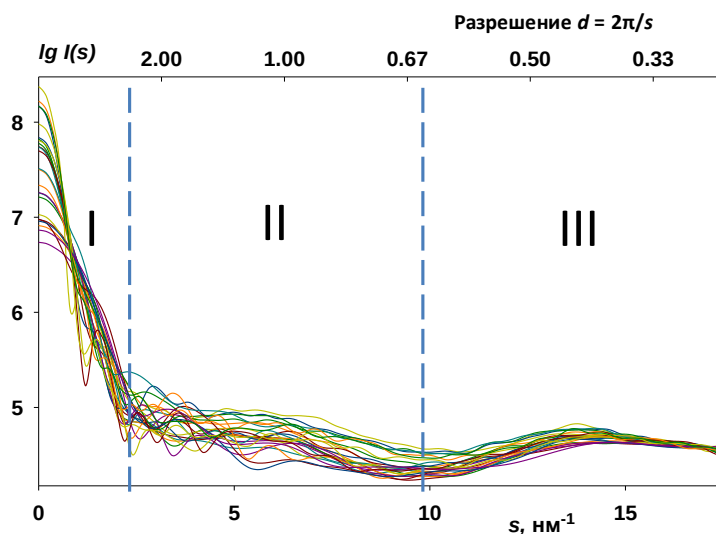


Рис. 3.1. Уровни структурной организации в малоугловом рассеянии: I – общая форма; II – внутреннее строение с разрешением порядка 1 нм; III – структура атомного разрешения.

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. Проблема неоднозначности решения задачи восстановления формы частиц, описываемых геометрическими телами с различной анизометрией, уже была детально рассмотрена в [31]. В этой работе было показано, что наименьший разброс, то есть наиболее адекватное решение, получается для глобулярных и вытянутых частиц. Поэтому, чтобы максимально исключить неоднозначность решения обратной задачи по данным МУРР, для анализа влияния частичной агрегации, полидисперсности, полиморфизма и межчастичной интерференции на восстановление формы рассеивающих объектов нами были выбраны однородная сфера, как наиболее простой, но в то же время общий случай, и удлиненное спиралевидное тело в качестве геометрически сложного объекта. Полученные результаты затем были распространены нами на восстановление форм реальных объектов в растворе (Главы 4 - 6).

3.1. Восстановление формы рассеивающих объектов в полидисперсных системах: возможности и ограничения

3.1.1. Однородные сферы

С помощью вспомогательной программы `gen_dam_body` программного комплекса ATSAS [21] формировались однородные виртуальные сферы разных размеров, состоящие из нескольких тысяч сферических элементов - так называемые «шариковые модели». Для выявления влияния полидисперсности использовалась сфера диаметром 10 нм, к которой добавлялись сферы диаметром 5

нм и 15 нм (Рис. 3.2). Объемные доли больших и мелких сфер брались одинаковыми так, чтобы их суммарный вклад в смеси варьировался от 1 до 50 объемных процентов. Теоретическая интенсивность рассеяния каждой из сфер считалась с помощью программы CRY SOL [33]. Затем полученные теоретические интенсивности суммировались, исходя из принципа аддитивности рассеяния. При этом вклад в общее рассеяние интенсивностей рассеяния каждой компонентой вычислялся в соответствии с ее объемной долей в смеси. Затем программой GNOM [19] по суммарным кривым рассеяния определялись функции распределения по расстояниям $p(r)$, которые использовались в программе DAMMIN [25] для *ab initio* восстановления формы.

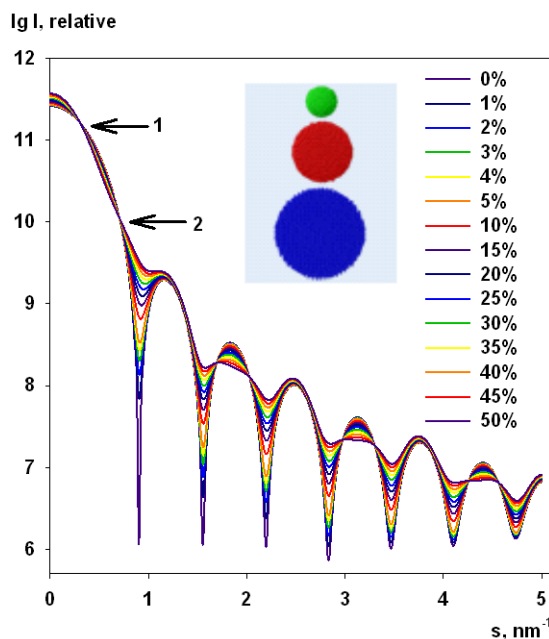


Рис. 3.2. Рассеяние системами полидисперсных сфер. Красная сфера – основное рассеивающее тело, к которому добавлялись равные объемные доли виртуальных сфер диаметром 5 нм (зеленая сфера) и диаметром 15 нм (синяя сфера), варьируя суммарную объемную долю этих сфер в смеси от 1 до 50 объемных процентов. Стрелками обозначены точки изорассеяния.

С увеличением полидисперсности, т.е. с увеличением количества сфер с размерами, отличающихся от основной сферы, кривая малоуглового рассеяния сглаживается и приобретает вид, который обычно присущ реальным полидисперсным системам. Поскольку основной компонентой рассеяния является исходная сфера с размером 10 нм, влияние ее форм-фактора остается заметным и средний радиус рассеивающего объекта такой полидисперсной системы можно определить из соотношения $R=4.49/s_1$, где s_1 – положение первого минимума на кривой рассеяния. Определенный таким образом средний диаметр виртуальных рассеивающих частиц меняется от 10 нм до 9.2 нм по мере увеличения количества сфер другого размера.

Форма рассеивающего объекта определяется по начальному участку кривой малоуглового рассеяния в области центрального рассеяния. Влияние полидисперсности проявляется здесь в увеличении интенсивности $I(s)$ за счет рассеяния более крупными сферами. Влияние рассеяния крупными сферами значительно снижается после первой изоточки на кривой рассеяния, где кривые пересекаются в первый раз (первая стрелка на Рис. 3.2). Напротив, влияние мелких частиц особенно велико после второй изоточки рассеяния, так как малые размеры рассеивают в основном в больших углах.

Функции распределения по расстояниям $p(r)$, необходимые для восстановления формы частиц, были посчитаны трижды: по полным кривым рассеяния и по укороченным с разным количеством отсеченных экспериментальных точек: отбрасывалось рассеяние в самых малых углах сначала вплоть до первой изоточки, а потом вплоть до второй. Это делалось для того, чтобы, во-первых, исключить влияние по крайней мере крупных частиц, а во-вторых, исследовать как процесс восстановления формы зависит от числа исключенных экспериментальных точек. Уменьшить влияние мелких частиц таким образом невозможно, так как их рассеяние заметно сказывается в области больших углов, т.е. в области структурных максимумов. Кроме того, любое

отбрасывание экспериментальных точек неизбежно сказывается на информативности решения. Поэтому в том, случае, когда это необходимо делать, например, для исключения нежелательного влияния рассеяния неосновными элементами системы рассеивающих частиц, число отбрасываемых точек должно быть минимально. На Рис. 3.3 показаны функции парных расстояний $p(r)$, рассчитанные по полным кривым рассеяния (а) и по укороченным (б и в).

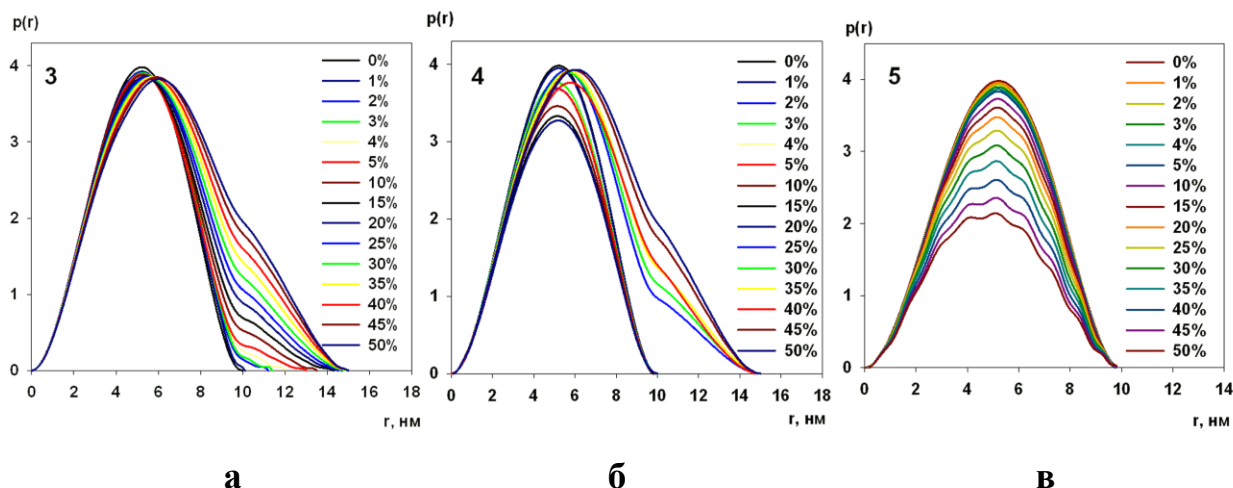
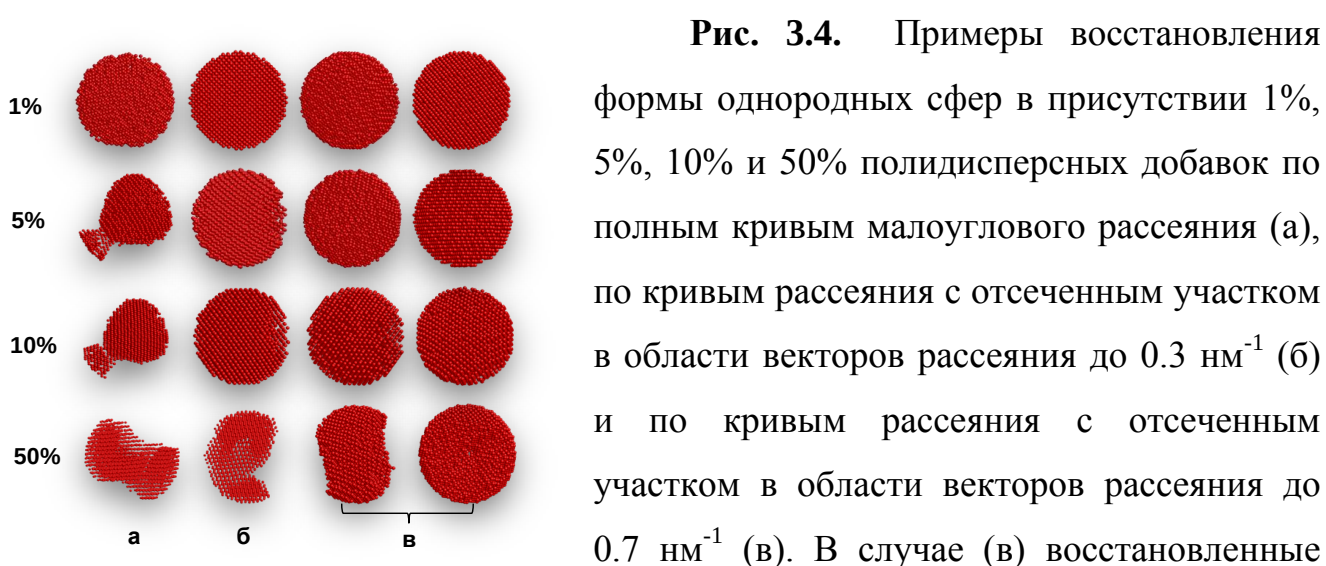


Рис. 3.3. Функции распределения по расстояниям $p(r)$ для систем полидисперсных сфер, рассчитанные по полным кривым малоуглового рассеяния (а), по кривым рассеяния с отсеченным участком в области векторов рассеяния до 0.3 нм^{-1} (б) и по кривым рассеяния с отсеченным участком в области векторов рассеяния до 0.7 нм^{-1} (в). Процентами указаны объемные доли больших и малых сфер относительно сфер среднего диаметра.

Как видно из Рис. 3.3, функции парных расстояний $p(r)$, рассчитанные по полной кривой, сохраняют характерный для сфер профиль только, если присутствие полидисперсных добавок не превышает 2%. В то же время, функции $p(r)$ на графике (б), т.е. при расчете их по кривой рассеяния, где начальный участок отсечен вплоть до 0.3 нм^{-1} , позволяют восстанавливать сферические формы даже при 20%-ой полидисперсности. Следует отметить, однако, что в этом случае амплитуда $p(r)$ функций уменьшается, что свидетельствует об уменьшении

электронной плотности восстановленных частиц – сферы, оставаясь сферами, становятся рыхлыми, образуются каверны. В том же случае, если отсекается область векторов рассеяния до 0.7 нм^{-1} (в), начинает проявляться влияние мелких частиц и хотя профиль функций парных расстояний в целом характерен для сфер, он модулирован и восстанавливать форму частиц можно только, если полидисперсность не превышает 10%. Соответственные результаты *ab initio* восстановлений с помощью программы DAMMIN показаны на (Рис. 3.4)



формы показаны в двух взаимоперпендикулярных ориентациях.

Таким образом, надежно восстанавливать даже простейшую сферическую форму при наличии полидисперсности можно либо по полной кривой рассеяния при полидисперсности не более 1-2%, либо по обрезанным кривым. В последнем случае, для систем сферических тел восстановление формы возможно вплоть до 10% полидисперсности. Однако на практике, в случае реальных рассеивающих объектов, угол рассеяния, до которого кривая МУРР может быть обрезана, необходимо определять в каждом конкретном случае отдельно. Критерием может служить прекращение изменения радиуса инерции R_g и максимального размера D_{max} при отсечении разного количества точек на кривой малоуглового рассеяния

(Рис. 3.5). Как хорошо видно из Рис. 3.5, радиус инерции R_g и максимальный размер D_{max} для сферы диаметром 10 нм перестают изменяться, если их рассчитывать по экспериментальной кривой, где область центрального рассеяния отсечена вплоть до $0.4\text{--}0.7\text{ нм}^{-1}$.

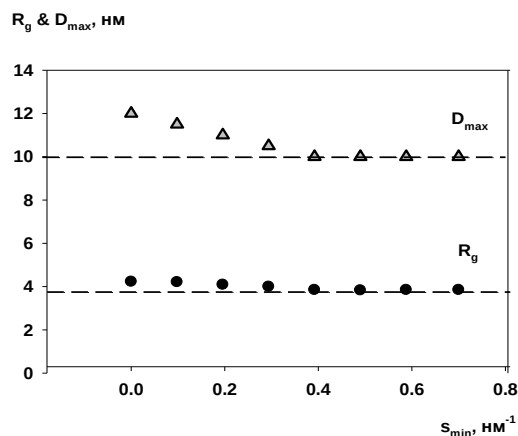


Рис. 3.5. Изменение радиуса инерции R_g и максимального размера D_{max} при отсечении разного количества точек кривой малоуглового рассеяния на примере системы однородных сфер размером 10 нм в присутствии 10% полидисперсности.

3.1.2. Моделирование формы спиральных тел

Моделирование влияния полидисперсности на восстановление формы сложных по строению тел проводилось по тому же сценарию, что и в предыдущем разделе. В качестве геометрически сложных тел были выбраны спирали, которые трудны для *ab initio* восстановления даже в отсутствии полидисперсности. Были сформированы подобные по форме однородные спиральные тела разных размеров, отличающихся примерно в 2 раза друг от друга по объему. Основным телом являлась однородная спираль с диаметром витка 7.4 нм и длиной 19 нм (Рис. 3.6, спираль красного цвета).

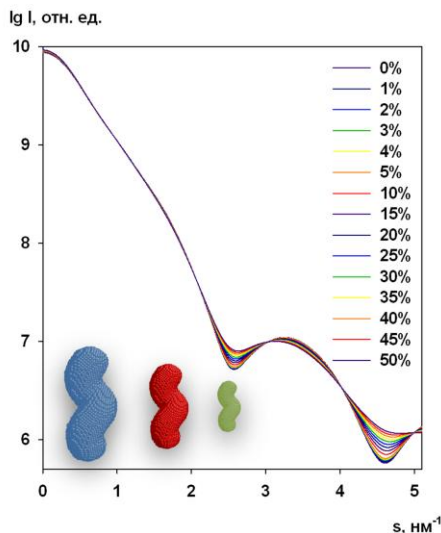


Рис. 3.6. Рассеяние системами полидисперсных спиральных тел. Красная спираль – основное рассеивающее тело, к которому добавлялось равные объемные доли виртуальных спиралей диаметром 9.4 нм (синяя спираль) и 11.8 нм (зеленая спираль).

диаметром 5.5 нм (зеленая спираль), варьируя суммарную объемную долю этих тел в смеси от 1 до 50 объемных процентов.

Как видно из Рис. 3.6 основные отличия кривых малоуглового рассеяния для такого рода полидисперсных смесей лежат в области векторов рассеяния от 2 нм^{-1} и дальше. Чтобы уменьшить влияние рассеяния от крупных частиц при восстановлении формы рассматриваемых спиральных тел, функции распределения по расстояниям $p(r)$ рассчитывались по укороченным кривым рассеяния начиная, с угла рассеяния, соответствующего 0.3 нм^{-1} . При углах, больших этой величины, кривые рассеяния практически совпадают вплоть до 2 нм^{-1} . Рассчитанные на этом интервале функции парных расстояний представлены на Рис. 3.7.

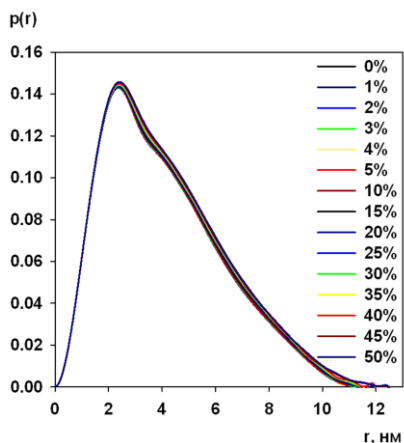


Рис. 3.7. Функции распределения по расстояниям $p(r)$ для систем полидисперсных спиральных тел.

Профили функций парных расстояний $p(r)$ значительно меньше отличаются друг от друга при разных количествах полидисперсных добавок, чем это наблюдалось для сфер из-за меньшей разницы в объемах спиральных тел – в среднем в два раза по сравнению с основным телом. Восстановленные с помощью программы DAMMIN формы также демонстрируют меньшее отличие в структуре по мере возрастания объемной доли полидисперсных добавок (Рис. 3.8).

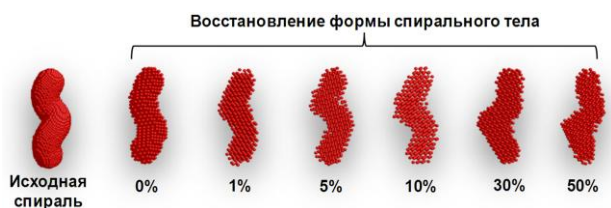


Рис. 3.8. Примеры восстановления формы однородных спиралей в присутствии 1%, 5%, 10%, 30% и 50%

полидисперсных добавок по кривым рассеяния с отсеченным участком в области векторов рассеяния до 0.3 нм^{-1} .

При восстановлении формы спиральных тел проводилось их сравнение с исходной моделью с помощью программы SUPCOMB [30]. Оказалось, что при восстановлении по усеченной кривой рассеяния нормализованное пространственное отклонение (NSD) изменяется от 0.71 при 5%-ой полидисперсности до 1.12 при 50%-ой. Таким образом, если уменьшить влияние крупных полидисперсных добавок путем отсечения нескольких первых точек (в среднем до 0.3 нм^{-1}) на кривых малоуглового рассеяния, то такое сложное для *ab initio* восстановления тело как спираль, может быть адекватно восстановлено в присутствии 10%-ной полидисперсности.

3.2. Восстановление формы мододисперсных соединений при наличии частичной агрегации

Присутствие даже небольшого количества агрегатов может серьезно осложнить исследование структуры монодисперсных соединений. Особенно это важно в биологии, где часто конформационные изменения происходят на уровне порядка всего нескольких ангстрем и наличие даже небольшого количества агрегатов не позволит увидеть такие изменения. В этом разделе с помощью компьютерного моделирования будет проведен анализ влияния агрегатов на возможность адекватного восстановления формы сферических и спиральных тел.

3.2.1. Реконструкция сферических тел

Нами были построены однородные виртуальные сферы разных размеров, которые симулировали агрегаты разных размеров: в 2, 4, 10, 20, 40, 60 и 100 раз превышающих по объему исходную сферу диаметром 10 нм. Моделирование влияния таких виртуальных агрегатов на восстановление формы сферических тел

проводилось так же, как описывалось в разделе 3.1.1, то есть было проведено формирование сфер разных объемов, расчет от них теоретической кривой рассеяния, суммирование интенсивностей рассеяния в зависимости от объемной доли виртуальных агрегатов, расчет функций парных расстояний и восстановление по этим функциям формы рассеивающих объектов с помощью программы DAMMIN.

Поскольку образование крупных агрегатов явление распространенное, то для агрегатов, превышающих по объему в 100 раз, было проведено подробное моделирование с содержанием агрегатов в образце от 1 до 50 объемных процентов. Полученные теоретические суммарные кривые рассеяния таких смесей представлены на Рис. 3.9.

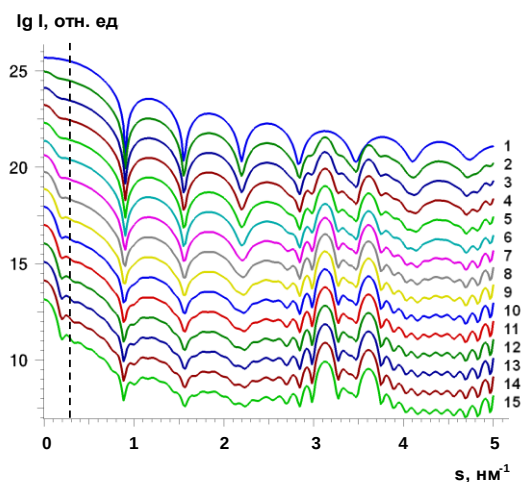


Рис. 3.9. Рассеяние однородными виртуальными сферами размером 10 нм в присутствии различного количества агрегатов в 100 раз больших по объему, чем исходная сфера: 1 – рассеяние исходной сферой; 2 – 1 объемный процент агрегатов; 3 – 2 объемных процента агрегатов; 4 – 3 объемных процента агрегатов; 5 – 4 объемных процента агрегатов; 5 – 5 объемных процента агрегатов; 7 – 10 объемных процентов агрегатов; 8 – 15 объемных процентов агрегатов; 9 – 20 объемных процентов агрегатов; 10 – 25 объемных процентов агрегатов; 11 – 30 объемных процентов агрегатов; 12 – 35 объемных процентов агрегатов; 13 – 40 объемных процентов агрегатов; 14 – 45 объемных процентов агрегатов; 15 – 50 объемных процентов агрегатов;

агрегатов; 5 – 4 объемных процента агрегатов; 5 – 5 объемных процента агрегатов; 7 – 10 объемных процентов агрегатов; 8 – 15 объемных процентов агрегатов; 9 – 20 объемных процентов агрегатов; 10 – 25 объемных процентов агрегатов; 11 – 30 объемных процентов агрегатов; 12 – 35 объемных процентов агрегатов; 13 – 40 объемных процентов агрегатов; 14 – 45 объемных процентов агрегатов; 15 – 50 объемных процентов агрегатов;

Как видно из Рис. 3.9, влияние крупных агрегатов сказывается, с одной стороны, в области волновых векторов до 0.3 nm^{-1} , а с другой, на углах больших 3

нм⁻¹. Поскольку форма рассеивающих объектов рассчитывается по начальному участку кривой МУРР, то угловой интервал выше 3 нм⁻¹ при вычислении функций парных расстояний не использовался. На Рис. 3.10 приведены функции парных расстояний, посчитанные по полным (а) и по укороченным кривым рассеяния начиная, с угла рассеяния, соответствующего 0.3 нм⁻¹(б).

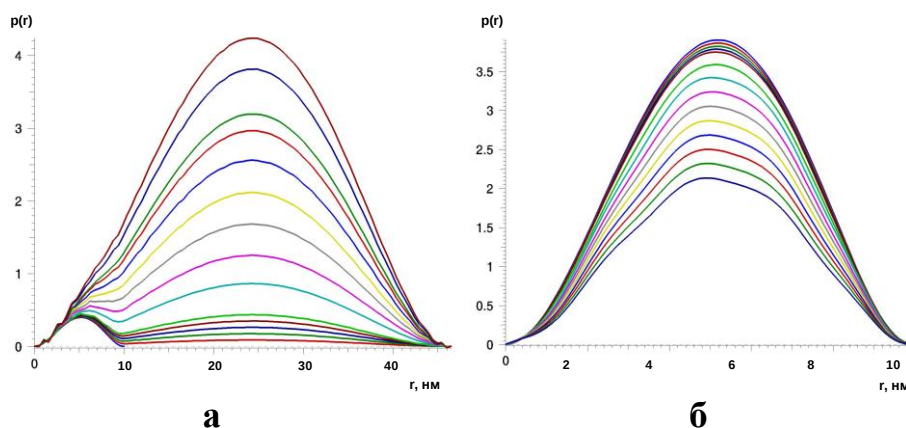


Рис. 3.10. Функции парных расстояний, посчитанные по полным (а) и по укороченным кривым рассеяния, начиная с угла рассеяния, соответствующего 0.3 нм⁻¹ (б).

Влияние крупных агрегатов проявляется на профиле функций распределения по расстояниям $p(r)$ даже при очень малом их количестве, но в то же время, благодаря резкому спаду кривых рассеяния в области центрального рассеяния до 0.3 нм⁻¹, их влияние почти не сказывается на функции парных расстояний, посчитанных по укороченным кривым рассеяния с отсеченным начальным участком и при содержании агрегатов не более 10 объемных процентов. Восстановленные с помощью программы DAMMIN формы подтверждают сделанный вывод (Рис. 3.11).

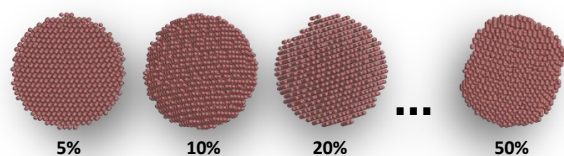


Рис. 3.11. Примеры восстановления формы однородных сфер в присутствии 5, 10, 20 и 50 объемных процентов крупных

агрегатов по кривым рассеяния с отсеченным участком в области угловых векторов до 0.3 нм^{-1} .

В целом, присутствие крупных агрегатов влияет на восстановлении сферических форм меньше, чем полидисперсность при условии использования укороченных кривых рассеяния с отсеченной областью рассеяния агрегатами.

Оказалось, что значительно более серьезное влияние на восстановление сферических форм оказывает присутствие мелких агрегатов, например, вдвое больших по объему (условные димеры), чем исходная сфера. Были восстановлены формы сферических тел диаметром 10 нм в присутствии агрегатов в 2, 4, 10, 20, 40, 60 и 100 раз больших по объему, чем исходная сфера. Кривые рассеяния для всех перечисленных образцов приведены на Рис. 3.12.

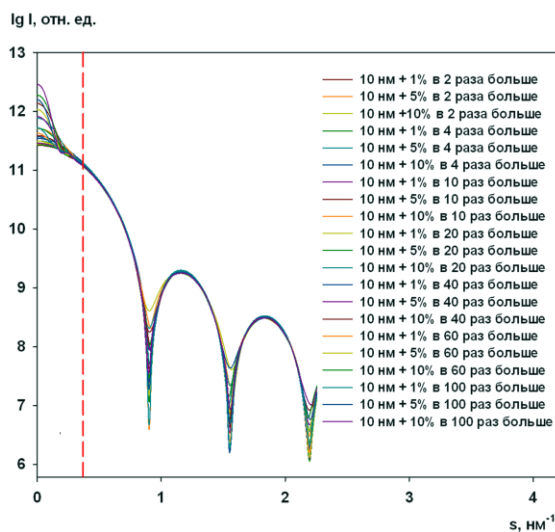


Рис. 3.12. Рассеяние однородными виртуальными сферами размером 10 нм в присутствии 1, 5 и 10 объемных процентов агрегатов в 2, 4, 10, 20, 40, 60 и 100 раз больших по объему, чем исходная сфера.

Поскольку предыдущий анализ показал, что присутствие 10%-ых добавок является граничным для адекватного восстановления формы рассеивающих объектов, мы ограничились моделированием 1%, 5% и 10% вклада перечисленных выше условных агрегатов в общую кривую рассеяния.

Функции распределения по расстояниям $p(r)$ рассчитывались по теоретическим кривым малоуглового рассеяния, представленным на Рис. 3.12, в интервале векторов рассеяния $0 < s < 3.0 \text{ нм}^{-1}$, то есть по полным кривым рассеяния и по укороченным кривым в интервале $0.4 < s < 3.0 \text{ нм}^{-1}$, чтобы минимизировать влияние агрегатов на процесс восстановления формы. На Рис. 3.13 функции $p(r)$ показаны для каждого вида агрегатов отдельно.

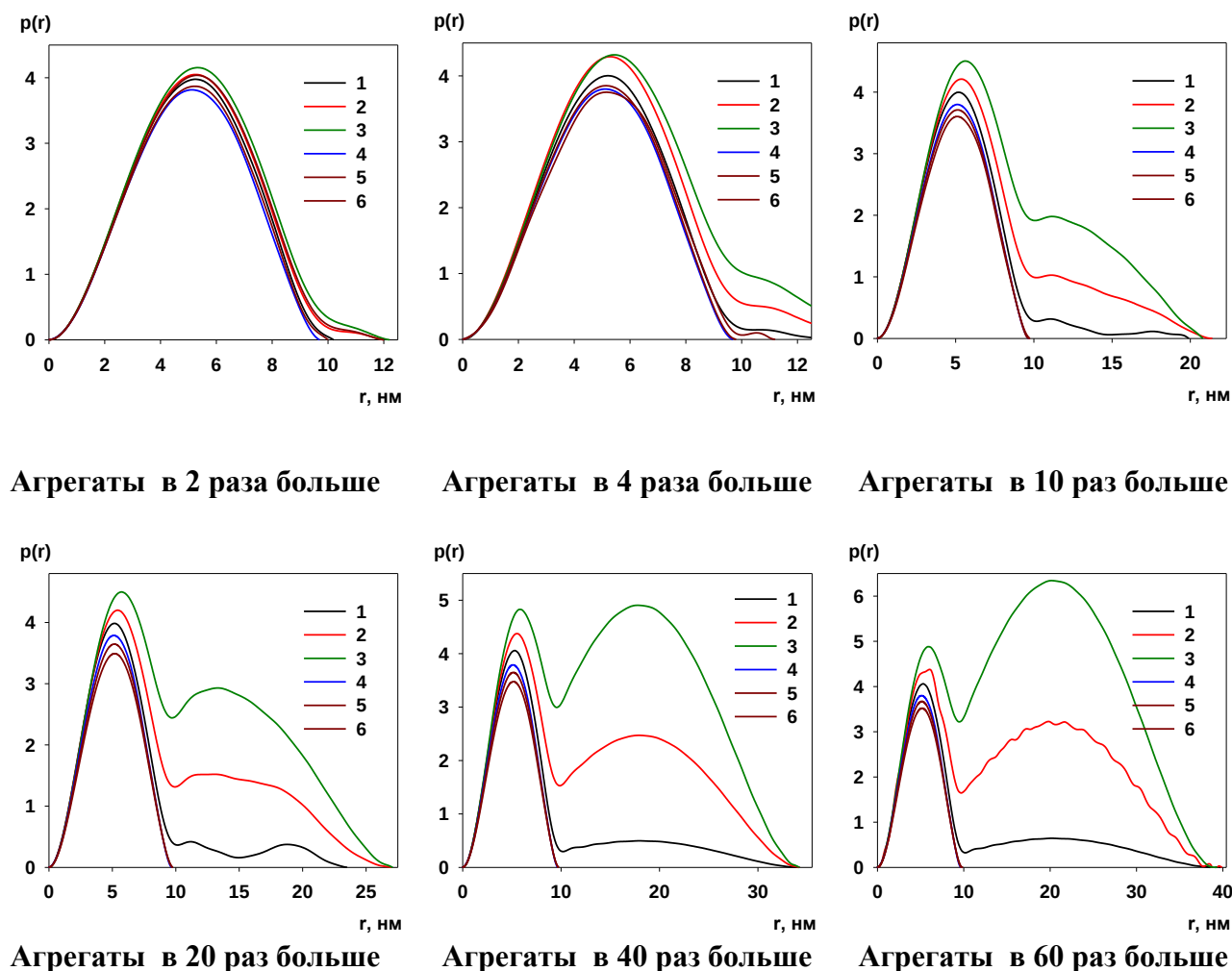


Рис. 3.13. Функции распределения по расстояниям для образцов с разным содержанием агрегатов разных размеров: на всех графиках кривые 1, 2 и 3 соответствуют 1, 5 и 10 объемным процентам вкладов агрегатов в общую кривую рассеяния при расчете функций парных расстояний по полной кривой МУРР;

кривые 4, 5 и 6 также соответствуют 1, 5 и 10 объемным процентам вкладов агрегатов в общую кривую рассеяния, но при расчете $p(r)$ функций по укороченным кривым в интервале $0.4 < s < 3.0 \text{ нм}^{-1}$.

Анализ вклада крупных агрегатов, равных 100 объемам исходной сферы, был проведен выше и поэтому на Рис. 3.13 не показан. Обращает на себя внимание тот факт, что несмотря на присутствие любого количества агрегатов самых разных размеров, на профилях функций распределения по расстояниям всегда имеется максимум, соответствующий функции $p(r)$ для исходной сферы. Эта закономерность будет неоднократно использоваться нами для анализа функций по расстояниям реальных образцов, содержащих ограниченное количество агрегатов или наночастиц определенного размера. Отметим, что для полидисперсных систем такой закономерности не наблюдается. Восстановление сферической формы в присутствии агрегатов разных размеров с разным их содержанием в образце дало следующие результаты (Рис. 3.14).



Рис. 3.14. Восстановление формы сферы диаметром 10 нм в присутствии агрегатов разных размеров с разным их содержанием в образце. Восстановленные формы показаны попарно: слева восстановление по полной кривой, справа – по усеченной.

Из Рис. 3.14 видно, что для малых агрегатов с размерами в 2 и 4 раза больше, чем исходная сфера (условно димеры и тетрамеры), восстановить форму

удается по усеченной кривой при содержании не больше 5 объемных процентов агрегатов в образце. Но для более крупных агрегатов по усеченной кривой форму удастся восстановить всегда.

Таким образом, для восстановления формы глобулярного рассеивающего объекта (например, белка) необходимо прежде всего определить размер агрегатов и затем отсечь на кривой рассеяния тот участок, где наиболее сильно проявляется влияние рассеяния крупными частицами. Такой анализ проще всего провести с помощью графика Гинье (Рис. 3.15).

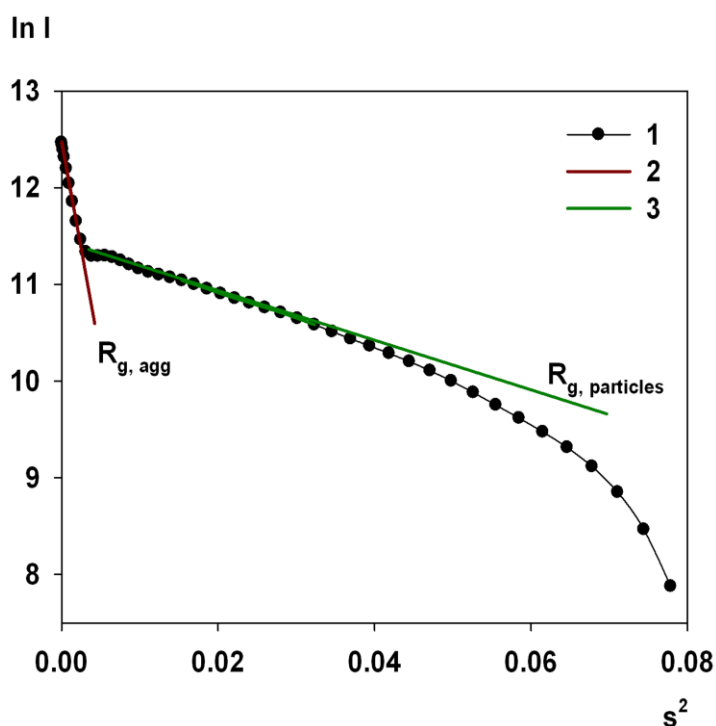


Рис. 3.15. Анализ размеров агрегатов и основных рассеивающих частиц в координатах Гинье: 1 — экспериментальная кривая; 2 — приближение Гинье для агрегатов; 3 — приближения Гинье для основных рассеивающих частиц. Пример анализа Гинье дан для основной сферы размером 10 нм в присутствии 10 объемных процентов агрегатов в 100 раз больших по объему исходной сферы.

Из графика на Рис. 3.15 легко оценить соотношение размеров (радиусов инерции R_g) рассеивающих тел и их агрегатов, а по излому прямых в координатах Гинье можно определить область рассеяния агрегатами. Соответственно, появляется возможность проанализировать перспективу восстановления формы основных рассеивающих объектов в присутствии агрегатов и определить область кривой малоуглового рассеяния, по которой это можно сделать.

Предложенный нами алгоритм анализа возможности восстановления формы рассеивающих частиц в присутствии агрегатов с использованием координат Гинье был неоднократно применен в структурных исследованиях различных полимерных и биологических объектов (см. Главы 4 - 6).

3.2.2. Восстановление формы спиральных тел в присутствии агрегатов

Выяснение возможности восстановления геометрически сложных тел в присутствии агрегатов было проведено нами по описанному выше протоколу. Результаты суммирования кривых рассеяния от исходной спирали и от различных спиральных тел больших по объему (условные агрегаты), добавленных в смесь в количестве 1, 5, 10 и 20 объемных процента, представлены на Рис. 3.16.

$\lg I$, отн. ед.

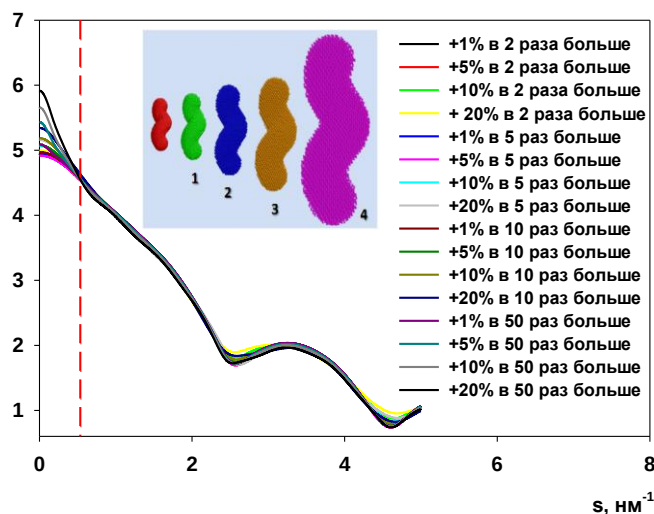


Рис. 3.16. Рассеяние

спиральными телами в присутствии агрегатов. Красная спираль — основное рассеивающее тело, к которому добавлялось разные объемные доли (1, 5, 10 и 20 объемных процента) виртуальных спиралей в 2 раза большими по

объему (1), в 5 раз большими по объему (2), в 10 раз большими по объему (3) и в 50 раз большими по объему (4), чем исходная спираль.

Как и в случае сферических тел, рассеяние условными агрегатами сосредоточено в основном в угловом диапазоне до 0.3 nm^{-1} . Поэтому функции распределения по расстояниям $p(r)$ вычислялись на угловом интервале $0.3 < s < 5.0 \text{ nm}^{-1}$. На Рис. 3.17 представлены соответствующие графики функций парных

расстояний и показаны формы, восстановленные по этим функциям с помощью программы DAMMIN.

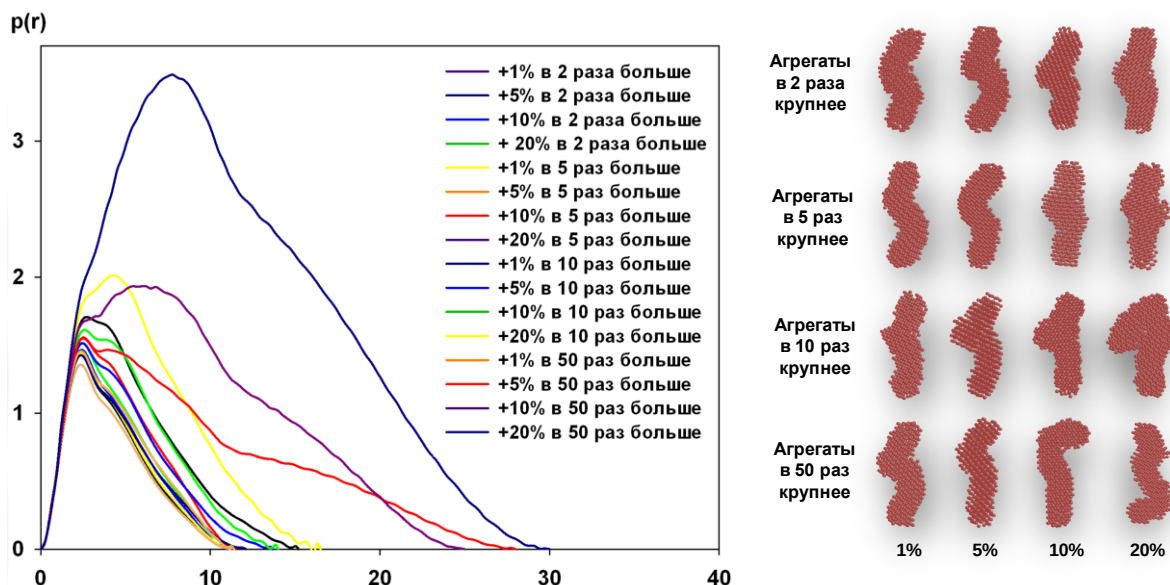


Рис. 3.17. Функции распределения по расстояниям (слева) и восстановленные по этим функциям формы спиральных тел (справа). Восстановление проводилось по кривым малоуглового рассеяния на угловом интервале $0.3 < s < 4.5$.

В отличие от сфер, восстановление формы спиральных тел в присутствии агрегатов возможно только, если количество этих агрегатов меньше 5 объемных процентов (Рис. 3.17), вне зависимости от того, насколько эти агрегаты крупнее основного рассеивающего тела. При этом восстановление проводилось по кривой с отсеченным участком в области центрального рассеяния, ответственным за рассеяние агрегатами. В то же время, адекватное восстановление по полной кривой малоуглового рассеяния было практически невозможно из-за сильного рассеяния условными агрегатами.

Сравнение восстановленных форм с исходной моделью с помощью программы SUPCOMB [30] показало, что при восстановлении по усеченной кривой рассеяния нормализованное пространственное отклонение (NSD)

изменяется от 0.8 при 5%-ых добавках до 1.3 при 50%-ных включениях. Для 1%-ных добавок NSD в среднем было равно 0.7 вне зависимости от размеров агрегатов.

В целом, на процесс восстановления формы таких геометрически сложных тел как спирали, агрегация сказывается больше, чем полидисперсность образца.

3.3. Влияние структурного полиморфизма на результаты определения формы рассеивающих объектов методом малоуглового рассеяния

Мы используем понятие полиморфности как аналог структурной вариабельности или конформационной полидисперсности объектов при одних и тех же условиях эксперимента. На практике полиморфные в этом смысле соединения встречаются часто. Ими могут быть мульти-субъединичные и мульти-доменные белки с гибкими линкерами, разупорядоченные белки, полимерные соединения, которые могут менять конформация в растворе, сосуществование в растворе ферментов в открытых и закрытых состояниях и так далее. Разрешение при восстановлении формы таких объектов по данным малоуглового рассеяния уменьшается за счет дополнительного усреднения по всем вариантам структур. Нами для моделирования структурной полиморфности использовались спирали, у которых число витков и радиус спирали оставались неизменными, а изменялась длина – спирали вытягивались и сжимались (Рис. 3.18).

lg I, отн. ед.

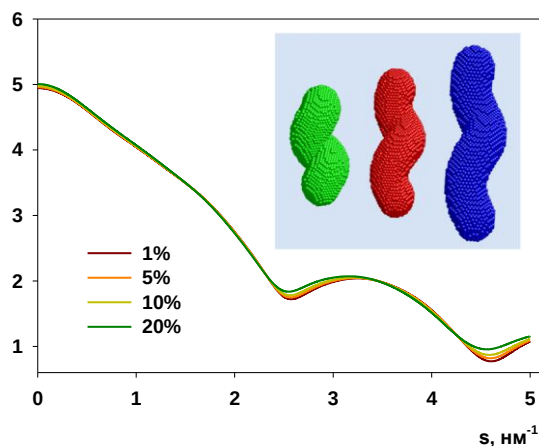


Рис. 3.18. Теоретические кривые малоуглового рассеяния полиморфными спиралями: к основному телу (красная спираль) добавлялись разные объемные проценты (1, 5, 10, 20) двух ее структурных морфологов (короткая и длинная спирали).

Суммарные кривые малоуглового рассеяния полиморфными спиралями при изменении длины спиралей в 1.5 раза мало отличаются друг от друга, если их суммарная объемная доля в смеси варьируется от 1 до 20%. Так же мало отличаются посчитанные по этим кривым функции парных расстояний (Рис. 3.19).

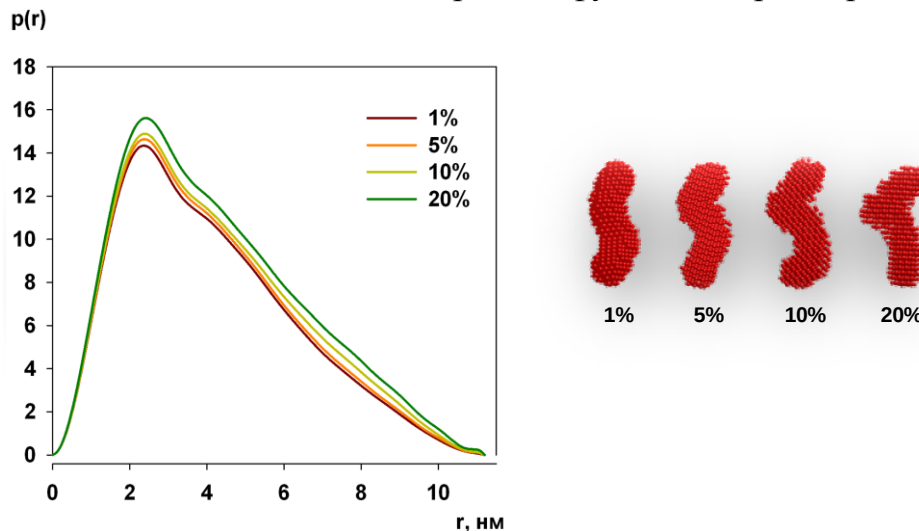


Рис. 3.19. Функции распределения по расстояниям (слева) и восстановленные по этим функциям формы спиральных тел (справа).

Поскольку объемы исходной спирали и ее полиморфных форм отличались не сильно, вклад последних в общее рассеяние был не высок. Поэтому не было смысла рассчитывать функции распределения по расстояниям по укороченным кривым: в области центрального рассеяния кривые МУРР для данных спиральных тел почти совпадали (Рис. 3.18). Соответственно, показанные на Рис. 3.19 спиральные формы были восстановлены по полным кривым. Проведенное нами восстановление по укороченным кривым, то есть с использованием углового диапазона $0.3 < s < 5.0$, не показанное здесь, не улучшило результаты. Полученные результаты демонстрируют, что при наличии структурного полиморфизма можно адекватно восстанавливать усредненную форму рассеивающего объекта, если вклад его полиморфных форм в общее рассеяние не превышает 5 %. На практике вариабельность структур для монодисперсных образцов редко бывает значительной, что позволяет надежно определять усредненную форму

рассеивающих частиц, обладающих структурным полиморфизмом. Мало того, современные подходы к интерпретации данных малоуглового рассеяния позволяют анализировать возможную структурную вариабельность, используя гибридные методы, сочетающие *ab initio* протокол и метод молекулярной тектоники [36, 37, 44, 45, 48].

3.4. Возможности определения формы рассеивающих объектов при межчастичной интерференции

Во многих практических исследованиях структуры с помощью малоуглового рассеяния приходится иметь дело с системами, где монодисперсность по той или иной причине невозможна. Это не только различие в размерах, форме или конформации, но и очень важный случай взаимодействия рассеивающих объектов, то есть проявления межчастичной интерференции, например, при высоких концентрациях в растворе или в случае заряженных частиц. Межчастичное взаимодействие приводит к изменению профиля рассеяния от изолированных частиц за счет структурного фактора $S(s, c)$, который отражает их взаимное расположение. Структурный фактор может быть определен из отношения интенсивности рассеяния I_{exp} при концентрации c к интенсивности при нулевой концентрации c_0 , которая может быть получена при экстраполяции к бесконечному разведению или измерена при существенно низкой концентрации, когда взаимодействие между частицами отсутствует, в соответствии с уравнением (1.23). Для взаимодействующих частиц характерен пик функции $S(s)$ в самых малых углах и позиция этого пика s_m определяет среднее расстояние между соседними взаимодействующими объектами $d \approx 2\pi/s_m$.

Взаимодействующие частицы могут организовываться в различные объекты, к примеру, кластеры фиксированного размера, динамические ассоциаты или постоянно растущие объединения. В ряде случаев простым снижением концентрации невозможно добиться распада кластеров и их исчезновения,

поскольку они могут быть проявлением функциональных свойств взаимодействующих частиц. В этом случае встает вопрос возможности реконструкции формы индивидуальных частиц в составе кластеров.

3.4.1. Реконструкция формы ассоциатов взаимодействующих сфер и восстановление формы индивидуальных сферических тел в составе ассоциатов

Прежде всего этот вопрос был рассмотрен нами для сферических частиц, поскольку это актуально для определения в растворе структуры взаимодействующих глобулярных белков и других реальных объектов с формой близкой к сферической. С помощью интерактивной программы MASSHA [47] был промоделирован кластер, состоящий из 5 частиц сферической формы с размерами 3.0 нм. Затем с помощью программы CRY SOL [33] была рассчитана интенсивность рассеяния от этого кластера и программой GNOM [19] по этой интенсивности была определена функция распределения по расстояниям $p(r)$. Форма кластера частиц и форма индивидуальной частицы в составе кластера была восстановлена *ab initio* с помощью программы DAMMIN [25] (Рис. 3.20).

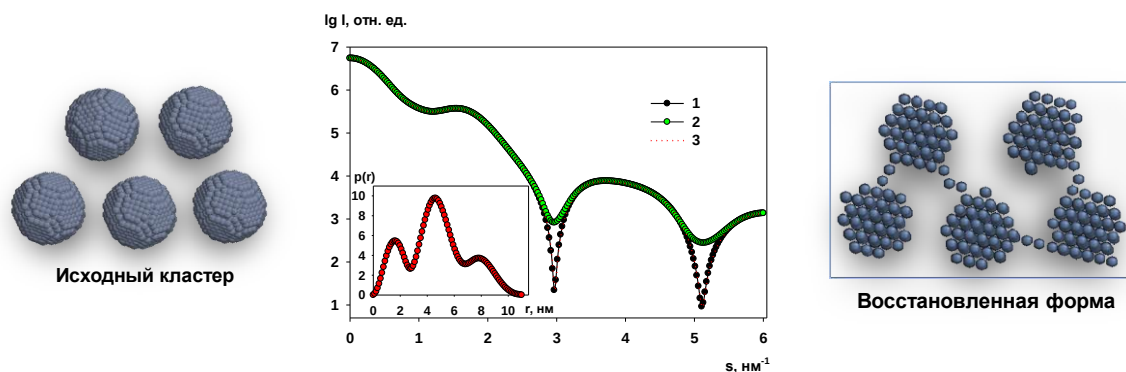


Рис. 3.20. Восстановление сферической формы частицы в составе кластера, состоящего из 5 сфер. Справа – исходный кластер. В центре - результат восстановления 1 – теоретическая кривая МУРР рассеяния кластером сферических частиц; 2 – модельная кривая для восстановленной по функции $p(r)$ формы

кластера и формы индивидуальных частиц в его составе; 3 – кривая экстраполяции в нулевой угол при расчете функции $p(r)$ программой GNOM. На вставке: функции $p(r)$. Справа; восстановленная форма кластера и формы индивидуальных частиц в его составе.

Расстояние между сферами в кластере было задано равным радиусу сферы. В этом случае, а также в тех случаях, когда частицы располагались дальше друг от друга, форма кластера и форма индивидуальных частиц в нем восстанавливались хорошо, как это видно из Рис. 3.20. Нами также был промоделирован кластер соприкасающихся сферических частиц, посчитана интенсивность рассеяния от него, функция парных расстояний и проведена реконструкция формы программой DAMMIN (Рис. 3.21).

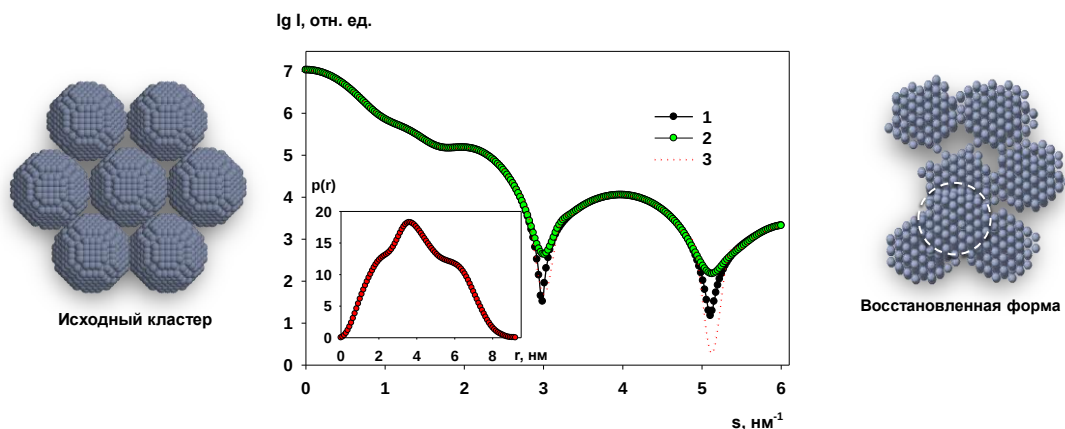


Рис. 3.21. Восстановление сферической формы частицы в составе плоского кластера, состоящего из 7 соприкасающихся сфер. Слева – исходный кластер. В центре - результат восстановления 1 – теоретическая кривая МУРР рассеяния кластером сферических частиц; 2 – модельная кривая для восстановленной по функции $p(r)$ формы кластера и формы индивидуальных частиц в его составе; 3 – кривая экстраполяции в нулевой угол при расчете функции $p(r)$ программой GNOM. На вставке: функции $p(r)$. Справа; восстановленная форма кластера и

формы индивидуальных частиц в его составе. Окружностью отмечена 7-ая сфера, расположенная вне плоскости кластера.

Реконструкция кластера соприкасающихся частиц иногда приводит к искажению формы кластера, как это видно из Рис. 3.21. Однако, форма индивидуальных частиц восстанавливается хорошо.

Поскольку кластер, изображенный на Рис. 3.21, представляет собой плоскую структуру, которая является трудной для восстановления, как было показано в [31], нами было проведено моделирование объемного кластера соприкасающихся сфер (Рис. 3.22).

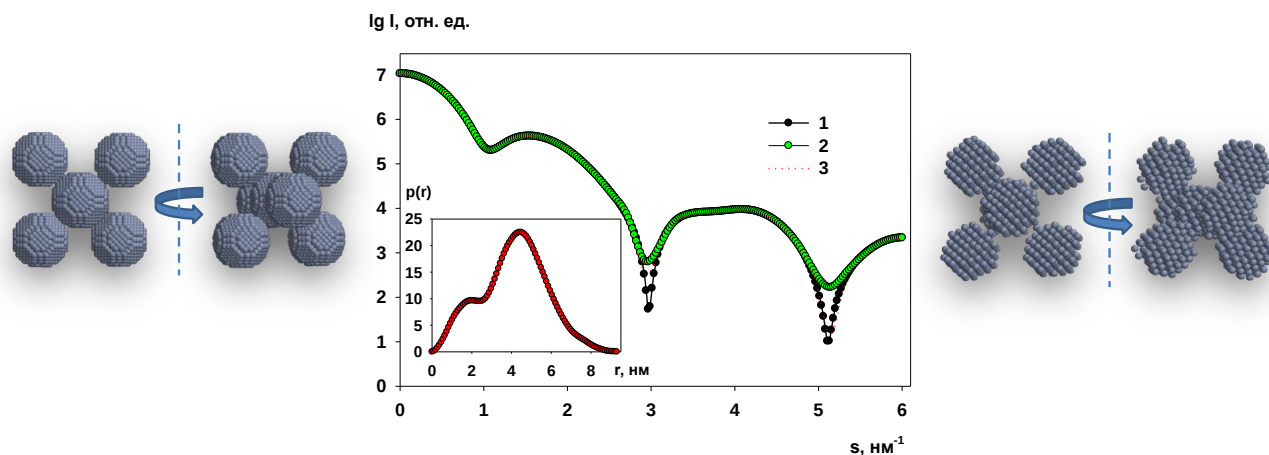


Рис. 3.22. Восстановление сферической формы частицы в составе объемного кластера, состоящего из 7 соприкасающихся сфер. Слева – исходный кластер. В центре - результат восстановления 1 – теоретическая кривая МУРР рассеяния кластером сферических частиц; 2 – модельная кривая для восстановленной по функции $p(r)$ формы кластера; 3 – кривая экстраполяции в нулевой угол при расчете функции $p(r)$ программой GNOM. На вставке: функции $p(r)$. Справа; восстановленная форма объемного кластера и формы индивидуальных частиц в его составе. На рисунке кластеры сферических частиц показаны в двух ориентациях, развернутых друг относительно друга на небольшой угол, чтобы было видно 3 сферы, образующие стержень фигуры.

При восстановлении формы кластера сферических частиц не использовалась симметрия. Тем не менее, хорошо восстановилась и крестообразная форма кластера и составляющие его сферические частицы.

Таким образом, сферическая форма, как форма индивидуальной частицы при межчастичном взаимодействии надежно восстанавливается даже в тех случаях, когда частицы соприкасаются друг с другом.

3.4.2. Реконструкция формы ассоциатов взаимодействующих спиральных тел и восстановление формы индивидуальных спиральных тел в составе ассоциатов

Значительно более сложным случаем представляется восстановление как формы всего кластера спиральных тел, так отдельных спиралей в его составе. На Рис. 3.23 представлен результат восстановления формы кластера, состоящего из 5 параллельно уложенных спиральных тел.

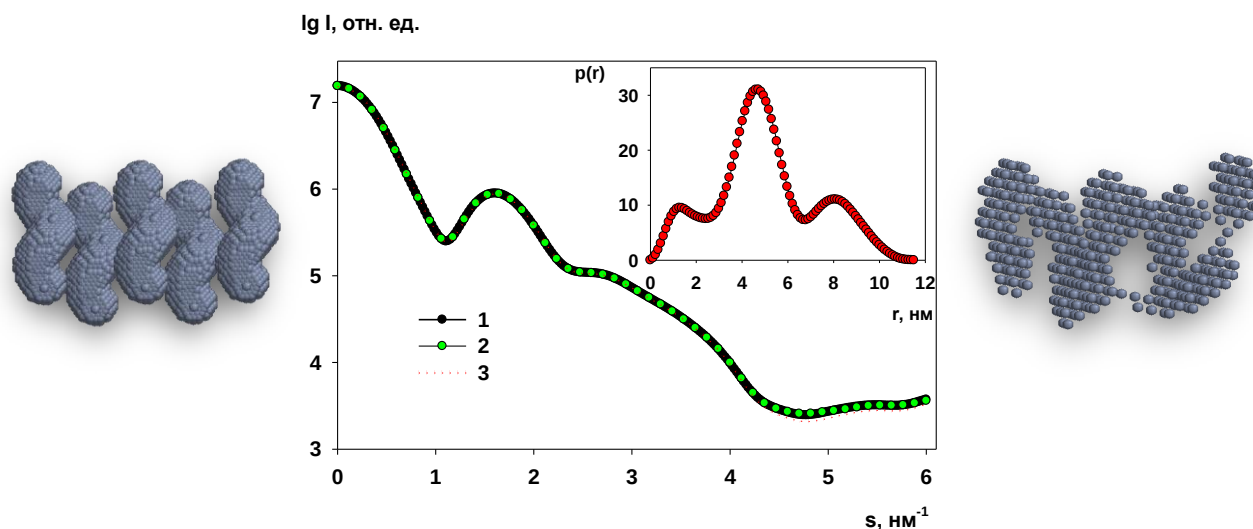


Рис. 3.23. Восстановление формы кластера, состоящего из 5 параллельно уложенных спиральных тел. Слева – исходный кластер. В центре - результат восстановления 1 – теоретическая кривая МУРР рассеяния кластером спиральных тел; 2 – модельная кривая для восстановленной по функции $p(r)$ формы кластера; 3

– кривая экстраполяции в нулевой угол при расчете функции $p(r)$ программой GNOM. На вставке: функции $p(r)$. Справа; восстановленная форма кластера и формы индивидуальных частиц в его составе.

Несмотря на хорошее совпадение формы теоретической кривой рассеяния кластером (Рис. 3.23, кривая 1) и модельной кривой (Рис. 3.23, кривая 2), восстановленная форма кластера сильно отличается от исходной. Спиральная форма восстановленных индивидуальных тел в составе кластера имеет некоторое сходство с исходной спиралью, но поскольку это сугубо субъективный критерий и на практике форма исследуемого объекта как правило неизвестна заранее, то можно сделать вывод, что такие сложные тела, как спираль, адекватно в составе кластеров не восстанавливаются. Дополнительным подтверждением этого вывода, было восстановление формы скрещенных спиралей (Рис. 3.24).

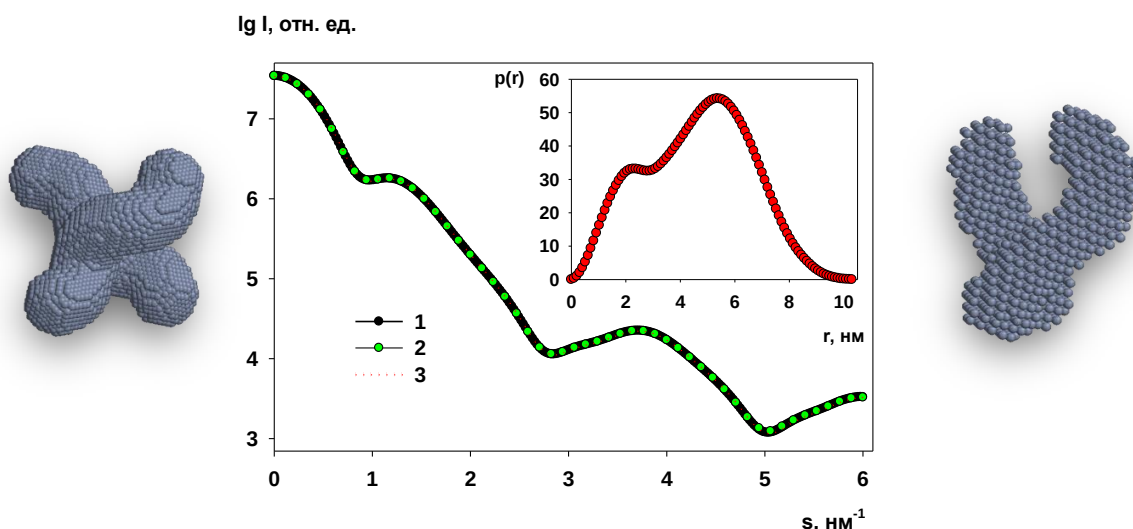


Рис. 3.24. Восстановление формы кластера, состоящего из 2 скрещенных спиральных тел. Слева – исходный кластер. В центре - результат восстановления 1 – теоретическая кривая МУРР рассеяния кластером спиральных тел; 2 – модельная кривая для восстановленной по функции $p(r)$ формы кластера; 3 – кривая экстраполяции в нулевой угол при расчете функции $p(r)$ программой GNOM. На

вставке: функции $p(r)$. Справа; восстановленная форма кластера и формы индивидуальных частиц в его составе.

В данном случае спиральная форма одного из тел в составе кластера вполне узнаваема, но в целом форма кластера, состоящего из 2 скрещенных спиральных тел, была восстановлена с искажениями, несмотря на хорошее совпадение теоретической и модельной кривых рассеяния (Рис. 3.24, кривые 1 & 2).

Таким образом, по данным компьютерного моделирования нами были определены ограничения при восстановлении трехмерных структур низкого разрешения по данным малоуглового рассеяния в случае полидисперсности, полиморфизма и в составе кластеров взаимодействующих частиц, которые суммированы ниже.

3.5. Заключение к Главе 3

Было показано, что надежное восстановление трехмерных структур низкого разрешения по данным малоуглового рассеяния в случае полидисперсности, полиморфизма и взаимодействующих частиц возможно при определенных условиях, а именно:

1. Форму сферических, в общем случае глобулярных, с невысокой асимметрией тел, а также сложных тел, например, спиральных или удлинённых, можно надежно восстановить либо по полной кривой малоуглового рассеяния при низкой степени полидисперсности порядка 1%, либо по кривым рассеяния, где область влияния полидисперсных примесей исключается при вычислении. В этом случае адекватное восстановление формы рассеивающего тела возможно даже в присутствии 10% полидисперсных добавок.

2. Влияние рассеяния крупными агрегатами можно практически полностью нивелировать использованием кривой рассеяния с отсеченным участком в области

самых малых углов (области влияния рассеяния агрегатами) при общем содержании агрегатов не более 10 объемных процентов.

3. В целом, присутствие крупных агрегатов влияет на восстановлении сферических форм меньше, чем полидисперсность при условии использования укороченных кривых рассеяния с отсеченной областью рассеяния агрегатами.

4. Для малых агрегатов с размерами в 2 и 4 раза больше, чем исходное сферическое тело (условно димеры и тетрамеры), восстановить форму удастся по усеченной кривой при содержании не больше 5 объемных процентов агрегатов в образце.

5. Восстановление формы тел со сложной конфигурацией в присутствии агрегатов возможно только, если количество этих агрегатов меньше 5 объемных процентов, вне зависимости от того, насколько эти агрегаты крупнее основного рассеивающего тела.

6. Угол рассеяния, до которого кривая малоуглового рассеяния может быть обрезана, необходимо определять в каждом конкретном случае отдельно. Критерием может служить прекращение изменения радиуса инерции R_g и максимального размера D_{max} при отсечении разного количества точек на кривой МУРР. График Гинье служит визуальным критерием для определения участка кривой малоуглового рассеяния, по которому следует восстанавливать форму рассеивающего объекта.

7. При наличии структурного полиморфизма можно адекватно восстанавливать усредненную форму рассеивающего объекта, если вклад его полиморфных форм в общее рассеяние не превышает 5 %.

8. Сферическая форма при межчастичном взаимодействии надежно восстанавливается даже в тех случаях, когда частицы соприкасаются друг с другом.

9. Форма тел сложной и удлиненной формы в составе кластеров восстанавливается с искажениями.

В целом, проведенный 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, может дать полноценную информацию не только об индивидуальных рассеивающих частицах, но и о всей системе в целом. Примеры такого подхода будут рассмотрены в следующих Главах, а представленный выше анализ опубликован автором диссертации в работе [А6].

Глава 4

Малоугловое рентгеновское рассеяние и структурное моделирование частично упорядоченных полимерных нанокомпозитов

4.1. Изучение процессов формирования и стабилизации металлических наночастиц в полимерных матрицах

Исследования структурных аспектов формирования металлических наночастиц в полимерных матрицах методом малоуглового рентгеновского рассеяния начались около 20 лет назад в связи с возникновением идеи стабилизации наночастиц с помощью самоорганизующихся комплексов полиэлектролитных гелей с противоположно заряженными поверхностно-активными веществами (ПАВ), то есть в сколлапсированных гелях [132-136]. Как показали результаты малоугловых исследований, такие комплексы обладают хорошо выраженной регулярной структурой [138-148]. Поэтому было предположено, что процессы образования металлических наночастиц, их размер, форма и распределение по размерам в такой упорядоченной среде должны определяться ее свойствами и структурными параметрами.

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 [16 - 18]. В этом методе экспериментальные кривые МУРР измеряют при разных энергиях рентгеновского пучка: вдали от края полосы поглощения атомами данного металла (т.е. регистрируется рассеяние и от полимерной матрицы, и от

наночастиц) и на краю полосы поглощения (ослабляется рассеяние от металлических включений и регистрируется рассеяние только от матрицы). Разность этих сигналов относится к рассеянию только от наночастиц, которые содержат атомы данного металла. Анализ вклада каждой из составляющих позволяет, таким образом, рассчитать распределение по размерам наночастиц металла и исследовать внутреннюю структуру полимерного комплекса.

Совместное применение методов традиционного и аномального малоуглового рентгеновского рассеяния для такого рода образцов позволило изучить структурную организацию полимерных матриц различной природы с разрешением порядка 1 нм и одновременно рассчитать функции распределения по размерам сформированных в этих матрицах наночастиц благородных металлов и магнитных наночастиц. Ниже будут приведены наиболее выразительные примеры применения метода малоуглового рассеяния, традиционного и аномального, к исследованиям структуры металлосодержащих композитов.

4.1.1. Самоорганизующиеся комплексы полиэлектролитных гелей с противоположно заряженными поверхностно-активными веществами и формирование в них металлических наночастиц

Для исследования процессов формирования и устойчивости наночастиц благородных металлов (золота и платины) были приготовлены комплексы гель/ПАВ двух типов: 1) катионные матрицы на основе катионного геля полидиаллилдиметиламмоний хлорида (PDADMACl) и двух анионных ПАВ – додецилсульфата натрия (SDS) и додецилбензолсульфоната натрия (SDBS); 2) анионные матрицы на основе анионного геля полиметакриловой кислоты (PMA) и катионного ПАВ цетилпиридинхлорида (CPC) [A7 - A10] Для создания металлических наночастиц сколлапсированные гели помещались в растворы солей металлов (использовались суперабсорбционные свойства сколлапсированных гелей) с последующим восстановлением в них ионов металлов. Источниками

ионов металлов служили водные растворы HAuCl_4 , PtCl_4 , Na_2PtCl_6 , $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_4$ и H_2PtCl_6 . Для восстановления металла в этих системах применялись Na_2BH_4 в качестве быстрого восстановителя и $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ в качестве медленного. Реакционной средой служила вода.

Наше исследование методом малоуглового рентгеновского рассеяния всех гидрогель/ПАВ комплексов выявило ряд общих закономерностей. Коллапс гидрогеля при взаимодействии с ПАВ приводил к возникновению на кривой МУР характеристических пиков в интервале угловых векторов рассеяния от $s = 1.4$ до 2.5 nm^{-1} . Положение максимума пиков зависело от природы использованного геля и ПАВ. Введение в систему соединений металлов приводило к уменьшению амплитуды пика и увеличению центрального рассеяния, что свидетельствовало о нарушениях во внутренней структуре комплексов и о появлении в системе сильно рассеивающих неоднородностей, которые можно интерпретировать как формирование кластеров соединений металла. Последующее восстановление ионов металла приводило к еще большим структурным перестройкам и, соответственно, к уменьшению величины характеристического пика с одновременным резким увеличением центрального рассеяния, т.е. к образованию металлических частиц. Последнее происходит потому, что интенсивность рассеяния пропорциональна электронной плотности рассеивающих объектов, а электронная плотность металла значительно выше электронной плотности солей металла и полимерных матриц. Все эти изменения в картине малоуглового рассеяния от гидрогель/ПАВ комплексов показаны на Рис. 4.1 на примере системы PDADMACl/SDBS, то есть для комплекса катионного геля полидиаллилдиметиламмоний хлорида с анионным ПАВ додецилбензолсульфонатом натрия. На этом рисунке во вставке также представлены разностные кривые аномального малоуглового сигнала, полученные

по методике, описанной в [16 - 18]. Эти кривые были использованы далее для вычисления функций распределения по размерам.

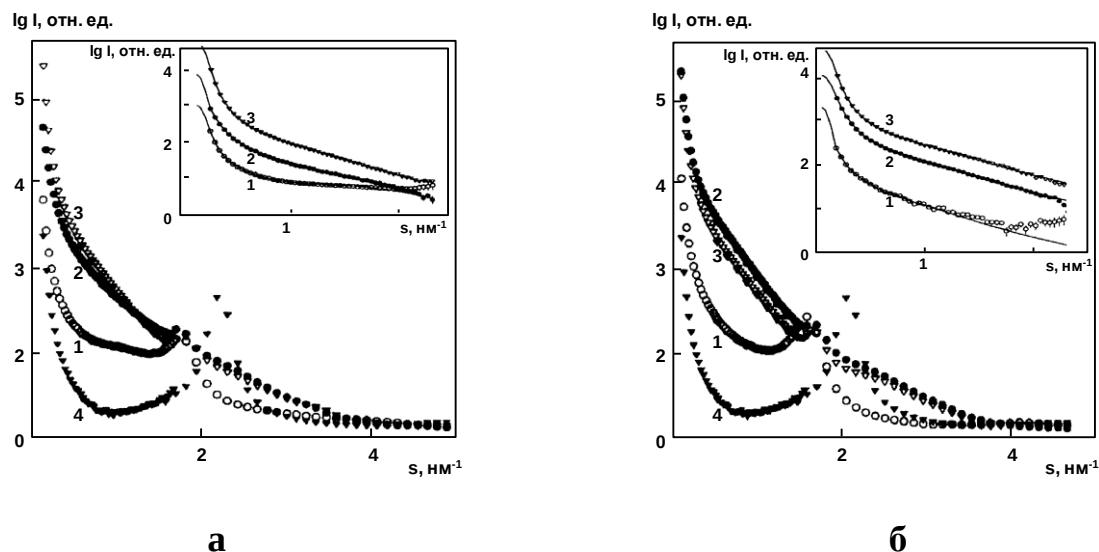


Рис. 4.1. Кривые малоуглового рассеяния системами PDADMACl/SDBS вдали от края поглощения атомами Pt для соединений: $\text{H}_2\text{Pt}(\text{OH})_2\text{Cl}_4$ (а) и H_2PtCl_6 (б). (1) рассеяние после введения соединения, (2) и (3) после восстановления платиновых ионов с помощью NaBH_4 и $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, соответственно, (4) рассеяние от исходного сколлапсированного геля. На вставках: разностные кривые аномального малоуглового сигнала для образцов 1, 2 и 3.

Для каждого образца, кривые малоуглового 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 ($k=0$) 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 (вставка на Рисунке 4.1) были использованы при вычислении объемных функций распределения по размерам $D_V(R)$. Интегральное уравнение (1.8):

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

было решено относительно $D_V(R)$ с помощью компьютерной программы GNOM [19] в предположении сферичности образованных наночастиц. В этом уравнении R – радиус сферы, $R_{\min}$ и $R_{\max}$ – минимальный и максимальный размеры, $i_0(sR)$ – форм-фактор частицы, т.е. нормированная интенсивность рассеяния частицей заданной формы ($i_0(0)=1$). Для сфер $i_0(x) = \{[\sin(x) - x \cos(x)] / x^3\}^2$ и $V(R) = (4\pi/3)R^3$ – соответственно форм-фактор сферы и ее объем, где $x=sR$. 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} есть 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.

Чтобы быть уверенными в том, что аномальный сигнал действительно соответствует рассеянию металлом, в расчет брались только те кривые, которые удовлетворяли двум требованиям: (i) разность $\Delta_k(s)$ была пропорциональна квадрату аномальной поправки для k -ой энергии; (ii) характеристический пик, соответствующий внутренней структуре сколлапсированного геля, отсутствовал на кривой аномального рассеяния (Рис. 4.2) [17, 18].

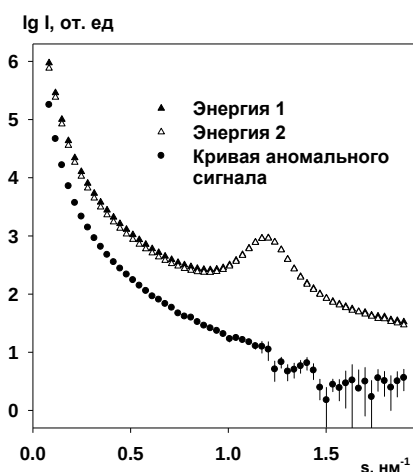


Рис. 4.2. Пример получения разностной кривой аномального сигнала: из кривой рассеяния, измеренной при энергии 1, вычиталась кривая рассеяния, измеренная при энергии 2.

Эти условия были соблюдены для всех образцов, кроме комплекса, содержащего $\text{H}_2\text{Pt}(\text{OH})_2\text{Cl}_4$ до восстановления металла (кластеры $\text{H}_2\text{Pt}(\text{OH})_2\text{Cl}_4$). В этом случае аномальный сигнал был настолько мал, что структурный пик не исчезал полностью при вычитании и это приводило к сильным осцилляциям на соответствующей функции распределения по размерам (Рис. 4.3 кривая 1).

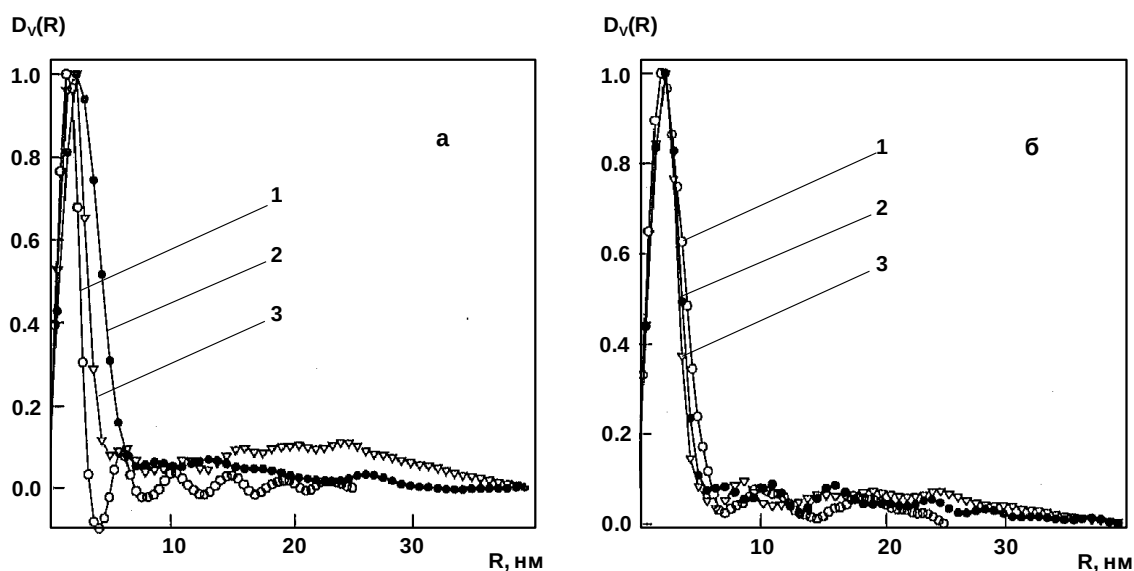


Рис. 4.3. Функции объемного распределения для PDADMACI/SDBS гелей, содержащих $\text{H}_2\text{Pt}(\text{OH})_2\text{Cl}_4$ (а) и H_2PtCl_6 (б), рассчитанные программой GNOM. (1) кластеры $\text{H}_2\text{Pt}(\text{OH})_2\text{Cl}_4$ и H_2PtCl_6 ; (2) и (3) Pt наночастицы, восстановленные с помощью NaBH_4 и $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, соответственно. Распределения нормированы к единице.

Полученные кривые распределения по размерам (Рис. 4.3) также показывают общие для всех изученных гелевых систем закономерности. Кластеры солей металлов, проникшие в комплексы гидрогель/ПАВ, служили ядрами для образования металлических частиц. Их размер со средним радиусом $R \approx 2$ нм соответствует размеру основной фракции наночастиц металла. Распределения по размерам кластеров солей имеют мономодальный характер, тогда как функции $D_v(R)$ для металлов бимодальны. При этом фракции более крупных частиц с R до

40 нм формируются при использовании в качестве восстановителя $\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ (медленное восстановление). Быстрое восстановление ионов металла с помощью NaBH_4 приводит к образованию в основном мелких частиц.

Стабилизирующее действие полимерной матрицы наглядно проявляется при длительном хранении образцов. На Рисунке 4.4 показаны кривые МУР образцами, содержащими наночастицы платины, измеренные непосредственно после приготовления и спустя 30 дней. Характеристический пик со временем уменьшается, но начальные участки этих кривых практически совпадают. Это означает, что размер частиц не изменяется при хранении, в то время как в самом геле происходят значительные структурные перестройки.

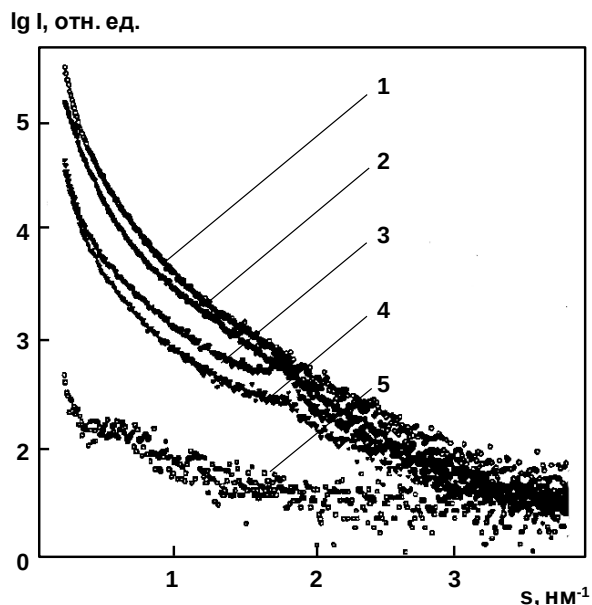


Рис. 4.4. Кривые малоуглового рассеяния от PDADMACI/SDBS гелей после восстановления с помощью NaBH_4 платиновых соединений: (1) H_2PtCl_6 , (2) $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_4$, (3) Na_2PtCl_6 сразу после восстановления и (4) после 30 дней. Кривые нормированы на рассеяние пустой кюветой (5) в области $s > 3 \text{ нм}^{-1}$.

Стабилизирующими элементами матрицы являются молекулы ПАВ. Доказательством тому служит пример вычисления функций распределения по размерам $D_V(R)$ (уравнение 1.8) для двух систем, содержащих наночастицы золота, одна из которых представляет собой сколлапсированный гель, а другая не содержит поверхностно-активное вещество (Рис. 4.5). В несконтрагированном геле были образованы наночастицы, функция распределения по размерам которых имела мономодальный характер (Рис. 4.5, кривая 3). После 35 дней хранения

распределение по размерам металлических наночастиц в этой системе приобрело характер мультимодальности (Рис.4.5, кривая 4) с образованием фракций крупных частиц, тогда как в геле, стабилизированном молекулами ПАВ, никаких изменений в размерах частиц не произошло (Рис. 4.5, кривая 2).

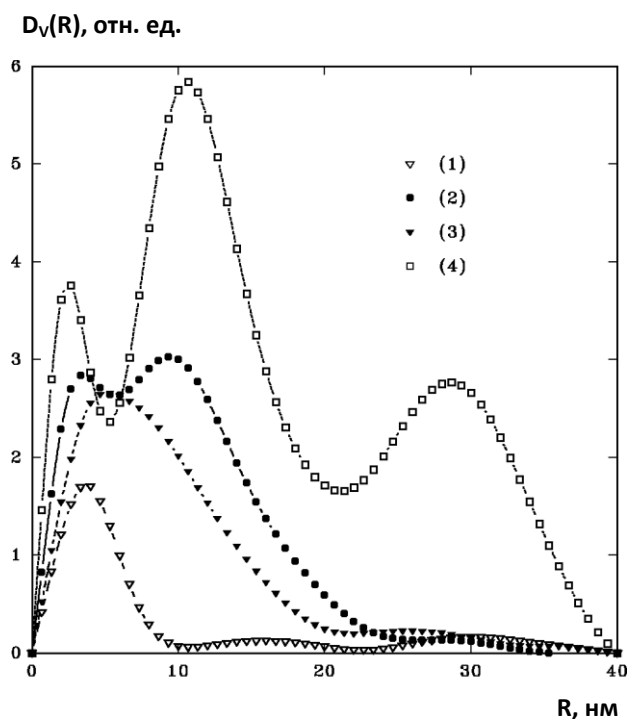


Рис. 4.5. Функции объемного распределения частиц в системе на основе катионного геля PDADMACl в комплексе с анионным ПАВ SDS: (1) PDADMACl/SDS с добавленным HAuCl_4 ; (2) PDADMACl/SDS с восстановленными наночастицами золота сразу и спустя 35 дней после приготовления; (3) PDADMACl гель без SDS сразу после восстановления металлических ионов; (4) то же, что и для (3), но спустя 35 дней.

Таким образом, изменение объемной функции распределения по размерам $D_v(R)$ в сторону резкого увеличения размеров металлических наночастиц происходило только в случае использования неструктурированных полиэлектролитных гелей.

Картина структурных перестроек в процессе формирования металлических наночастиц в анионном геле (PMA/CPS комплекс) значительно сложнее (Рис. 4.6). После введения в эту систему Na_2PtCl_6 в качестве источника ионов платины острый двойной пик при $1.3 - 1.5 \text{ нм}^{-1}$ (Рис. 4.6, кривая 1) практически исчезает, но появляется интенсивный максимум на 3.0 нм^{-1} (Рис. 4.6, кривая 2). Формирование частиц платины с помощью N_2H_4 приводит к исчезновению пика на 3.0 нм^{-1} с

одновременным восстановлением исходного максимума на $1.3 - 1.5 \text{ нм}^{-1}$ (Рис. 4.6, кривая 3). Учитывая, что сколлапсированный РМА гель содержит только около 1 вес.% платины, т.е. один ион Pt на 50 мономеров геля [147], такая кардинальная реорганизации свидетельствует о чрезвычайной чувствительности структуры комплекса к проникновению веществ, взаимодействующих с молекулами ПАВ. Ионы PtCl_6^{2-} конкурируют с молекулами ПАВ за связи с РМА группами, тем самым вызывая самосборку свободных молекул СРС в новые структуры, возникновение которых и приводит к появлению нового брегговского пика. Восстановление металла с помощью N_2H_4 освобождает занятые ранее ионами PtCl_6^{2-} связи, позволяя катионам СР занять свои прежние места и структура геля восстанавливается. При этом, как и в случае с катионными гелями, степень упорядочения в структуре комплекса возрастает.

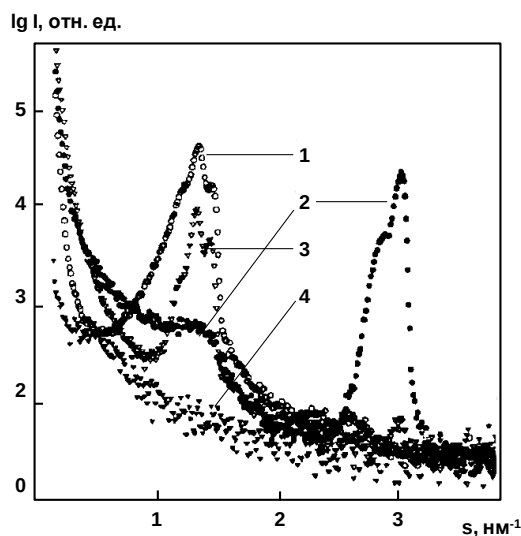


Рис. 4.6. Кривые малоуглового рассеяния системой РМА/СРС: (1) РМА/СРС гель; (2) тот же гель с добавлением Na_2PtCl_6 ; (3) с последующим восстановлением с помощью N_2H_4 . Кривые нормированы на рассеяние пустой кюветой (4) в области $s > 3 \text{ нм}^{-1}$.

Структурные характеристики, вычисленные по брегговским пикам кривых рассеяния с помощью уравнений 1.20 и 1.21 для всех изученных гидрогель/ПАВ комплексов, представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Структурные характеристики комплексов гидрогель/ПАВ, полученные из кривых традиционного и аномального малоуглового рассеяния

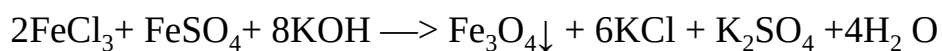
Образец	$s_{\max}, \text{нм}^{-1}$	$\bar{d}, \text{нм}$	L, нм	$\Delta/\bar{d}$
PDADMACI/SDBS комплекс				
Гель/ПАВ	2.34	2.68	27	0.10
Гель+H ₂ PtCl ₆	1.81	3.47	33	0.10
Гель+H ₂ PtCl ₆ +NaBH ₄	1.64	3.84	50	0.09
Гель+H ₂ PtCl ₆ +N ₂ H ₄	1.91	3.29	62	0.07
Гель+ H ₂ Pt(OH) ₂ Cl ₄	1.88	3.34	38	0.09
Гель+H ₂ Pt(OH) ₂ Cl ₄ +NaBH ₄	1.87	3.36	74	0.07
Гель+H ₂ Pt(OH) ₂ Cl ₄ +N ₂ H ₄	1.94	3.24	60	0.07
PDADMACI/SDS комплекс				
Гель/ПАВ	1.53	4.10	31	0.12
Гель+H ₂ PtCl ₆	1.52	4.13	29	0.12
Гель+(NH ₄) ₂ PtCl ₄	1.51	4.17	32	0.11
Гель+Na ₂ PtCl ₆	1.52	4.13	38	0.11
Гель+ H ₂ Pt(OH) ₂ Cl ₄	1.58	3.98	39	0.10
Гель+Na ₂ PtCl ₆ +NaBH ₄	1.56	4.02	98	0.06
Гель+Na ₂ PtCl ₆ +NaBH ₄ , после 30 дней хранения	1.58	3.97	121	0.06
РМА/СРС комплекс				
Гель/ПАВ, пик 1 *	1.28	4.93	26	0.14
Гель/ПАВ, пик 1а	1.33	4.71	-	-
Гель+Na ₂ PtCl ₆ , пик 1	0.91	6.93	25	0.17
Гель+Na ₂ PtCl ₆ , пик 2	3.30	1.90	53	0.06
Гель+Na ₂ PtCl ₆ , пик 2а	3.10	2.03	-	-
Гель+Na ₂ PtCl ₆ +N ₂ H ₄ , пик 1	1.33	4.71	47	0.10
Гель+Na ₂ PtCl ₆ +N ₂ H ₄ , пик 1а	1.17	5.37	-	-
Гель+Na ₂ PtCl ₆ +N ₂ H ₄ , пик 2	3.07	2.05	149	0.04

* Для РМС/СРС комплекса, 1 и 2 обозначают основные пики на 1.5 и 3 нм⁻¹, соответственно; символом “а” обозначены дополнительные узкие пики на вершине основных (1 и 2) пиков. Для дополнительных пиков вычислялся только период $\bar{d}$.

Наиболее интересным фактом, который следует из рассмотрения полученных данных, является то, что для всех металл-содержащих образцов упорядоченность выше, чем в исходном геле. При этом амплитуда характеристического пика значительно уменьшается, что в принципе могло бы означать разрушение структуры геля. Однако амплитуда брегговского пика пропорциональна не только степени упорядочения в квазикристаллических зонах геля, но и объему этих зон в образце. Отсюда можно сделать вывод, что в процессе формирования наночастиц металла структурные перестройки в геле приводят к образованию высокоорганизованных областей, занимающих только малую часть общего объема. Можно также предположить, что эти зоны кристалличности локализованы вокруг металла. Свидетельством тому являются процессы старения образца. Для PDADMACl/SDS комплекса, в котором ионы платины из Na_2PtCl_6 были восстановлены с помощью NaBH_4 , наблюдается значительное уменьшение амплитуды характеристического пика после 30 дней хранения (Рис. 4.3), в то время как размер областей кристалличности возрастает с 31 нм до 121 нм, а степень разупорядоченности уменьшается в два раза по сравнению с исходным гелем, не содержащем частиц металла (Таблица 1).

Таким образом с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния впервые было показано, что гидрогель/ПАВ комплексы представляют собой структурно организованные наносистемы, в которых рост металлических частиц определяется условиями восстановления ионов металла, контролируется структурой полимерной сетки и ограничен размерами ее внутренних ячеек.

Интересные результаты были получены также при формировании магнитных наночастиц в полиакриламидном геле [A10]. Гели были приготовлены путем радикальной сополимеризации акриламида (AAm) и $\text{N,N}'$ -метилденбис акриламида (БАА) в водных растворах. Отношение БАА к AAm варьировалось от 1:500 to 1:30 моль/моль. Синтез Fe_3O_4 в полиакриламидных гелях был проведен путем соосаждения Fe(II) и Fe(III) в щелочной среде:



Полученная серия магнитных гелей представляет собой новый класс полимерных материалов, которыми можно манипулировать с помощью магнитного поля. Сформированные магнитные наночастицы имели средний размер около 10 нм, однако распределения по размерам МНЧ сильно различались в гелях с разными структурами, что, во-первых, подтверждает предположение о непосредственном влиянии матрицы на процесс формирования наночастиц, а во-вторых, позволяет направленно получать наночастицы желаемого размера.

Помимо указанных выше работ, нами были также изучены структуры двойных и тройных комплексов, образуемых полиакриламидным гелем присутствии нитрата меди и цетилпиридинхлорида [A11], и структурные особенности других упорядоченных матриц, где используется эффект коллапса полиэлектролитов при взаимодействии с противоположно заряженными ПАВ для создания новых композиционных материалов [A12 - A15].

4.1.2. Мультислойные полимеры в качестве формирующих и стабилизирующих сред для металлических наночастиц

Хотя результаты, полученные для гидрогель/ПАВ комплексов в целом были обнадеживающими, эти системы обладали таким существенным недостатком как высокая полидисперсность наночастиц металла. Причиной этого была обнаруженная нами с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния лабильность полимерных цепей в комплексе и, как следствие, возможность миграции ионов металла в пределах матрицы и образования крупных кластеров и агрегатов в процессе восстановления металлических наночастиц. С точки зрения практического применения этот недостаток ограничивал возможности использования подобных комплексов во многих областях, где монодисперсность

наночастиц металла имела существенное значение, особенно в медицине и биологических экспериментах и в целом ряде других возможных приложений.

Тем не менее полученные результаты дали импульс к поиску и изучению альтернативных систем формирования и стабилизации металлических наночастиц. Более жестко структурированными и соответственно более перспективными в плане их практического применения были полимерные матрицы на основе мультислойных полиоктадецилсилоксанов (PODS) [158, A5, A9, A16]. В эти системы были введены соединения золота (AuCl_3) и платины (K_2PtCl_4 и $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) с последующим восстановлением ионов металлов с помощью Na_2BH_4 , H_2 , ультрафиолетового излучения (УФ), а также использовался способ самовосстановления металлических ионов (Таблица 2).

Таблица 2. Условия реакции и содержание металла в образцах [A5]

Обозначение образцов	Реакционная среда	Восстановитель и среда	Содержание металла, об. %	
			Общее ^{d)}	в наночастицах ^{e)}
PODS1-Pt(1) ^{a)}	вода/ацетон	самовосстановление	1.20	0.22
PODS1-Pt(2) ^{b)}	вода/этанол	H_2 , маточный раствор	0.80	- ^{f)}
PODS1-Pt(3)	вода/этанол	NaBH_4 , маточный раствор	0.76	- ^{f)}
PODS1-Pt(4)	вода/ацетон	H_2 , вода/ацетон	0.56	0.35
PODS1-Pt(5)	вода/ацетон	NaBH_4 , вода/ацетон	0.48	0.36
PODS1-Au(1) ^{c)}	вода/ацетон	самовосстановление	0.60	0.17
PODS1-Au(2)	вода/этанол	самовосстановление	0.80	0.14
PODS2/CPC-Au(3)	вода	NaBH_4 , вода	1.92	0.75
PODS2/CPC-Au(4)	вода	УФ, порошок	1.66	0.29

^{a)} K_2PtCl_4 был использован для приготовления of PODS-Pt1; ^{b)} $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ был использован для синтеза образцов PODS-Pt(2-5); ^{c)} AuCl_3 был использован для синтеза PODS-Au; ^{d)} по данным элементного анализа; ^{e)} определены из распределения по размерам; ^{f)} не определялись.

По сравнению с комплексами гидрогель/ПАВ, картина малоуглового рассеяния для PODS, содержащих металлические наночастицы благородных металлов, богаче брегговскими пиками (Рис. 4.7а и Рис. 4.9а).

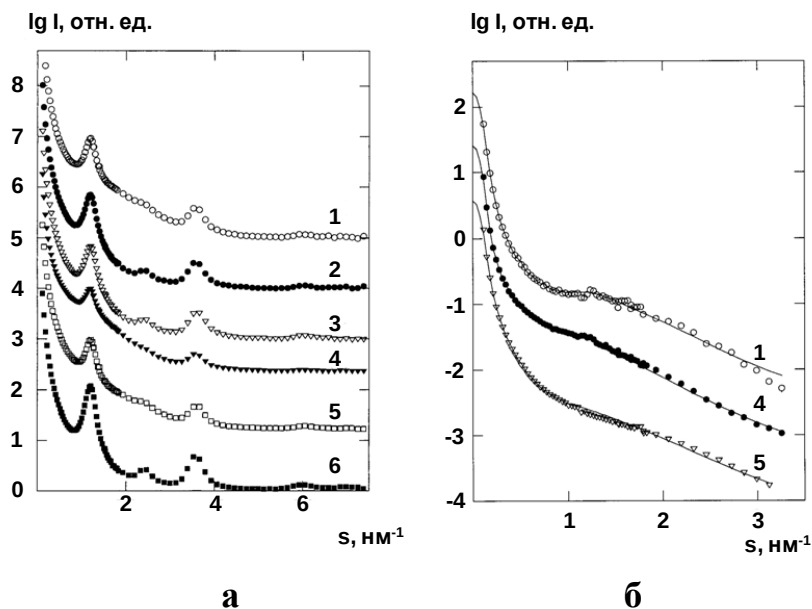


Рис. 4.7. Экспериментальные (а) и разностные - аномальный сигнал (б) кривые малоуглового рассеяния от мультислойных полиоктадецилсилоксанов: кривые 1 - 5 соответствуют образцам Pt1, Pt2, Pt3, Pt4 и Pt5 (Таблица 2), кривая 6 – исходный полиоктадецилсилоксан. Кривые на графиках разнесены по вертикали для лучшей визуализации.

Чтобы получить рассеяние только от наночастиц платины, были рассчитаны разностные кривые, то есть аномальный сигнал, по методике, описанной выше. Для образцов Pt2 и Pt3 не соблюдались необходимые условия получения устойчивого аномального сигнала: разность $\Delta_k(s)$ не была пропорциональна квадрату аномальной поправки для k -ой энергии и характеристический пик, соответствующий внутренней структуре сколлапсированного геля, сохранялся на кривой аномального рассеяния. То есть для образцов Pt2 и Pt3 не были получены надежные разностные кривые и, соответственно, для этих образцов не были рассчитаны распределения по размерам наночастиц платины. Объемные функции

распределения по размерам $D_V(R)$ для остальных образцов, содержащих наночастицы платины, представлены на Рис. 4.8.

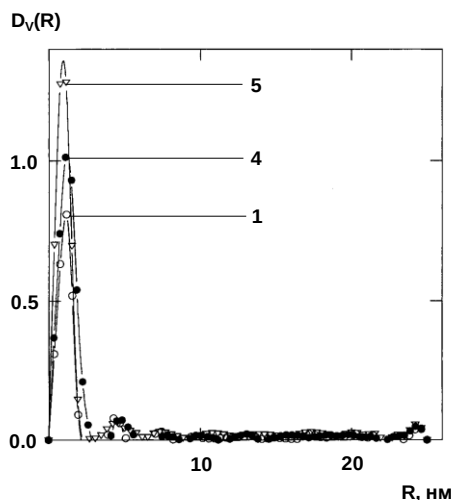


Рис. 4.8. Распределения по размерам наночастиц платины в мультислойных полиоктадецилсилоксанах для образцов Pt1, Pt4 и Pt5. Обозначения кривых такие же, как на Рисунке 4.7.

Как видно из Рис. 4.8, объемные распределения по размерам наночастиц платины в мультислойных полиоктадецилсилоксанах мало отличаются друг от друга. Основную фракцию (80%) представляют наночастицы платины с размерами 1 - 2 нм при незначительном присутствии более крупных наночастиц.

Для наночастиц золота в мультислойных полиоктадецилсилоксанах были получены существенно другие результаты (Рис. 4.9).

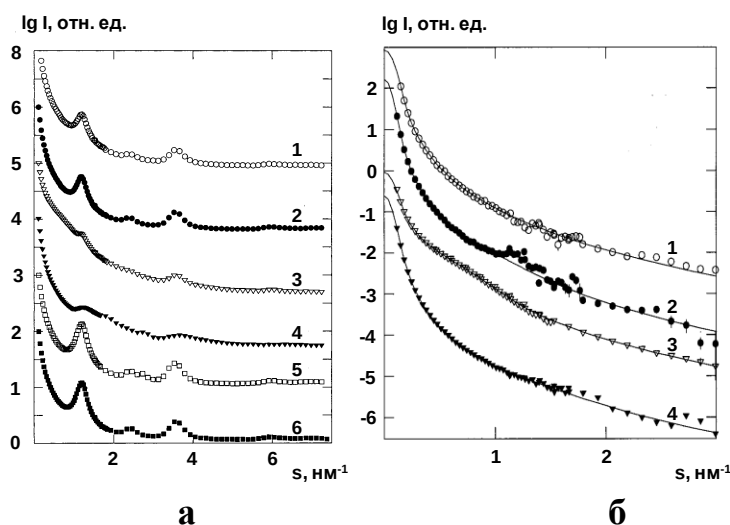


Рис. 4.9. Экспериментальные (а) и разностные - аномальный сигнал (б) кривые малоуглового рассеяния от мультислойных полиоктадецилсилоксанов,

содержащие наночастицы золота: кривые 1 - 5 соответствуют образцам Au1, Au2, Au3, Au4 и Au5 (Таблица 2), кривая 6 – исходный полиоктадецилсилоксан. Кривые на графиках разнесены по вертикали для лучшей визуализации.

Рассчитанные по разностным кривым (Рис. 4.9 а) распределения по размерам $D_V(R)$ для образцов, содержащих наночастицы золота, представлены на Рисунке 4.10. Образец Au5 (полиоктадецилсилоксан, содержащий СРС, но 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). Соответственно, для него не рассчитывались распределения по размеру.

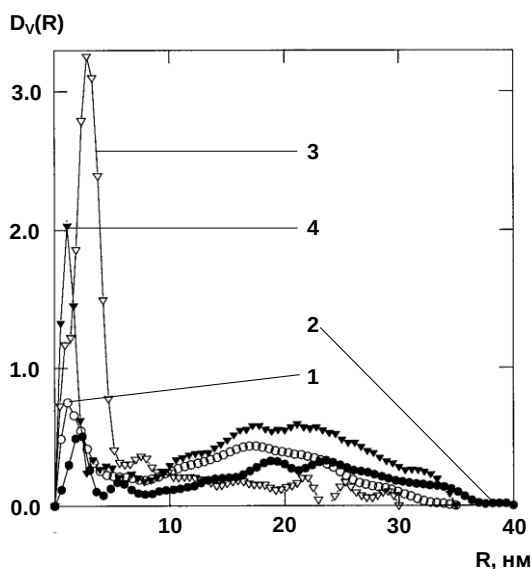


Рис. 4.10. Распределения по размерам наночастиц золота в мультисловых полиоктадецилсилоксанах для образцов Au1, Au2, Au3 и Au4. Обозначения кривых такие же, как на Рис. 4.7.

При анализе объемных функций распределения по размерам $D_V(R)$ для наночастиц золота прежде всего обращает на себя внимание присутствие фракций с крупными, до 40 нм частицами для образцов Au1 и Au2. Наночастицы золота в этих образцах были получены путем самовосстановления в смешанных растворах, которое произошло в течении 15 минут после введения AuCl_3 (Таблица 2). Количество мелких наночастиц относительно мало в этих образцах. То есть можно предположить, что рост частиц в Au1 и Au2 происходил бесконтрольно и скорее всего они располагались на поверхности PODS. Напротив, маленькие наночастицы

золота ($R < 5$ nm) сформировались в системе PODS/CPC (образец Au3), где восстановление происходило с помощью Na_2BH_4 в качестве быстрого восстановителя. Доля наночастиц с радиусами 3 нм в этом образце составила 70%. Присутствуют также наночастицы с радиусом 1.5 нм, которые представлены плечом на функции $D_V(R)$. То есть основная часть наночастиц в Au3 с радиусами 3 нм сформировалась из ядер, образованных в ходе восстановления (CPC)AuCl3(OH) (соль CPC и ион золота). Можно также предположить, что самые мелкие наночастицы образовались в силоксановых бислоях.

Для определения строения полимерных матриц и выяснения локализации наночастиц металла в полиоктадецилсилоксанах по брегговским пикам были вычислены структурные характеристики всех изученных систем (Таблица 3), а также рассчитаны центросимметричные профили электронной плотности $\rho(r)$ (Рис. 4.13).

Таблица 3. Структурные характеристики исходной системы PODS^{a)} и с восстановленными наночастицами платины и золота

Образец	s_1 , нм ⁻¹	L, нм	$\Delta/\bar{d}$, нм	$\bar{d}$, нм
PODS1	1.21	37	0.120	5.24±0.03
PODS2	1.21	37	0.120	5.24±0.03
Pt1	1.20	37	0.120	5.25±0.03
Pt2	1.21	36	0.120	5.23±0.04
Pt3	1.21	35	0.121	5.22±0.04
Pt4	1.21	38	0.117	5.22±0.04
Pt5	1.21	36	0.120	5.22±0.05
Au1	1.21	40	0.115	5.23±0.04
Au2	1.21	38	0.118	5.24±0.04
Au3	1.20	36	0.120	5.25±0.08
Au4	1.26	32	0.126	4.99±0.07
Au5	1.21	37	0.120	5.23±0.06

^{a)} PODS1 и PODS2 два образца PODS, полученные независимо друг от друга

Взаимное расположение этих пиков d , $d/2$, $d/3$... свидетельствует о ламеллярном характере упорядочения полимерной матрицы. Приближение кривой рассеяния от исходного PODS набором гауссовых кривых с индексацией пиков (пик четвертого порядка отсутствует) показана на Рис. 4.11.

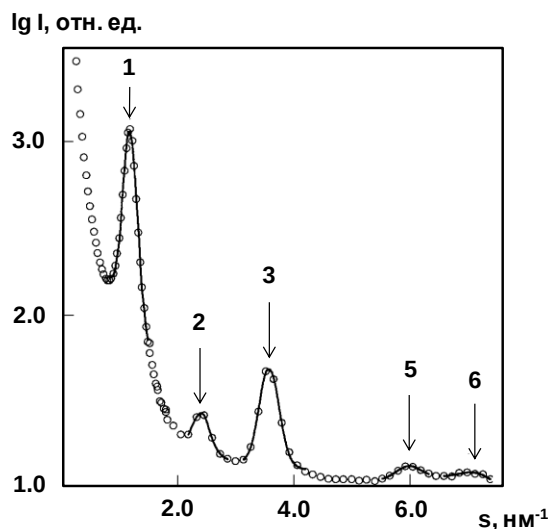


Рис. 4.11. Приближение кривой рассеяния исходным PODS (символы) набором гауссовых пиков (сплошные линии). Позиции пиков указаны стрелками, номера порядков вторичных рефлексов показаны цифрами. Выполнено с помощью программы PEAK [20]

Периодичность $d = 5.24 \pm 0.03$ нм (Таблица 3) в пределах экспериментальной ошибки одинакова для всей серии изученных образцов и совпадает по величине с теоретической толщиной бислоя $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{SiO}_x\text{-O}_x\text{Si}(\text{CH}_2)_{18}\text{CH}_3$. Существенно также то, что структура комплексов на основе мультислойных полиоктадецилсилоксанов, в отличие от систем гидрогель/ПАВ, в целом меняется значительно меньше в процессе восстановления металла (Рис. 4.7 и 4.9), подтверждая предположение о значительно большей структурной жесткости PODS по сравнению с лабильными системами сколлапсированных гелей.

Профили электронной плотности $\rho(r)$ в направлении, перпендикулярном плоскости ламелл, были рассчитаны с помощью одномерного Фурье-преобразования (1.22)

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

Здесь N число пиков, а s_l и $S(l)$ – положение и площадь 1-го брегговского пика, соответственно. Проблема выбора знаков амплитуд рассеяния $A(s,l)$ для изученных силоксановых систем решалась с помощью анализа всех комбинаций знаков амплитуды $A(s,l)$, визуальной оценки полученных профилей электронной плотности и исходя из известного химического строения молекул PODS (Рис. 4.12). Мы учитывали, что, во-первых, электронная плотность должна достигать максимума в гидрофильной середине бислоя из-за наличия здесь атомов кремния и во-вторых, на профилях $\rho(r)$ должен присутствовать значительный по ширине интервал практически постоянной плотности, соответствующий регулярно упакованным углеводородным хвостам полимера.

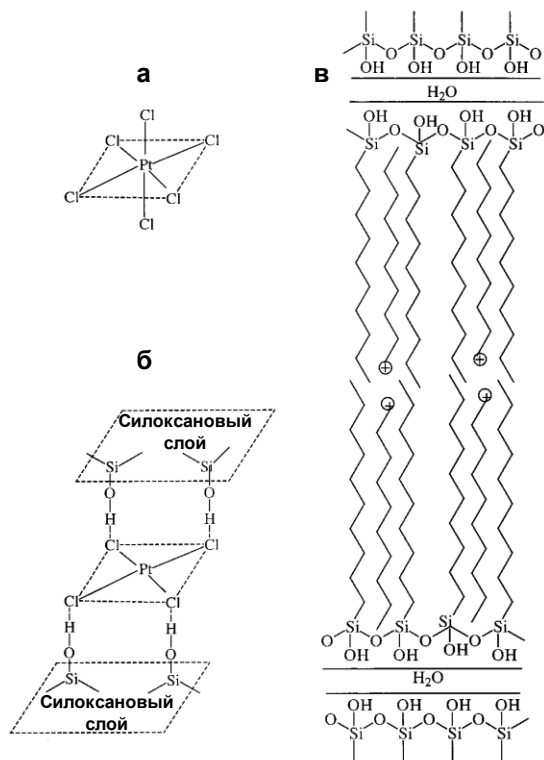


Рис. 4.12. Геометрия PtCl_6^{2-} иона (а); схематическое взаимодействие планарного иона K_2PtCl_4 с силанольной группой силоксанового бислоя (б); схематический вид гибридного комплекса PODS/CPC (в).

Профили электронной плотности для таких систем (Рис. 4.13) были получены с комбинацией знаков: $- + - - -$ для $l = 1, 2, 3, 5, 6$, которая наилучшим образом удовлетворяет сформулированным требованиям.

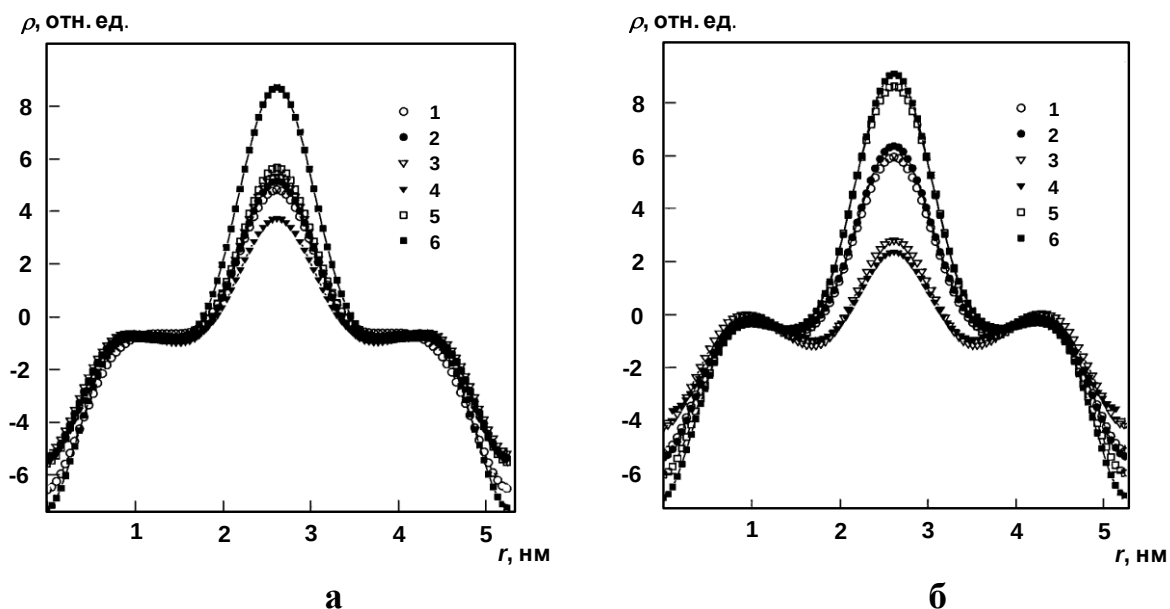


Рис. 4.13. Профили электронной плотности, в направлении, перпендикулярном к плоскости ламелл в образцах PODS: для образцов с Pt наночастицами (а), с Au наночастицами (б). Все профили смещены на константу для лучшего соответствия друг другу в диапазоне, соответствующем середине углеводородных цепей. 1 – 5: нумерация соответствует образцам Pt1-Pt5 и Au1-Au5, (6) – без металла.

Учитывая низкую разрешающую способность малоуглового рассеяния $2\pi/s_{\max}=1\text{ нм}$, 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 остается практически постоянной 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” (Рис. 4.12). Высота центрального пика для металлсодержащих

образцов уменьшается по сравнению с исходными PODS. Это связано с присутствием наночастиц в силиконовом 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. Последнее особенно характерно для гибридных PODS/CPC комплексов с синтезированными в них наночастицами золота. Для этих образцов характерно наличие большого количества крупных (до 40 нм) частиц, которые образуются в мицеллах CPC, располагающихся в гидрофобных областях бислоя (Рис. 4.12). Плотность этих регионов возрастает, что отражается в заметном изменении профиля электронной плотности.

В работе [A16] нами не только были получены аналогичные результаты, но и построена структурная модель, демонстрирующая процесс формирования наночастиц металлов в системах полиоктадецилсилоксанов. В отличие от работы [A5] в данной работе исследовались процессы формирования наночастиц платины в гибридных системах полиоктадецилсилоксанов: система I – PODS, модифицированный октадеценом (PODS/ODC); система II – PODS, модифицированный октадециламином (PODS/ODA). 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 . Полученные кривые малоуглового рассеяния от обеих систем показаны на Рис. 4.14.

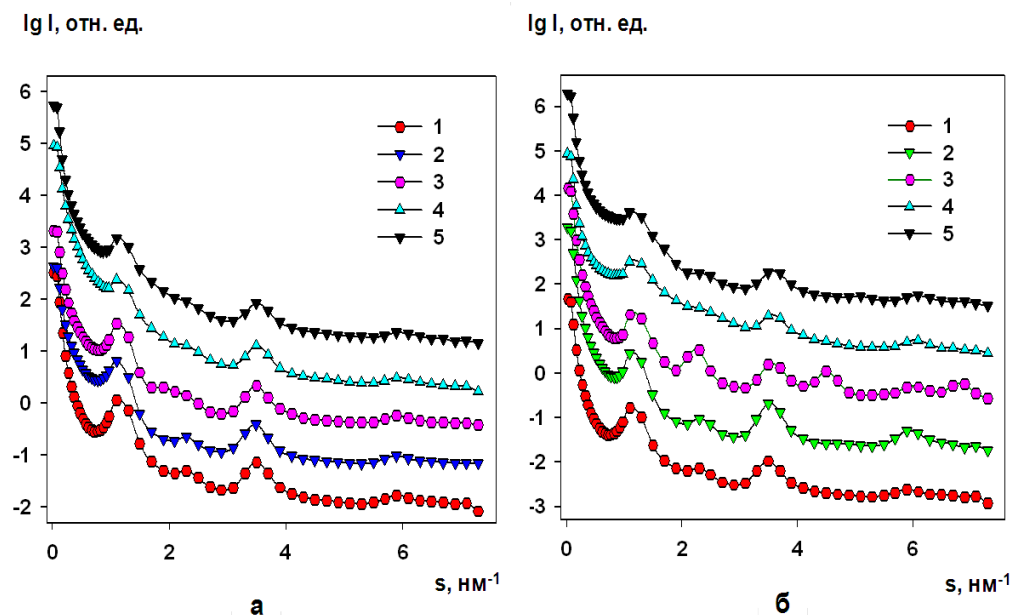


Рис. 4.14. Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния полимерными матрицами на основе мультислойных полиоктадецилсилоксанов - PODS/ODC (а); PODS/ODA (б): исходный PODS (1); модифицированный PODS (2); модифицированный PODS с соответствующими соединениями платины (3); после восстановления ионов платины с помощью NaBH_4 (4) и с помощью H_2 (5).

Метод малоуглового рассеяния позволяет провести для таких систем детальный структурный анализ, включающий определение по размерам металлических наночастиц и построение подробной структурной модели комплекса в целом. Прежде всего, 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. Структурные характеристики, вычисленные с помощью программы PEAK [20], представлены в Таблице 4.

Таблица 4. 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 ± 0.01	35 ± 2.0	0.12 ± 0.01	5.26 ± 0.05
Система I				
PODS/ODC	1.17 ± 0.01	35 ± 2.0	0.12 ± 0.03	5.35 ± 0.06
PODS/ODC+ соль Цейзе	1.18 ± 0.01	40 ± 2.0	0.11 ± 0.02	5.33 ± 0.06
PODS/ODC+ соль Цейзе- NaBH_4	1.19 ± 0.01	44 ± 4.0	0.11 ± 0.01	5.26 ± 0.05
PODS/ODC+ соль Цейзе- H_2	1.20 ± 0.03	39 ± 2.0	0.12 ± 0.01	5.24 ± 0.04
Система II				
PODS/ODA	1.20 ± 0.01	38 ± 3.0	0.12 ± 0.01	5.23 ± 0.03
PODSODA- $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \times 6\text{H}_2\text{O}$	1.21 ± 0.02	43 ± 4.0	0.11 ± 0.03	5.20 ± 0.06
PODS/ODA- $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \times 6\text{H}_2\text{O}$ - NaBH_4	1.19 ± 0.02	36 ± 5.0	0.12 ± 0.03	5.14 ± 0.07
PODS/ODA+ $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \times 6\text{H}_2\text{O}$ - H_2	1.20 ± 0.02	30 ± 5.0	0.13 ± 0.03	5.18 ± 0.05

Для обеих систем были также рассчитаны центросимметричные профили электронной плотности в направлении, перпендикулярном плоскости ламелл в этих структурах, с помощью одномерного Фурье-преобразования 1.22, которые показаны на Рисунке 4.15.

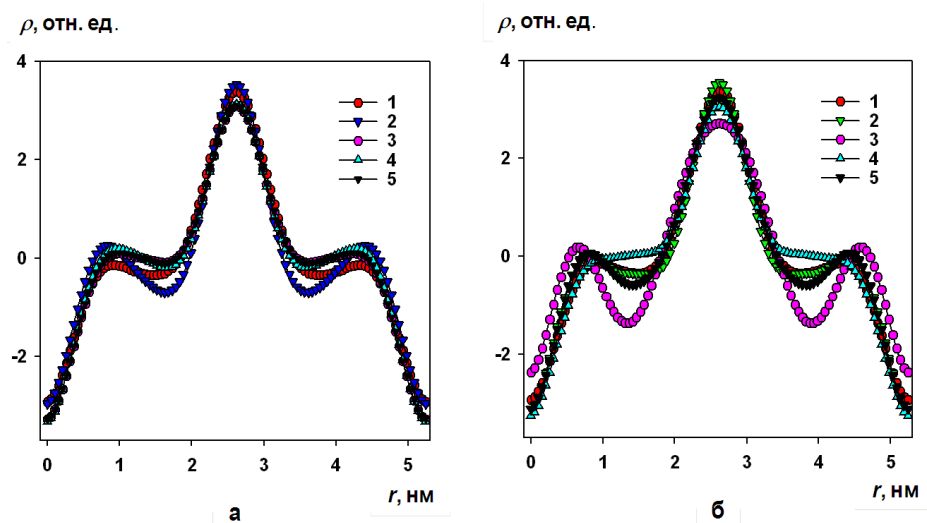


Рис. 4.15. Центросимметричные профили электронной плотности в направлении, перпендикулярном плоскости ламеллы в мультислойных структурах

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. 4.15 а и б, кривые 2). Введение соли Цейзе ($\text{K}[(\text{C}_2\text{H}_4)\text{PtCl}_3]\times\text{H}_2\text{O}$) 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 металлирования 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- H_2PtCl_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 PtCl_6^{2-} ионов в силоксановый бислой, а искажения структуры гидрофобного слоя происходят за счет образования молекул $(\text{PtCl}_6^{2-})(\text{ODAH}^+)_2$. Восстановление ионов Pt с помощью NaBH_4 приводит и к восстановлению структуры PODS, в то время как при использовании 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. Электронная микроскопия для этого образца (Рис. 4.16) показывает, что в основном в нем формируются наночастицы платины с диаметром 1 нм, которые расположены вдоль

силоксановых бислоев, в то время как в других образцах присутствуют наночастицы большего размера.

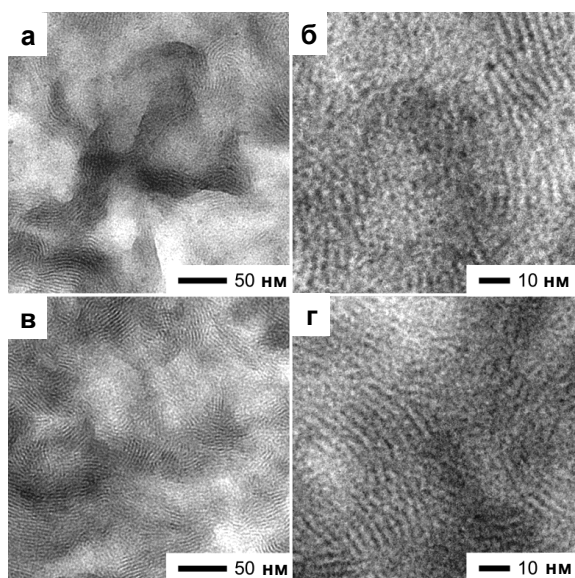


Рис. 4.16. Просвечивающая электронная микроскопия PODS/ODA- H_2PtCl_6 с наночастицами Pt, восстановленными с помощью NaBH_4 (а и б) и с помощью H_2 (в и г). Силоксановые бислои и наночастицы платины видны на изображениях ПЭМ в виде темных областей.

Распределения по размерам, рассчитанные по данным аномального малоуглового рассеяния показывают, что самые мелкие наночастицы платины образуют кластеры наночастиц внутри двойного бислоя PODS, размер которых соответствует размеру ламель (Рис. 4.17).

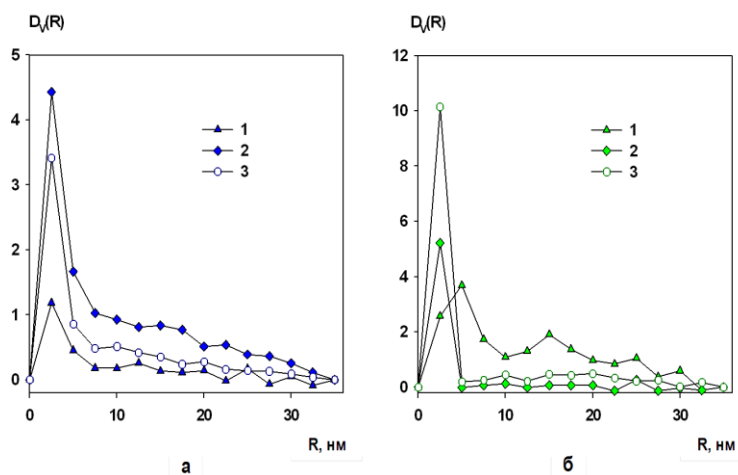


Рис. 4.17. Функции распределения по размерам в системах I (а) и II (б): для кластеров соединений платины (1) и после восстановления с помощью NaBH_4 (2) и H_2 (3).

В результате, совокупность данных малоуглового рассеяния и данных электронной микроскопии позволила нам предложить общую структурную

модель (Рис. 4.18), которая объяснила характерные особенности формирования наночастиц металлов в гибридных системах полиоктадецилсилоксанов и объединила экспериментальные данные, полученные для этого композита другими методами [A7].

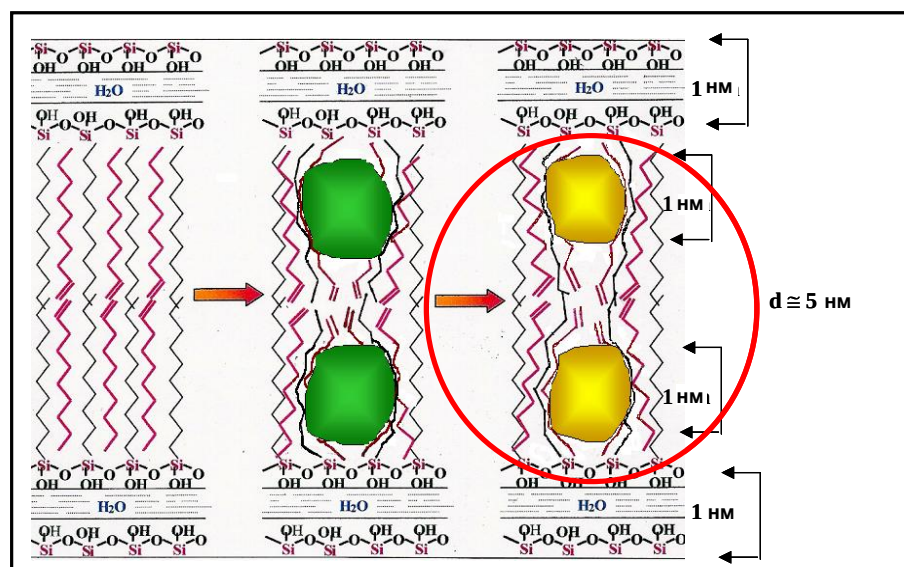


Рис. 4.18. Схематическое представление комплекса PODS после интеркаляции модификаторов ODC или ODA (цепи показаны красным цветом), введения соединения платины (зеленый цвет) и восстановления металлических наночастиц (желтый цвет).

Распределение по размерам показывает, что основной размер наночастиц платины равен 5 нм. Эти наночастицы представляют собой кластеры близко расположенных мелких наночастиц, размер которых по данным просвечивающей электронной микроскопии в среднем равен 1 нм. Эти наночастицы располагаются вдоль силоксановых бислоев, контрастируя их, оставляя при этом свободным область гидрофобных алкильных хвостов. Из-за низкой разрешающей способности малоуглового рассеяния мелкие наночастицы и на профилях электронной плотности и на кривых функций распределения по размерам видны

как единые рассеивающие объекты. Однако в целом профили электронной плотности дали полную структурную картину для этих систем, что до тех пор не удавалось сделать ни одним другим методом.

Таким образом, впервые методом малоуглового рентгеновского рассеяния, традиционного и аномального, удалось провести подробный структурный анализ многокомпонентного полимерного нанокомпозита и показать, как с помощью интеркаляции ODC или ODA можно успешно функционализировать полиоктадецилсилоксановые системы для контролируемого формирования в них наночастиц металла [A16].

В работе [A17] также были рассмотрены вопросы структурно-размерных эффектов формирования железосодержащих наночастиц в матрице силоксановых каучуков и показана их перспективность для разработки высокоэффективных и стабильных катализаторов.

4.1.3. Металлизированные мицелярные системы

Интересным примером возможностей малоуглового рассеяния для изучения сложных полимерных наносистем является исследование структуры металлизированных диблок ($\text{PEO}_{45}\text{-b-P4VP}_{28}$) и триблок ($\text{P4VP}_{29}\text{-b-PEO}_{273}\text{-P4VP}_{29}$) сополимеров [A18]. Эта работа явилась логическим продолжением наших исследований в области нанокомпозитов, содержащих металлические наночастицы и здесь впервые для таких систем был применен принцип *ab initio* моделирования для получения структурных моделей полидисперсных образцов.

В данной работе использовался комплексный подход и помимо аномального малоуглового рассеяния (АМУРР), были одновременно применены методы атомно-силовой микроскопии (АСМ), просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и рентгеновской дифракции (РД). Параллельное использование этих методов дало возможность получить взаимодополняющую и взаимоподтверждающую структурную информацию, что позволило избежать

неоднозначности в интерпретации экспериментальных данных. С помощью АСМ и ПЭМ были определены размеры мицелл сополимеров и размеры их ядер, содержащих наночастицы платины, а по данным РД, ПЭМ и АМУРР были рассчитаны распределения по размерам металлических наночастиц. Также впервые в этой работе методом малоуглового рентгеновского рассеяния удалось подробно описать локализацию наночастиц Pt в системах диблок и триблок сополимеров.

Исследование процессов формирования наночастиц платины в системах ди- и триблок сополимеров проводилось в кислой и щелочной среде при pH 2 и 10 с помощью двух восстанавливающих агентов NaBH_4 и N_2H_4 или их сочетания. Источником ионов платины служило соединение платины $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \times 6\text{H}_2\text{O}$. Кривые малоуглового рассеяния далеко от края полосы поглощения Pt для обеих систем при всех условиях восстановления металла показаны на Рис. 4.19.

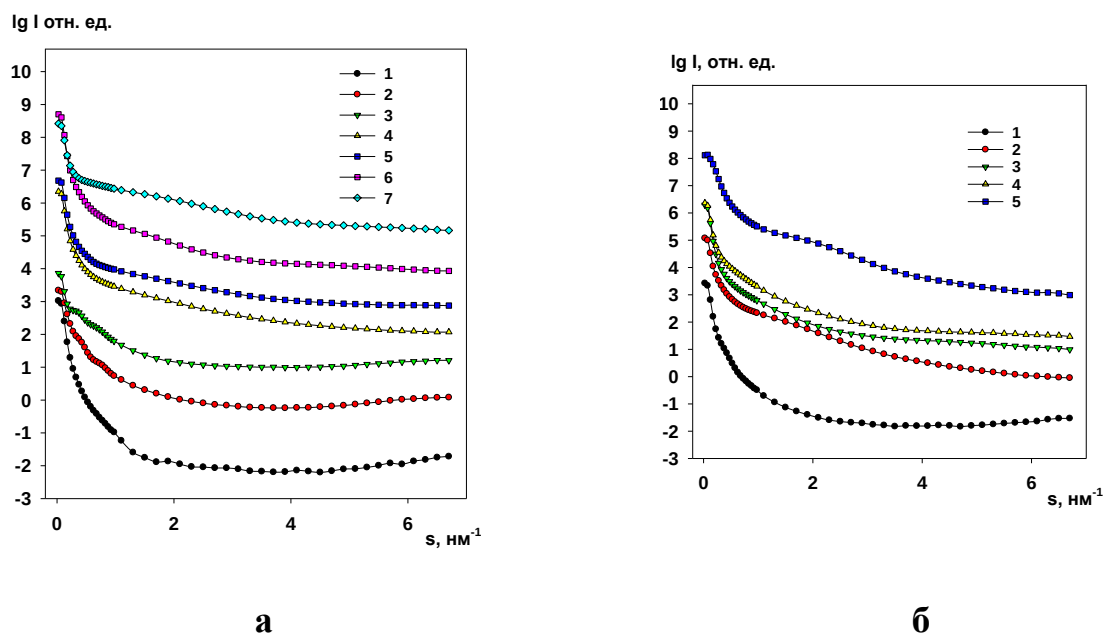


Рис. 4.19. Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния для систем $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}$ (а) и $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-P4VP}_{29}$ (б) сополимеров. В (а): 1 - исходный $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}$; 2 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-H}_2\text{PtCl}_6$ при pH 10; 3 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-H}_2\text{PtCl}_6$ при pH 2; 4 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-Pt}$ при pH 10, восстановление ионов Pt с помощью

NaBH₄; 5 - PEO₄₅-*b*-P4VP₂₈-Pt при pH 10 восстановление ионов Pt с помощью NaBH₄ и N₂H₄; 6 - PEO₄₅-*b*-P4VP₂₈-Pt при pH 10 восстановление ионов Pt с помощью N₂H₄; 7 - PEO₄₅-*b*-P4VP₂₈-Pt at pH 2 восстановление ионов Pt с помощью NaBH₄. В (б) 1 – исходный P4VP₂₉-*b*-PEO₂₇₃-*b*-P4VP₂₉; 2 - P4VP₂₉-*b*-PEO₂₇₃-*b*-P4VP₂₉-Pt при pH 10, восстановление ионов Pt с помощью NaBH₄; 3 - P4VP₂₉-*b*-PEO₂₇₃-*b*-P4VP₂₉-Pt при pH 10, восстановление ионов Pt с помощью NaBH₄ и N₂H₄; 4 - P4VP₂₉-*b*-PEO₂₇₃-*b*-P4VP₂₉-Pt при pH 10, восстановление ионов Pt с помощью N₂H₄; 5 - P4VP₂₉-*b*-PEO₂₇₃-*b*-P4VP₂₉-Pt при pH 2, восстановление ионов Pt с помощью NaBH₄.

Наличие довольно существенного центрального рассеяния для всех образцов, включая исходные блок сополимеры, свидетельствует о присутствии в образцах наноразмерных неоднородностей. Для исходных блок сополимеров это может быть объяснено межфазным разделением в объеме, характерным для таких систем [209, 210]. После инкорпорации в ядро мицелл соединение пластины может формировать кластеры, как это уже наблюдалось нами в предыдущей работе [A16], и рассеяние от этих кластеров вносит вклад в центральное рассеяние. После восстановления ионов платины на месте кластеров образуются более крупные наночастицы металла.

Для вычисления объемных функций распределения по размерам $D_V(R)$ были использованы разностные кривые аномального сигнала, полученные при вычитании из кривой рассеяния, измеренной при первой энергии (далеко от края полосы поглощения платины) и трех последующих, измеренных близко к краю полосы поглощения, за исключением образцов PEO₄₅-*b*-P4VP₂₈-H₂PtCl₆ при pH 10 и при pH 2 – для них первый аномальный сигнал был очень слаб и не использовался для вычислений (Рис. 4.20).

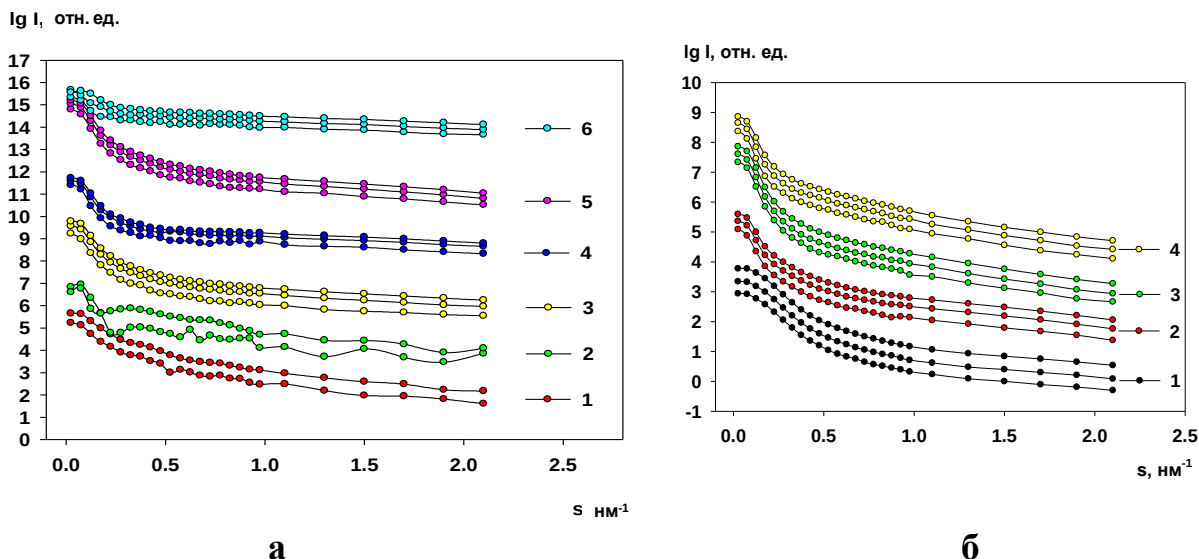


Рис. 4.20. Разностные кривые аномального сигнала для систем $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}$ (а) и $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-P4VP}_{29}$ (б) сополимеров. В (а): 1 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-H}_2\text{PtCl}_6$ при pH 10; 2 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-H}_2\text{PtCl}_6$ при pH 2; 3 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-Pt}$ при pH 10 H_2PtCl_6 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 ; 4 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-Pt}$ при pH 10 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 и N_2H_4 ; 5 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-Pt}$ при pH 10 восстановление ионов платины с помощью N_2H_4 ; 6 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-Pt}$ при pH 2 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 . В (б): 1 - $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-}b\text{-P4VP}_{29}\text{-Pt}$ при pH 10 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 ; 2 - $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-}b\text{-P4VP}_{29}\text{-Pt}$ при pH 10 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 и N_2H_4 ; 3 - $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-}b\text{-P4VP}_{29}\text{-Pt}$ при pH 10 восстановление ионов платины с помощью N_2H_4 ; 4 - $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-}b\text{-P4VP}_{29}\text{-Pt}$ при pH 2 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 . Группы разностных кривых разнесены по вертикали для лучшей визуализации.

Большинство разностных кривых были пропорциональны аномальному сигналу и были использованы для вычислений объемных распределений по размеру $D_V(R)$, которые показаны на Рис. 4.21.

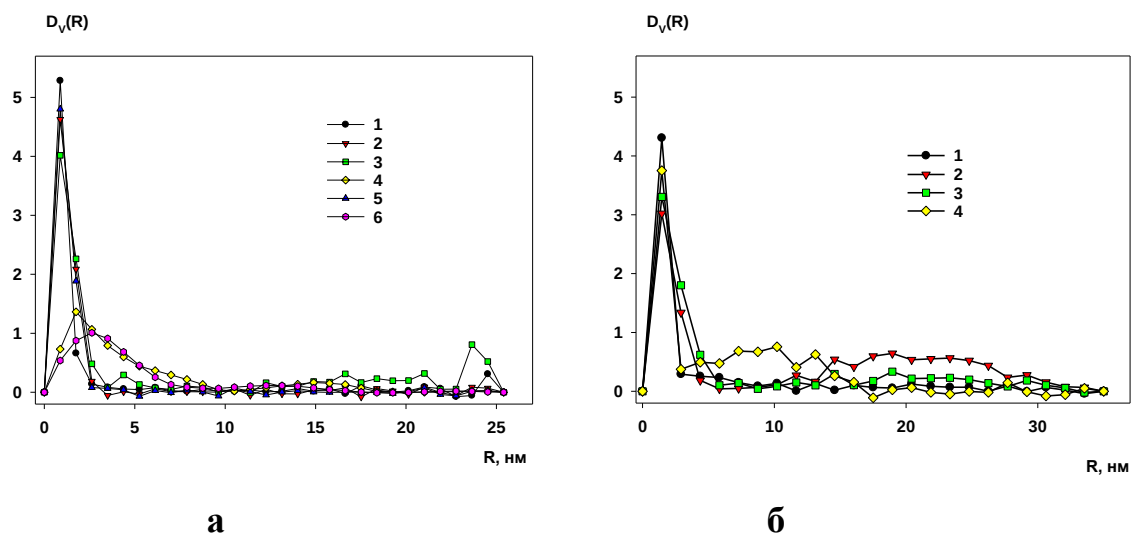
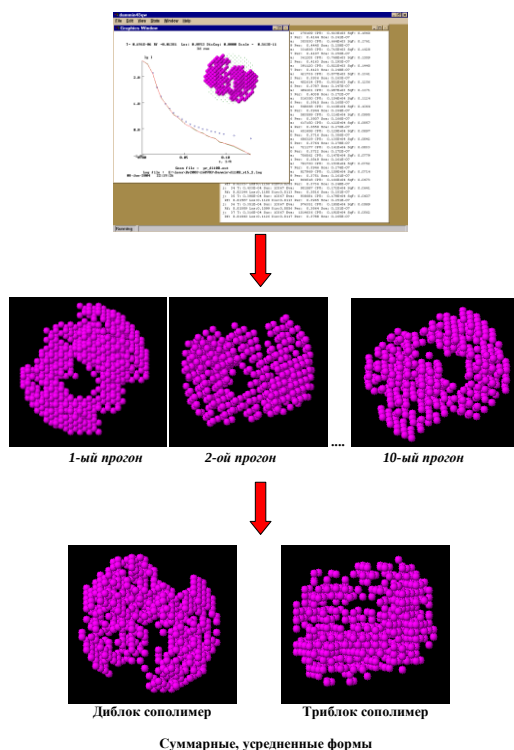


Рис. 4.21. Объемные распределения по размерам в системах $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}$ (а) и $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-P4VP}_{29}$ (б) сополимеров. В (а): 1 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-H}_2\text{PtCl}_6$ при pH 10; 2 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-H}_2\text{PtCl}_6$ при pH 2; 3 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-Pt}$ при pH 10 H_2PtCl_6 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 ; 4 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-Pt}$ при pH 10 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 и N_2H_4 ; 5 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-Pt}$ при pH 10 восстановление ионов платины с помощью N_2H_4 ; 6 - $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}\text{-Pt}$ при pH 2 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 . В (б): 1 - $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-}b\text{-P4VP}_{29}\text{-Pt}$ при pH 10 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 ; 2 - $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-}b\text{-P4VP}_{29}\text{-Pt}$ при pH 10 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 и N_2H_4 ; 3 - $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-}b\text{-P4VP}_{29}\text{-Pt}$ при pH 10 восстановление ионов платины с помощью N_2H_4 ; 4 - $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-}b\text{-P4VP}_{29}\text{-Pt}$ при pH 2 восстановление ионов платины с помощью NaBH_4 .

Для обеих систем сополимеров наблюдаются общие закономерности: распределения по размерам содержат узкие фракции мелких наночастиц и некоторое небольшое, но надежно детектируемое количество более крупных образований. При этом обращает на себя внимание, что наночастицы платины, формирующиеся из кластеров $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \times 6\text{H}_2\text{O}$, имеют меньшие размеры и

значительно более узкие распределения по размерам. В диблок сополимерах образуются более мелкие наночастицы платины. В обеих системах вне зависимости от условий формирования металлических наночастиц присутствует некоторое количество рассеивающих объектов с размерами порядка 10 нм и 40 нм.

Поскольку функции $D_V(R)$ содержат только небольшое количество крупных частиц, а разностные кривые аномального сигнала характерны скорее для монодисперсных соединений, впервые было проведено восстановление формы сложного композиционного материала, используя *ab initio* протокол, реализованный в программе DAMMIN [25]. Правомочность такого подхода была нами доказана компьютерным моделированием восстановления формы в присутствии в образце небольшого количества более крупных частиц – надежно восстановить форму можно, если количество крупных добавок не превышает 10%. Кроме того, для увеличения надежности восстановления было проведено множество (не менее 10 раз) независимых прогонов программы DAMMIN с последующим усреднением полученных форм с помощью программы DAMAVER [31], как это показано на Рис. 4.22.



а

б

в

Рис. 4.22. Схема процесса восстановления форм рассеивающих объектов в системах $\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}$ и $\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-P4VP}_{29}$ сополимеров: скрин-шот n -ого прогона определения форм (а), накопление промежуточных решений (б), усредненные формы (в).

Определенные с помощью аномального малоуглового рассеяния распределения по размерам металлических наночастиц платины показали, что образованные наночастицы имеют размер $d_n \approx 2-3$ нм и локализованы в мицеллах, образованных сополимерами. 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 (Рис. 4.23).

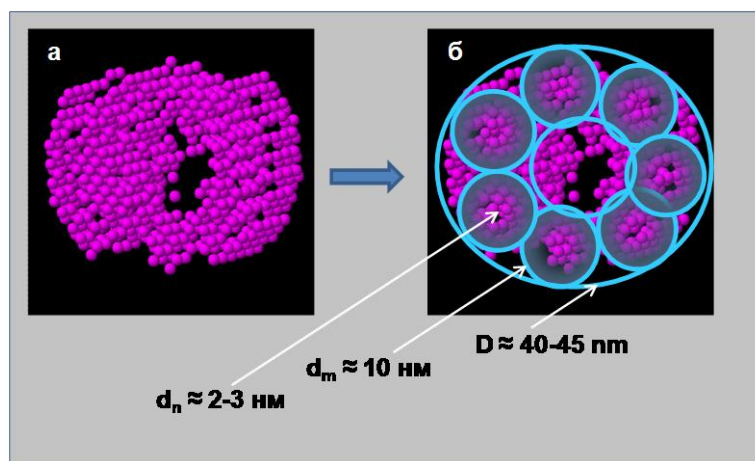


Рис. 4.23. Схема организации наночастиц платины в мицеллярных структурах: а - *ab initio* модель, полученная с помощью программы DAMMIN [25] и б - структурная модель комплекса ди-блок сополимеров.

Следует отметить, что поскольку при восстановлении формы использовался аномальный сигнал, то полученные *ab initio* модели представляют собой реплику мицеллярных структур, состоящую только из наночастиц платины. При этом наночастицы Pt, сформированные в мицеллах $\text{PEO}_{45}\text{-b-P4VP}_{28}$, систематически меньше по размерам, чем частицы восстановленные в мицеллах $\text{P4VP}_{29}\text{-b-PEO}_{273}\text{-P4VP}_{29}$:

Диблок сополимер: $D_{\text{outer}} \approx 40 \text{ нм} \pm 5 \text{ нм}$; $D_{\text{inner}} \approx 25 \text{ нм} \pm 5 \text{ нм}$

Триблок сополимер: $D_{\text{outer}} \approx 45 \text{ нм} \pm 5 \text{ нм}$; $D_{\text{inner}} \approx 25 \text{ нм} \pm 5 \text{ нм}$,

здесь D_{outer} и D_{inner} – внешние и внутренние диаметры полых сплюснутых структур.

В целом, предложенная структурная модель, полученная с помощью аномального малоуглового рассеяния объединила и объяснила совокупность данных атомно-силовой микроскопии, рентгеновская дифракции и просвечивающей электронной микроскопии.

Интересные результаты, демонстрирующие наличие общих закономерностей в процессах формирования наночастиц в мицеллах блок сополимеров, были получены нами при формирования магнитных наночастиц в мицеллах амфифильного блок сополимера поли(этиленоксид)-блок-поли(метакриловой кислоты) [A19]. В (PEO₆₈-*b*-PMAA₈) в водных растворах были синтезированы наночастицы оксида железа и наночастицы оксида железа, легированного кобальтом. Структура и композиция мицелл, содержащих гостевые молекулы солей металлов или наночастицы оксидов металлов были исследованы с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), динамического светорассеяния (ДСР), рентгеновской дифракции РД) и малоуглового рентгеновского рассеяния. В этой работе было показано, что стабилизированные с помощью диблок сополимера PEO₆₈-*b*-PMAA₈ магнитные наночастицы действительно стабильны и водорастворимы в воде и водно-солевых буферах. Это принципиально важно для использования наночастиц в биологии и медицине. Кроме того, распределения по размерам магнитных наночастиц в матрице PEO₆₈-*b*-PMAA₈ в этой работе было впервые определены двумя независимыми методами. Всего было рассмотрено 6 образцов с разным содержанием гостевых молекул. Их характеристики показаны в Таблице 5.

Таблица 5. Характеристики образцов диблок сополимеров $\text{PEO}_{68}\text{-}b\text{-PMAA}_8$, содержащих Fe и Co/Fe

Образец	Соединение металла	Внедрение при pH	Окисление при T, °C	Содержание металла, вес. %	Состав оксидов
Fe1	$(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3.3	50	Fe: 1.12	-
Fe2	$(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3.3; 5.0	50	Fe: 3.65	-
CoFe1	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3.3; 5.0	50	Fe: 2.10; Co: 0.44	$\text{CoFe}_5\text{O}_{8.5}$
CoFe2	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3.3; 6.0	50	Fe: 3.72; Co: 0.80	$\text{CoFe}_{4.9}\text{O}_{8.4}$
CoFe3	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3.3; 6.0	80	Fe: 3.50; Co: 0.76	$\text{CoFe}_{4.8}\text{O}_{8.2}$
CoFe4	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3.3; 6.0; 7.0	80	Fe: 4.2; Co: 1.22	$\text{CoFe}_{3.6}\text{O}_{6.4}$

Методом малоуглового рассеяния были исследованы образцы Fe2, CoFe2 и CoFe4, в которых содержание магнитных наночастиц было максимальным. Такой выбор был сделан потому, что в этом исследовании использовалось только традиционное малоугловое рассеяние и использовалось то обстоятельство, что электронная плотность оксидов металлов значительно выше электронной плотности $\text{PEO}_{68}\text{-}b\text{-PMAA}_8$ и, следовательно, рассеянием последнего можно было пренебречь и не прибегать к вычитанию рассеяния от полимерной матрицы для получения $I(s)$ только от соединений металлов. Именно поэтому их содержание должно быть максимальным. На Рис. 10 показаны экспериментальные кривые этих трех образцов и модельные кривые, рассчитанные программой MIXTURE [20] для определения размерных характеристик магнитных наночастиц.

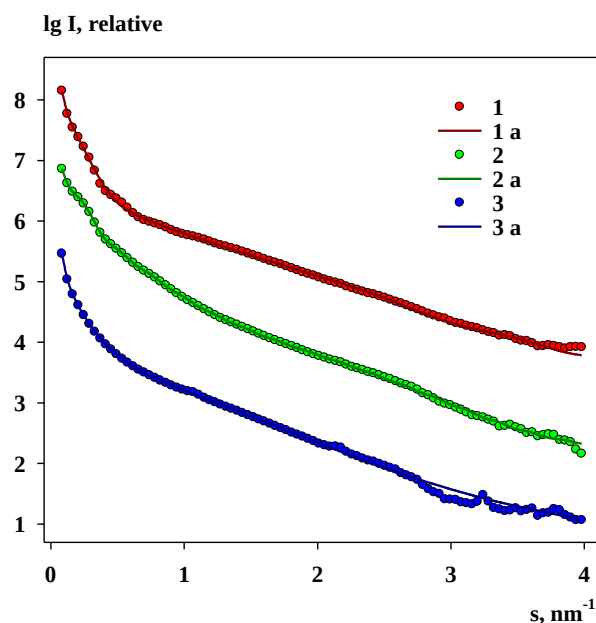


Рис. 4.24. Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния (кружочки) и модельные кривые, рассчитанные программой MIXTURE (сплошные линии) для образцов Fe₂ (1 и 1a), CoFe₂ (2 и 2a) и CoFe₄ (3 и 3a).

Программа MIXTURE [20] моделирует рассеяние от ансамбля гипотетических частиц различных размеров и формы так, чтобы рассчитанные от таких ансамблей наночастиц рассеяние, наилучшим образом соответствовало экспериментальным данным, варьируя при этом объемные фракции для каждого типа наночастиц. Наилучшее соответствие с экспериментальными данными в данном случае (Рис. 4.24) дали ансамбли наночастиц с размерными характеристиками, представленными в Таблице 6.

Таблица 6. Размерные характеристики композитов, содержащих образцов диблок сополимеров $\text{PEO}_{68}\text{-}b\text{-PMAA}_8$, содержащих Fe и Co/Fe

Образец		Фракция	Объемная доля фракции, %	R_{in} , нм	R_{out} , нм
1	Fe2	Сплошная сфера	77	-	1.3 – 1.4
		Полая сфера	13	3.2	7.7
		Полая сфера	10	2.5	20.0
2	CoFe2	Сплошная сфера	19	-	1.2
		Сплошная сфера	55	-	2.9
		Полая сфера	17	2.5	8.8
		Полая сфера	9	13.5	15.0
3	CoFe4	Сплошная сфера	52	-	1.5
		Сплошная сфера	40	-	3.4
		Полая сфера	8	3.4	26.7

Исходя из результатов моделирования с помощью программы MIXTURE, можно сделать вывод, что самые маленькие наночастицы образуют агрегаты, аналогичные тем, что были получены для диблок ($\text{PEO}_{45}\text{-}b\text{-P4VP}_{28}$) и триблок ($\text{P4VP}_{29}\text{-}b\text{-PEO}_{273}\text{-P4VP}_{29}$) сополимеров, как это показано на Рис. 4.23 [A18]. Из Таблицы 6 следует, что основная фракция наночастиц в $\text{PEO}_{68}\text{-}b\text{-PMAA}_8$ содержит наночастицы оксидов металлов с диаметрами 2.4 – 3.0 нм. Однако образцы, содержащие CoFe2 и CoFe4 демонстрируют также присутствие более крупных частиц с размерами 5.8 и 6.8 нм, соответственно, которые можно отнести к основным фракциям. По аналогии с работой [A18] эти более крупные частицы могут быть рассмотрены как сферические ядра мицелл, заполненные мельчайшими наночастицами оксидов металлов, и которые в свою очередь формируют большие полые конгломераты (Рис. 4.25).

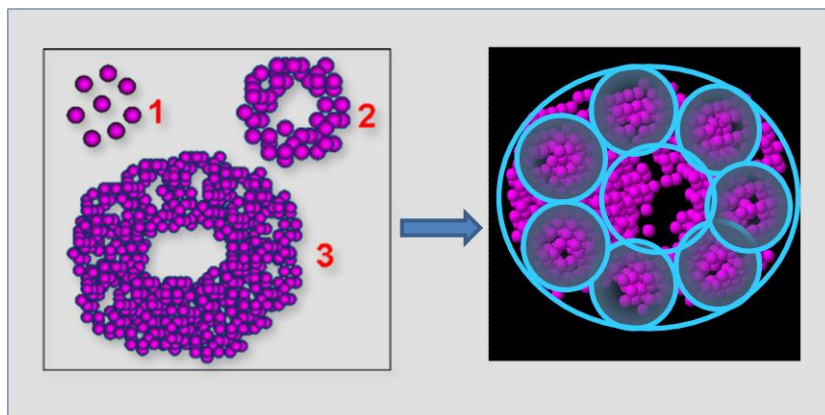


Рис. 4.25. Комбинация самых маленьких наночастиц ($R = 1.0 - 1.5$ нм), полых сфер ($R = 3.0 - 7.5$ нм) и крупных полых сфер ($R = 20.0 - 30.0$ нм). Сферические ядра мицелл, наполненные мелкими наночастицами металла, агрегируют, формируя большие полые сферы.

Объемные функции распределений по размерам для данных систем, рассчитанные независимо с помощью программы GNOM [19], показаны на Рис. 4.26.

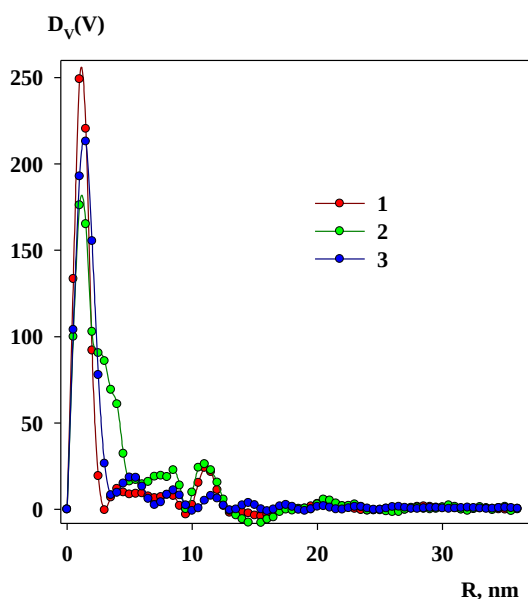


Рис. 4.26. Объемные функции распределения по размерам $D_V(R)$ наночастиц оксидов металлов в системе $\text{PEO}_{68}\text{-}b\text{-PMAA}_8$, полученные с помощью программы GNOM. Нумерация распределений такая же, как на Рис. 4.24.

Полученные с помощью программы GNOM объемные функции распределения по размерам $D_V(R)$ (Рис. 4.26) относятся только к наночастицам

оксидов металла, благодаря их высокой электронной плотности по сравнению с плотностью амфифильного блок сополимера, который в данном случае остается невидимым для малоуглового рассеяния. Все функции $D_V(R)$, показанные на Рис. 4.26, имеют мультимодальный характер и содержат основную фракцию маленьких наночастиц с размерами 2-3 нм в диаметре и некоторое количество более крупных образований. Радиусы инерции R_g и средние радиусы R популяций самых маленьких наночастиц, представленных в функциях распределений по размерам $D_V(R)$ собраны в Таблице 7. Следует отметить, что радиус инерции, рассчитанный программой GNOM, является z-усредненной величиной и определяется вкладом в малоугловое рассеяние всех присутствующих в образце размеров в соответствии с их объемной долей [4, 5]:

$$\langle R_g^2 \rangle_z = \int_0^{\infty} R_g^2(R) D_V(R) R^6 dR / \int_0^{\infty} D_V(R) R^6 dR = \int_0^{\infty} R_g^2(R) D_V(R) R^6 dR / \langle R^6 \rangle$$

Таблица 7. Размерные характеристики наночастиц оксидов металлов.

Образец		R_g , нм	R , нм
1	Fe2	26.73 ± 0.32	1.0
2	CoFe2	19.15 ± 0.05	1.0
3	CoFe4	30.12 ± 0.06	1.5

Среди прочих образец, содержащий CoFe2, демонстрирует наименьший z-средний радиус инерции R_g , в то же время основная фракция для этого образца имеет сложный профиль: эта фракция с очевидностью содержит две подфракции, но разрешающая способность метода не позволяет их разделить. Система с CoFe4 содержит наночастицы с наибольшим размером и обладает более широким профилем функции $D_V(R)$, что может быть объяснено формированием наночастиц

оксидов металлов при более высоких значениях pH, то есть в более набухших мицеллах, что полностью соответствует данным ПЭМ (Рис. 4.27).

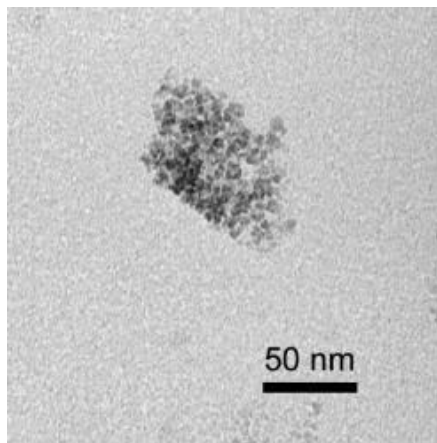


Рис. 4.27. ПЭМ изображение крупных ансамблей наночастиц оксидов металлов в системе CoFe4.

Расчет объемных распределений по размерам $D_v(R)$, выполненных с помощью программы GNOM, основан на аппроксимации формы наночастиц сплошными сферами. Именно поэтому было необходимо проведение моделирования изученных систем с помощью альтернативного подхода и программы MIXTURE, где можно использовать другие форм-факторы, в том числе форм-фактор полых сфер, как это показано выше. В целом результаты обеих методов хорошо коррелируют друг с другом и следует сделать вывод, что в амфифильном блок сополимере PEO₆₈-*b*-PMAA₈ формируются маленькие наночастицы оксидов металлов (маленькие сплошные сферы), которые заполняют ядра мицелл (более крупные сплошные сферы). Последние в свою очередь образуют крупные полые сферические агрегаты, то есть процесс металлизации амфифильных диблок и триблок сополимеров проходит по одному и тому же сценарию с формированием крупных ассоциатов наночастиц в виде полых сфер. Поскольку внутренние полости сфер гидрофильны за счет PEO фазы, такое строение ассоциатов может быть полезным при создания nano контейнеров, управляемых внешним магнитным полем, например для направленной доставки лекарственных средств в организме.

4.1.4. Формирование наночастиц металлов в композитах в среде сверхкритического CO₂

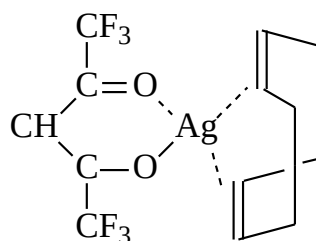
В создании новых полимерных соединений с заданными свойствами особое место занимают вещества в сверхкритическом (СК) состоянии. В частности, сверхкритический диоксид углерода, который обладает низкой вязкостью (до ~100 раз ниже, чем у жидкостей) и высоким коэффициентом диффузии (в ~100 раз выше, чем у жидкостей), успешно применяют в синтезе и модифицировании полимеров [211-213], а также в экстракции, хроматографии и т.д. [214]. Этими и другими специфическими физико-химическими свойствами сверхкритического CO₂ обусловлено его применение во многих процессах и технологиях. Так например, СК диоксид углерода не окисляется и инертен в присутствии свободных радикалов, поэтому его используют как растворитель при проведении различных химических процессов, включающих полимеризацию и поликонденсацию [215]. Кроме того, СК CO₂ дешев, доступен, не горюч, не взрывоопасен, химически инертен и по завершении синтеза спонтанно и полностью испаряется из реакционной системы, что особенно важно для медицинских и электрохимических приложений. СК CO₂ в качестве растворителя не участвует в передаче цепи в радикальной полимеризации, позволяет управлять его растворяющей способностью с помощью как температуры (обычный способ), так и давления. Кроме того, по окончании синтеза жидкий и СК CO₂ могут применяться в проточном режиме для удаления из полученных полимеров таких примесей как остатки мономеров, олигомеров, катализаторов [214].

Благодаря прекрасным транспортным свойствам, СК CO₂ является перспективной средой для импрегнации полимеров. Принципиальным преимуществом СК-импрегнации является абсолютная смачивающая способность СК среды (абсолютная проницаемость в любые открытые поры) [213]. Именно поэтому сверхкритический диоксид углерода все чаще используется для

формирования в полимерных матрицах наноразмерных частиц металлов и придания полимерным материалам новых функциональных свойств.

Методом малоуглового рентгеновского рассеяния нами исследовались особенности формирования в среде сверхкритического CO_2 наночастиц серебра в трех различных полимерных матрицах (поливинилпирролидона (ПВП), Хитозана и полиарилата (ПАР)) и структурные характеристики пленок ПАР, содержащих наночастицы серебра, платины и палладия, также сформированных в среде СК CO_2 [A20 - A24]. Ниже на примере формирование наночастиц серебра в матрице ПВП в среде сверхкритического CO_2 [A20] будут подробно показаны специальные подходы к решению структурных задач для сложных полидисперсных композитов.

Для импрегнации серебра в матрицу ПВП использовали комплекс (1,5-циклооктадиен)-1,1,1,5,5,5-гексафторацетилацетонат серебра CODAg[hfacac] (Aldrich, химическая чистота 99%), брутто формула $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{AgF}_6\text{O}_2$, структурная формула:



Для последовательного изучения процессов образования наночастиц серебра в матрицах ПВП методом малоуглового рентгеновского рассеяния были исследована структура самой полимерной матрицы, затем ПВП с импрегнированным в него $(\text{COD})\text{Ag}[\text{acac}]$ и образца с восстановленными наночастицами металла. Полученные экспериментальные кривые рассеяния представлены на Рис. 4.28.

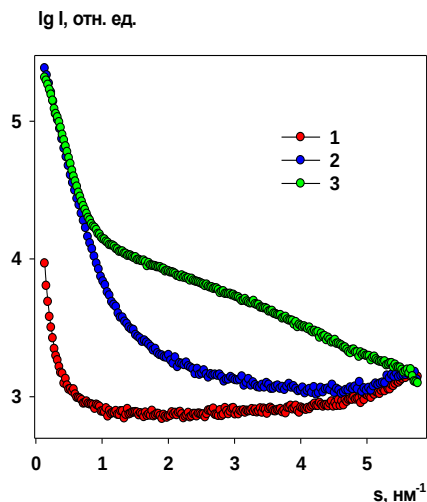


Рис. 4.28. Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния для ПВП: 1 – исходная ПВП матрица; 2 – ПВП матрица с импрегнированным 1,5-циклооктадиен)-1,1,1,5,5,5-гексафторацетилфакетонатом серебра; 3 – ПВП с восстановленными наночастицами серебра.

Профили МУРР для всех образцов характеризуются наличием центрального рассеяния, т.е. рассеяния в области самых малых углов, что свидетельствует о неоднородностях электронной плотности образцов, на которых происходит рассеяние. Для полимерной матрицы это рассеяние порами или внутренними пустотами матрицы, для двух других образцов центральное рассеяние представляет собой рассеяние от ПВП и введенного в него компонента серебра (кривая 2) и рассеяние от матрицы с восстановленными металлическими наночастицами (кривая 3).

Первым этапом структурного анализа для данных образцов является определение распределений по размерам рассеивающих неоднородностей, т.е. кластеров импрегнированного соединения серебра и восстановленных металлических наночастиц. Рассеяние исходной ПВП матрицей невелико и поэтому распределение по размерам пор исходного полимера в данном случае было невозможно. Однако, косвенно о размерах пор можно будет судить по размерам кластеров комплекса серебра, который благодаря более высокой электронной плотности эти поры контрастирует при их заполнении. Для определения распределений по размерам как восстановленных наночастиц серебра, так и импрегнированного в ПВП (COD)Ag[асас] необходимо вычесть рассеяние полимерной матрицей из общего рассеяния образцами (Рис. 4.29).

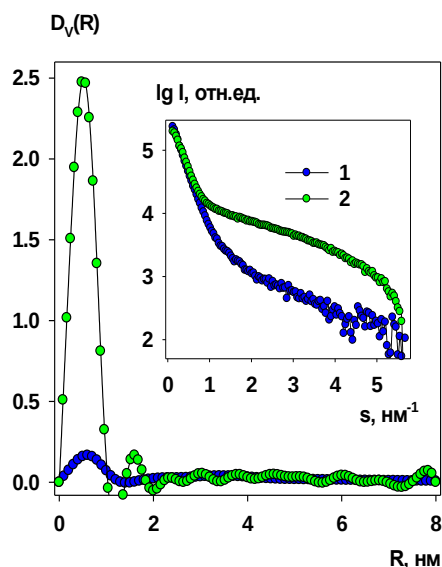


Рис. 4.29. Объемные распределения по размерам: 1 – нанокластеров компонента металла, внедренного в PVP матрицу; 2 – восстановленных в матрице наночастиц серебра. Врезка: 1 – кривая рассеяния от нанокластеров компонента металла, внедренного в PVP матрицу; 2 – кривая рассеяния от восстановленных в матрице наночастиц серебра.

На врезке Рис. 4.29 представлены полученные разностные кривые: 1 – кривая рассеяния от нанокластеров компонента металла, внедренного в PVP матрицу; 2 – кривая рассеяния от восстановленных в матрице наночастиц серебра. Эти разностные кривые были использованы для определения радиусов инерции R_g , а также для вычисления функций распределения по размерам $D_v(R)$ и для определения формы наночастиц металла, как в виде кластеров (COD)Ag[асас], так и восстановленного.

Рассчитанные с помощью программы GNOM [19] объемные функции распределения по размерам $D_v(R)$ для этих образцов показаны на Рис. 4.29. Основным размером наночастиц для обоих образцов является размер порядка $2R = 1$ нм с небольшим, но вполне детектируемым количеством крупных частиц с размерами до $2R = 15-16$ нм. Радиусы инерции, полученные при расчете функций распределения по размерам, равны соответственно $5.7 \text{ нм} \pm 0.2 \text{ нм}$ для кластеров комплекса серебра и $5.0 \text{ нм} \pm 0.05 \text{ нм}$ для наночастиц восстановленного металла, т.е. наночастицы восстановленного металла немного более компактны по сравнению с исходными кластерами использованного компонента металла. Следует учитывать, что радиусы инерции являются z-средними величинами и они несут в себе весовую долю более крупных частиц, присутствующих в обоих

образцах, т.е. посчитанные R_g должны быть больше радиусов основной фракции самых мелких наночастиц.

Обращает на себя внимание, что амплитуда функции $D_v(R)$ для восстановленных наночастиц металла значительно выше амплитуды объемной функции распределения для кластеров (COD)Ag[асас]. Поскольку электронная плотность чистого металла, как уже неоднократно указывалось, выше электронной плотности его соединений, а амплитуда функции $D_v(R)$ пропорциональна электронной плотности рассеивающих объектов, следует сделать вывод, что процесс восстановления серебра прошел успешно.

Вторым важным выводом из анализа полученных объемных функций распределения по размерам является то, что они сходны по форме для обоих образцов: основная фракция самых мелких наночастиц имеет практически один и тот же размер (из Рис. 4.29 видно что средний размер основной фракции нанокластеров комплекса серебра только незначительно отличается в сторону увеличения от средних размеров восстановленных наночастиц) и в обоих образцах присутствуют более крупные наночастицы. Следовательно, они формировались в одном и том же ограниченном пространстве, определяемым внутренней структурой полимерной матрицы, ее пора́ми.

Как видно из Рис. 4.29 распределение по размерам в основной фракции наночастиц очень узкое, а количество крупных наночастиц невелико, т.е. распределения имеют практически монодисперсный характер. Поэтому была предпринята попытка с помощью программы моделирования пространственной структуры частиц по данным рассеяния DAMMIN [25] определить форму наночастиц кластеров (COD)Ag[асас] и наночастиц серебра. Основным преимуществом метода является то, что вычисление формы происходит *ab initio*, т.е. не требует никаких дополнительных сведений об исследуемом объекте кроме максимального размера и функции $p(r)$ и, следовательно, не требуется никаких

предварительных гипотез о структуре, тем самым не внося никаких субъективных факторов в расчеты.

Особенностью применения *ab initio* метода и программы DAMMIN в данной работе впервые является использование разных участков экспериментальной кривой малоуглового рассеяния для восстановления разноразмерных форм, содержащихся в исследуемых образцах. Кривая малоуглового рассеяния несет в себе информацию и о форме и о внутреннем строении частиц [4, 5]. Каждый участок кривой соответствует рассеянию определенных размеров: информация о самых больших размерах и, следовательно, о форме частиц, заложена в начальной части кривой, а структуру внутренних неоднородностей частицы можно определить из ее средней части. На больших углах рассеяния кривая интенсивности соответствует структуре на атомном уровне разрешения и недоступна для исследования методом малоуглового рассеяния из-за низкой интенсивности и малой информативности данных. Исходя из этого, в настоящей работе мы использовали соответствующие участки кривой рассеяния для получения информации как о форме самых мелких наночастиц, так и о конфигурации их агрегатов или кластеров. Для определения в целом структуры и формы наночастиц и их кластеров или агрегатов расчеты проводились в области модулей векторов рассеяния в интервале $0.07 < s < 5.0 - 5.2 \text{ нм}^{-1}$, т.е. практически на полной экспериментальной кривой рассеяния. Не использовалась при расчетах, однако, та часть кривой, которая соответствует большим углам и которая является областью с повышенным статистическим шумом, влияющим на стабильность решения задачи. Для определения формы индивидуальных наночастиц отсекалась начальная часть экспериментальных кривых рассеяния (область полидисперсности и крупных образований) и вычисления в результате проводились в интервале $1.75 < s < 5.2 \text{ нм}^{-1}$.

Основным критерием для возможности применения метода *ab initio* на разных участках кривых рассеяния является существование на этих участках

достаточно протяженной области Гинье (sR_g) < 1.3, где выполняется закон Гинье $I_{exp}(s) = I(0)\exp(-s^2R_g^2/3)$ [5]. Нами были получены следующие значения радиусов инерции R_g , посчитанные с использованием приближения Гинье:

I. Образец с импрегнированным (COD)Ag[acac]:

5.9 ± 0.04 нм; $sR_g = 0.793 \div 1.32$ для кластеров (COD)Ag[acac];

0.8 ± 0.07 нм; $sR_g = 1.47 \div 1.63$ для индивидуальных наночастиц.

II. Образец с восстановленным металлом:

5.0 ± 0.05 нм; $sR_g = 0.679 \div 1.41$ для кластеров наночастиц;

0.7 ± 0.01 нм; $sR_g = 0.995 \div 1.32$ для индивидуальных наночастиц.

Значения sR_g , учитывая полидисперсность образца, являлись вполне приемлемыми для определения форм этих рассеивающих объектов, кроме индивидуальных частиц кластеров комплекса серебра. Для последних интервал значений sR_g выходит за рамки допустимых значений, поэтому форма индивидуальных наночастиц в этих кластерах не рассчитывалась.

Следует заметить, что как и в случае вычисления радиусов инерции с помощью программы GNOM (см. выше), R_g агрегатов и отдельных наночастиц восстановленного металла оказались несколько меньше, чем для кластеров (COD)Ag[acac], что еще раз подтвердило, что при восстановлении металла происходит уплотнение используемого соединения.

Функция распределения по расстояниям $p(r)$ для кластеров комплекса серебра, кривая рассеяния от полученной с помощью программы DAMMIN пространственной структурной модели и сама *ab initio* модель этого образца показаны на Рис. 4.30.

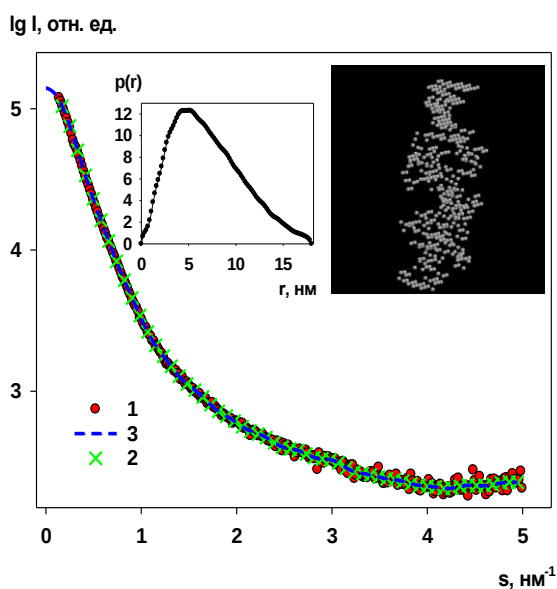


Рис. 4.30. Восстановленные формы кластеров комплексона серебра в матрицах ПВП: 1 – экспериментальная кривая МУРР; 2 – кривая экстраполяции в нулевой угол при расчете функции $p(r)$ программой GNOM; 3 – кривая рассеяния от *ab initio* модели. На врезке вверху слева: функция $p(r)$ для данного образца. На врезке сверху справа: пространственная модель кластеров комплексона серебра.

Кластеры комплекса серебра в матрице ПВП представляют собой удлиненные рыхлые спиралевидные тела с максимальным размером (длиной) 16 нм и поперечным сечением порядка 5-6 нм. Для полученной модели $\chi = 1.41$, что является хорошим результатом. Исходя из полученной структурной модели можно заключить, что кластеры комплекса серебра не состоят из выраженных отдельных наночастиц. Кроме того, не было найдено надежного интервала Гинье для расчета формы таких индивидуальных частиц. Хотя на Рис. 4.30 можно видеть слабо выраженные области уплотнения в кластерах (COD)Ag[асас] (области, где возможно процесс восстановления серебра мог начаться еще на стадии импрегнации), в целом рассмотренные кластеры представляют собой сравнительно однородные по плотности образования, заполняющие собой поры полимерной матрицы и контрастирующие ее.

В случае восстановленного серебра методом *ab initio* были получены пространственные структурные модели как для индивидуальных наночастиц металла, так и для его агрегатов. Прежде всего были рассчитаны функции $p(r)$, соответствующие разным участкам кривых рассеяния. Они показаны на Рис. 4.31 а, б.

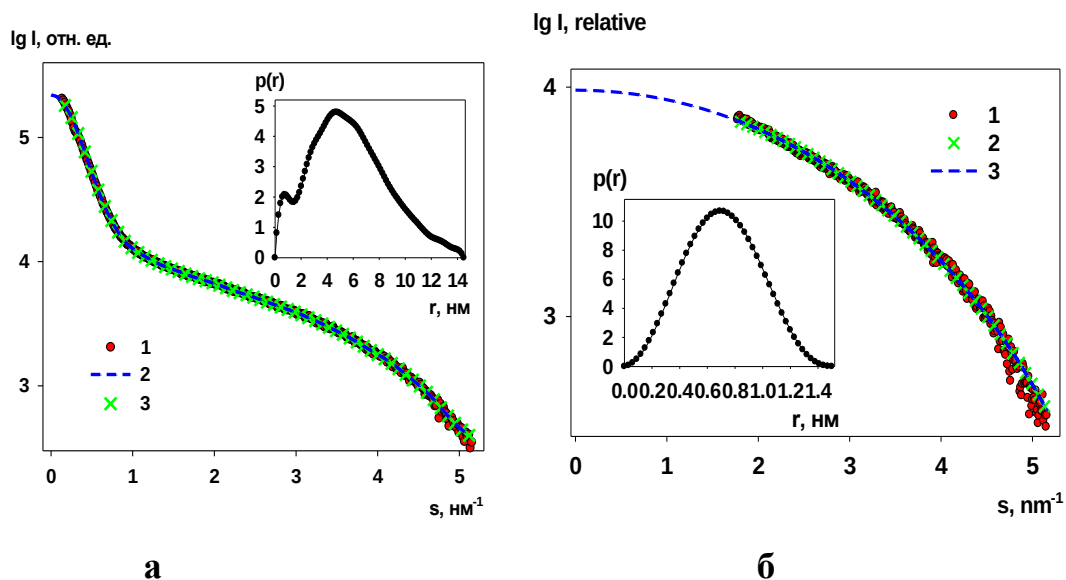


Рисунок 4.31. Экспериментальные и модельные кривые рассеяния, посчитанные для функции $p(r)$ для образца с восстановленными наночастицами серебра, посчитанные на разных угловых интервалах: а - интервал $0.07 < s < 5.2 \text{ nm}^{-1}$; б - интервал $1.75 < s < 5.2 \text{ nm}^{-1}$: 1 – экспериментальная 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.

Интересно сравнить функции $p(r)$, посчитанные на полной кривой для образцов, содержащих невосстановленное и восстановленное серебро. Обращает на себя внимание, что профиль $p(r)$ для образца, содержащего восстановленное серебро (Рис. 4.31 а), характеризуется двумя максимумами и максимальным размером $D_{\max} = 14.5 \text{ nm}$. Наличие двух максимумов означает, что в наночастицах имеется два разных основных размера: порядка 1 - 1.5 и 5-6 нм. С другой стороны, несимметричная форма кривой характерна для удлиненных тел [5]. Длиной частицы является ее максимальный размер $D_{\max} = 14.5 \text{ nm}$, а поперечным размером может быть размер 5-6 нм. Тогда размеры 1 - 1.5 нм может принадлежать неоднородностям внутри самой частицы. Размер этих неоднородностей совпадает

с размером основной фракции восстановленных наночастиц серебра (Рис. 4.29) следует предположить, что наночастицы металла со средним размером 1 нм образуют удлиненные агрегаты длиной порядка 14 нм и поперечным размером порядка 5-6 нм.

В то же время, посчитанная на том же интервале углов функция распределения по расстояниям $p(r)$ для образца с импрегнированным компонентом серебра (Рис. 4.30), имеет только один выраженный максимум и слабо выраженное плечо в области малых размеров порядка 1-2 нм. Отсюда следует, что отдельные частицы, формирующие кластеры соединения невосстановленного серебра, практически не образуются. Это соответствует проведенному нами ранее анализу участков Гинье на кривой рассеяния и полученной *ab initio* форме кластеров.

Восстановленные формы индивидуальных наночастиц серебра и их агрегатов, полученные с помощью программы DAMMIN, показаны на Рис. 4.32 вместе с рассчитанными кривыми рассеяния от *ab initio* моделей. Отклонение модельных кривых от экспериментальных χ в данном случае составляло 1.5 и 1.6, соответственно, для индивидуальных наночастиц серебра и для их агрегатов.

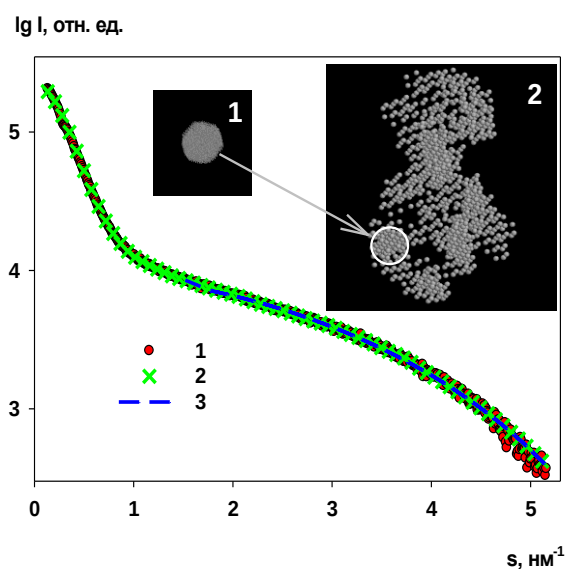


Рис. 4.32. Восстановленные формы индивидуальных наночастиц серебра и их агрегатов в матрицах ПВП: 1 – экспериментальная кривая МУРР; 2 – кривая рассеяния от *ab initio* модели для агрегатов наночастиц серебра; 3 – кривая рассеяния от *ab initio* модели для индивидуальных наночастиц серебра. На врезке сверху: 1 - пространственная модель

индивидуальных наночастиц серебра; 2 - пространственная модель агрегатов наночастиц. Масштабы моделей соответствуют друг другу.

Как видно из Рис. 4.32, восстановленное серебро находится в матрице ПВП в виде агрегатов длиной 14.5 нм и поперечным сечением порядка 5-6 нм, состоящих из участков различной плотности. Более плотные участки представляют собой практически сферические наночастицы с размерами около 1 нм. Их форма совпадает с формой, найденной для индивидуальных наночастиц серебра. В целом же структура агрегатов схожа со структурой кластеров (COD)Ag[асас], что свидетельствует о том, что они образовывались в одном и том же внутреннем пространстве полимерной матрицы в полостях пленки ПВП, которые не являются просто пустотами, а имеют сложную структуру и которую можно обнаружить, когда эти полости контрастируются (заполняются) либо соединениями серебра, либо восстановленными наночастицами металла. Таким образом именно структура полимерной матрицы определила форму и размер образованных в ней металлических наночастиц.

Полученные нами методом малоуглового рассеяния размеры кластеров (COD)Ag[асас] или восстановленного металла хорошо соотносятся с размерами пор, контрастированных невосстановленным серебром, по данным электронной микроскопии (Рис. 4.33).

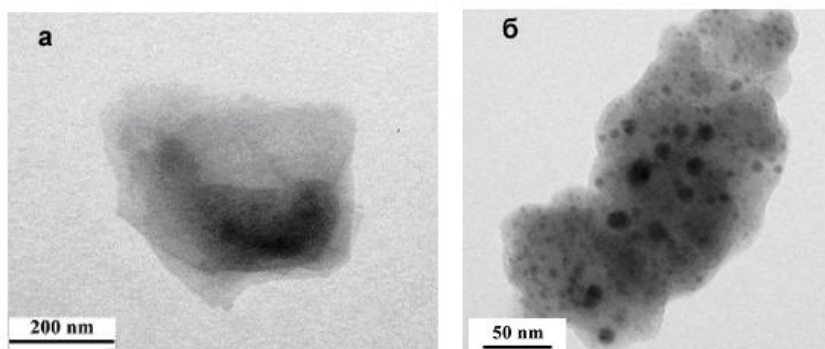


Рис. 4.33. Микрофотография частицы образца ПВП (а) и микрофоторафия частицы ПВП с невосстановленным металлом.

Кроме того, с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния мы показали, что процесс восстановления серебра в матрице ПВП в среде СК CO_2 прошел успешно. Этот вывод полностью соответствует спектрофотометрическим данным. Из Рис. 4.34 видно, что область поглощения пленки ПВП (кривая 1) находится ниже 300 нм и не мешает наблюдению изменений, происходящих в ходе введения в матрицу комплекса серебра. После импрегнации пленки ПВП комплексом CODAg[hfacac] наряду с собственной полосой поглощения комплекса ($\lambda_{\text{max}} = 324$ нм), возникает широкая новая полоса с максимумом при ~ 418 нм (полоса плазмонного резонанса наночастиц серебра [216]) (кривая 3), а после восстановления эта полоса является единственной (кривая 4). Следовательно, восстановление комплекса CODAg[hfacac] водородом прошло успешно, однако, такое восстановление начинается уже на стадии импрегнации, причем образуются наночастицы Ag разных размеров, что выражается в уширении соответствующих полос поглощения (кривые 3 и 4) [217]. Этот вывод также подтверждается приведенным выше *ab initio* анализом формы кластеров CODAg[hfacac] .

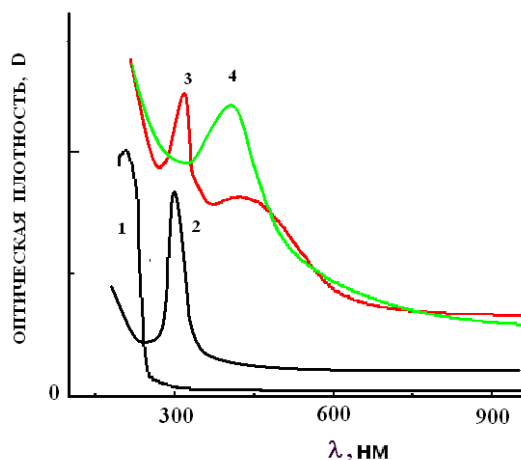


Рис. 4.34. УФ-спектры: исходной пленки ПВП (1); комплекса CODAg[hfacac] (раствор в метаноле) (2); пленки ПВП, импрегнированной комплексом CODAg[hfacac] (3); этой же пленки после восстановления комплекса водородом (4).

Таким образом, с помощью метода малоуглового рассеяния удалось выявить не только характер внутреннего строения заполненных восстановленным или невосстановленным серебром пор пленок ПВП, 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 и форму кластеров и наночастиц в составе этих кластеров, как это было продемонстрировано с помощью компьютерного моделирования в Главе 3 (раздел 2.4.2).

4.2. Структура квазикристаллических и аморфных полимерных матриц

Была показана не только принципиальная, но и практическая возможность формирования наночастиц металлов в структурированных матрицах. Поскольку внутренняя структура полимерных комплексов определяет размер и распределение по размерам формируемых наночастиц, поиск специфических структурированных сред не прекращается и в настоящее время. Малоугловое рассеяние как метод неразрушающего контроля сыграл существенную роль в этом поиске. Кроме того, в процессе структурных исследований полимерных матриц и благодаря этим исследованиям метод совершенствовался и развивался. В данном разделе мы приведем несколько наиболее ярких примеров, когда возможности МУРР были существенно расширены и впервые применены к определению структуры полидисперсных соединений.

4.2.1. Полые наноструктуры, образованные ι - и κ -каррагинанами в комплексе с поверхностно-активными соединениями

Комплексы полиэлектролитных гелей с противоположно заряженными поверхностно-активными веществами (ПАВ) оказались весьма полезными в качестве формирующих и стабилизирующих сред для металлических наночастиц. Как было показано выше, такие структурированные и металлизированные системы пригодны для использования в различных приложениях в физике, химии, нанотехнологии и других. Однако особый интерес вызывают матрицы, которые можно применять в медицине, биологии или пищевой промышленности, то есть

для живых систем. В этих случаях желательно, чтобы и сама матрица имела природное, биологическое происхождение. К веществам, которые могут быть полезными для формирования наночастиц или служить наноконтейнерами для лекарств, можно отнести целлюлозу, хитозан, жидкокристаллические структуры ДНК, каррагинаны и другие. Нами методом малоуглового рассеяния были исследованы ι - и κ -каррагинаны, которые представляют собой природные, содержащие сульфогруппы полисахариды, полученные из различных видов морских красных водорослей (*marine red algae*) [218]. 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 [219, A25]. Благодаря способности образовывать гель, каррагинаны, особенно ι - и κ -каррагинаны, широко используются в фармакологии и пищевой промышленности [220].

Для ι -каррагинана нами было показано, что при взаимодействии с ионным ПАВ макромолекулы полисахарида образуют регулярную ламеллярную структуру [A25]. Дальнейшим шагом было исследование методом малоуглового рентгеновского рассеяния процессов коллапса и структур самоорганизующихся комплексов при взаимодействии ι - и κ -каррагинанов (car) с катионным ПАВ цетилпиридин хлоридом (CPC) при разных концентрациях полисахарида и CPC [A26]. Молярное соотношение CPC/(car) для ι - и κ -каррагинанов варьировалось от 0.2 до 2.0. Исходная концентрация полисахаридов определялась соотношением m_d/m_s , где m_d и m_s - массы сухого и набухшего полимера, соответственно. Были исследованы 2 серии образцов: при низких соотношениях m_d/m_s ($m_d/m_s = 0.0035$ для ι -каррагинана и 0.0037 для κ -каррагинана) и при высоких m_d/m_s ($m_d/m_s = 0.01$ и для ι - и для κ -каррагинанов).

Начиная с молярного соотношения $\text{CPC}/(\text{car}) = 0.2$, гели i - и κ -каррагинаны коллапсируют с возникновением на кривых малоуглового рассеяния упорядоченных мотивов (Рис. 4.35).

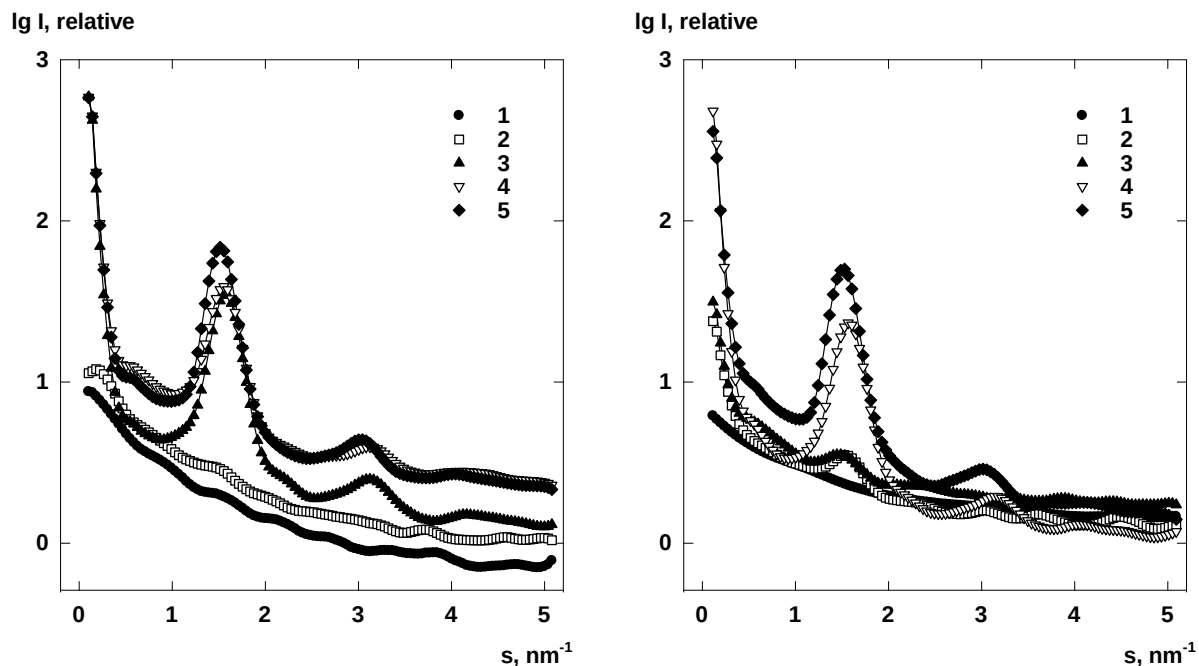


Рис. 4.35. Типичные кривые малоуглового рассеяния от комплексов i -каррагинанов/CPC (слева, $m_d/m_s = 0.0035$) и κ -каррагинанов/CPC (справа, $m_d/m_s = 0.0037$): (1) – исходный гель, (2-5) – соответствуют $\text{CPC}/\text{car} = 0.2, 0.4, 1.0$ и 2.0 , соответственно.

Амплитуда центрального рассеяния и амплитуда брегговских пиков на кривых малоуглового рассеяния возрастает с увеличением концентрации CPC, как это хорошо видно из Рис. 4.35. Анализ структурных характеристик комплексов по брегговским пикам был проведен с помощью программы PEAK [20] и были выявлены следующие закономерности:

- Периодичность упорядоченных элементов комплексов d равна ≈ 4 nm для всех систем. Этот параметр не зависит ни от концентрации полимера, ни от количества ПАВ.

- Размер кристаллитов L равен 33 - 40 нм для i -каррагинана и 24 –31 нм для κ -каррагинана.
- Степень разупорядоченности Δ/d равен 0.10 - 0.13, что указывает на присутствие хорошо структурно организованных областей в составе комплексов. При этом степень упорядочения не зависит от концентрации СРС, но от концентрации ПАВ зависит количество квазикристаллических зон в образцах.
- Исходя из размеров кристаллитов, было посчитано, что упорядоченные области содержат от 8 до 10 периодов для i -каррагинана и от 6 до 8 для κ -каррагинана.
- Взаимное расположение пиков на кривых рассеяния соответствует ламеллярному характеру упаковки в комплексах.
- Характеристический период d комплексов равен двойной длине молекулы СРС, т.е. слоевая система комплексов образуется за счет бислоев СРС.

Аналогичные результаты были получены при высоких соотношениях $m_d/m_s = 0.01$ для обоих каррагинанов.

Для предварительной оценки внутренней структуры самоорганизующихся комплексов i - и κ -каррагинанов с СРС были рассчитаны фрактальные размерности D_f с использованием интерактивной программы FRACTAL [21]. Программа позволяет выделять соответствующие области вектора рассеяния для вычисления коэффициентов степенной зависимости:

$$I(s) \propto \text{const} \times s^{-D_f}$$

D_f в системах каррагинанов с ПАВ были определены с использованием углового интервала до брегговских пиков, т.е. при $s < 1.0 \text{ нм}^{-1}$, но исключая область Гинье. Мы учитывали, что степенная зависимость должна наблюдаться в диапазоне углов, на котором выполняется соотношение $sx \gg 1$, где x представляет

собой характеристический размер рассеивающего объекта [5]. Выполнение этого условия указывает на присутствие фрактальных структур в образцах [221]. Поскольку рассеяние в системах каррагинанов/СРС возникает за счет образования кристаллитов (упорядоченных областей), то для определения необходимого углового диапазона использовалось условие $sL \gg 1$, где L - размер кристаллитов.

Из-за отсутствия брегговских пиков области, на которых определялись фрактальные размерности, были сравнительно узкими, но тем не менее, фрактальные размерности D_f можно было определить с хорошей точностью - пример их вычисления по кривым малоуглового рассеяния приведен на Рис. 4.36.

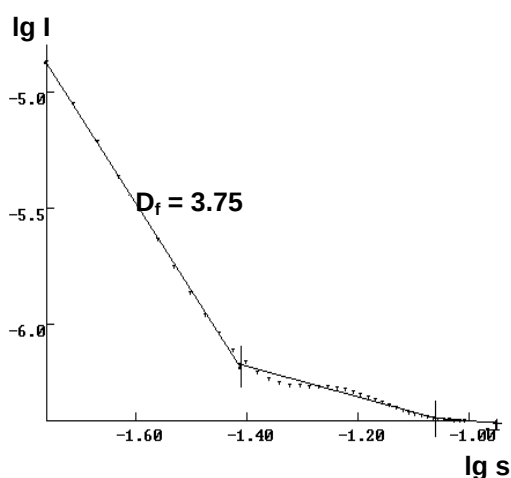


Рис. 4.36. Пример вычисления фрактальной размерности по кривым малоуглового рассеяния.

Фрактальные размерности для комплексов с низким содержанием СРС были типичными для гелей и сшитых полимеров (1.2 – 1.8) [222 - 224]. В то же время, значения D_f для систем с высокой концентрацией ПАВ или высоким содержанием полимера достигало ≈ 4 , что свидетельствует о присутствии в системе по крайней мере двух различных фаз. Можно предположить, что молекулы ПАВ служат в качестве дополнительных связей для полисахарида, что приводит к упорядочению структуры и появлению квазикристаллических зон с более высокой электронной плотностью. Однако, нельзя исключить возможность самосборки СРС в мицеллы внутри каррагинановых гелей аналогично тому, как

это происходит с ПАВ в растворе, но такие мицеллы не приводят к появлению брегговских пиков на кривых малоуглового рассеяния.

Таким образом, при взаимодействии i - и κ -каррагинанов с СРС происходит образование двухфазной системы с квазикристаллическими зонами (кристаллитами) с высокой электронной плотностью и с разупорядоченными областями с более низкой электронной плотностью.

Следующим шагом исследований было определение структуры образованных кристаллитов. Для этого по начальной части кривых рассеяния были определены функции распределения по расстояниям $p(r)$, которые показаны на Рис. 4.37.

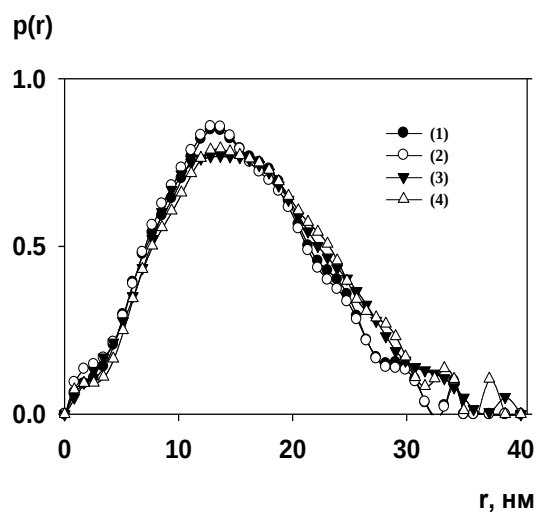


Рис. 4.37. Функции распределения по расстояниям для систем i - и κ -каррагинанов с СРС: 1 и 2 - i -каррагинан/СРС $m_d/m_s=0.0035$ и 0.01 , соответственно; 3 и 4- κ -каррагинан/СРС $m_d/m_s=0.0037$ и 0.01 , соответственно. Соотношение СРС/car = 1.0 для всех случаев.

Полученные формы функции $p(r)$ предполагает существование кристаллитов в виде удлинённых частиц с максимальным размером около 40 нм. Это значение соответствует размеру кристаллитов L , определенных из брегговских пиков. На начальном этапе моделирование структуры квазикристаллитов было проведено с помощью простых геометрических тел. Этот метод был развит в малоугловом рассеянии одним из первых и мог быть использован в том числе для образцов с некоторой полидисперсностью [5, 6]. Для этого нами с помощью программы CRY SOL [33] были рассчитаны интенсивности рассеяния от цилиндрических частиц с максимальными размерами порядка 40 нм и это рассеяние сравнивалось с

экспериментальными кривыми рассеяния комплексов (Рис. 4.38). Рассчитанные интенсивности $I(s)$ от системы полидисперсных сплошных цилиндров (кривая 2) хорошо соответствовали экспериментальному рассеянию (кривая 1) в самых малых углах, но сильно отличались от него при больших s . Небольшому пре-пику при $s = 0.6 \text{ нм}^{-1}$, отвечающего рассеянию формой, наиболее адекватно соответствовала модель полого цилиндра (кривая 3) и это соответствие можно было улучшить, введя 15% полидисперсность для внешнего радиуса цилиндра (кривая 4).

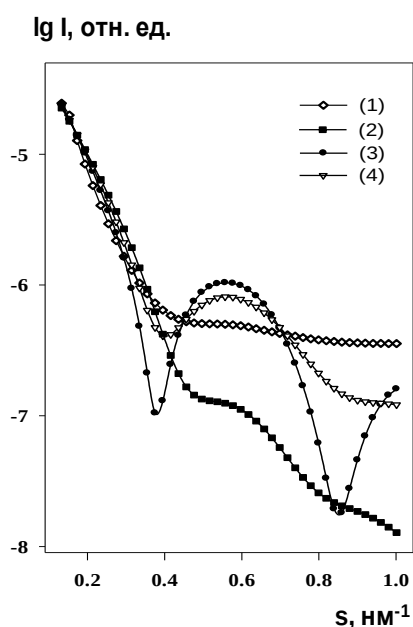


Рис. 4.38. Сравнение экспериментального рассеяния от комплекса *i*-каррагинанов/СРС при $m_d/m_s = 0.01$ и $\text{СРС}/\text{car} = 1.0$ (1) с кривыми рассеяния от системы полидисперсных сплошных цилиндров (2), рассеяние от монодисперсных полых цилиндров с $R_{\text{out}} = 8 \text{ нм}$, $R_{\text{int}} = 5 \text{ нм}$, $H = 35 \text{ нм}$ (3) и рассеяние от того же самого полого цилиндра с 15% полидисперсности по радиусу (4).

Хотя был проведен соответствующий поиск и для моделирования были испробованы разные простые тела, выбор цилиндрической модели для описания малоуглового рассеяния от квазикристаллических областей все-таки был в достаточной степени произвольным и можно предположить, что какие-то другие удлиненные формы также могли бы соответствовать экспериментальным данным в самых малых углах. Более того, найденная нами полая цилиндрическая форма неплохо приближает рассеяние только при малых s , то есть она является достаточно грубым приближением и соответствие рассеяния от этой формы экспериментальным данным на больших углах далеко от идеального. Более

детальное и независимое ни от каких искусственных моделей определение формы квазикристаллитов было впервые нами проведено для такого рода полидисперсных соединений с помощью *ab initio* протокола и программы DAMMIN [25]. Насколько нам известно, до этого в мировой научной литературе не были описаны попытки *ab initio* определения формы полидисперсного объекта по данным малоуглового рассеяния. Наши работы [A18] и [A20], рассмотренные выше, были выполнены позднее, хотя они также являлись пионерскими, так как анализировали форму наночастиц на разных структурных уровнях: в составе кластеров и отдельно. Кроме того, в них были предложены другие подходы к решению этой задачи.

Как для *l*-каррагинана/CPC, так и для *k*-каррагинан/CPC восстановленные *ab initio* формы представляли собой удлинённые спиралевидные тела, состоящие из изогнутых фрагментов, закрученных вокруг длинной оси частицы, а поперечное сечение этих фрагментов соответствовало толщине бислоя каррагинан/ CPC. При этом упорядочение было более явно выражено для образцов с высокой концентрацией каррагинанов. Модели для системы *l*-каррагинана/CPC показывали большее число витков спирали, чем для *k*-каррагинан/CPC. Типичные 3D стерео модели для обеих систем показаны на Рисунке 4.39.

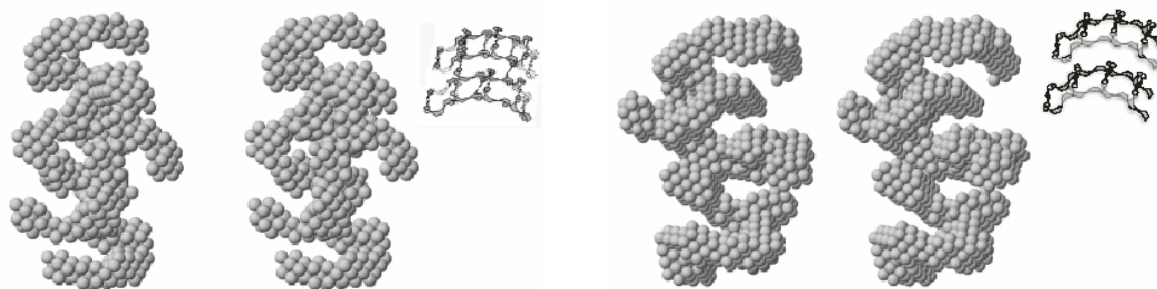


Рис. 4.39. Стереопары типичных *ab initio* моделей квазикристаллитов *l*- (слева) и *k*- (справа) каррагинан/CPC комплексов при соотношении CPC/car = 2.0, $m_d/m_s = 0.01$ для *l*-каррагинана, и при соотношении CPC/car = 1.64; $m_d/m_s = 0.01$ для *k*-каррагинана. Сбоку от восстановленных *ab initio* форм в том же масштабе

показаны схематические фрагменты каррагинан/СРС бислоя. Толщина бислоя равна 4 нм.

Полученные *ab initio* модели полностью коррелировали с результатами анализа брегговских пиков, а модельные кривые значительно лучше соответствовали экспериментальным данным со средней невязкой $\chi^2 \approx 2.0$, что является превосходным результатом, учитывая полидисперсность образцов.

В соответствии с полученными *ab initio* моделями полимерные цепи каррагинанов формируют цилиндр, стенки которого образованы спиралью с внешним радиусом 8 нм и длиной цилиндра порядка 40 нм. Эта супер-спираль стабилизирована бислоями СРС. Направление цилиндра перпендикулярно бислоям, что объясняет появление на кривых малоуглового рассеяния малоугловых рефлексов, характерных для ламеллярных структур. Эта модель также объясняет наблюдаемое различие в поведении *i*- и *k*-каррагинанов, обусловленное их химической структурой. Эти два полисахарида отличаются не только числом сульфатных групп, но также и положением этих групп вдоль полимерной цепи (рис. 4.40).

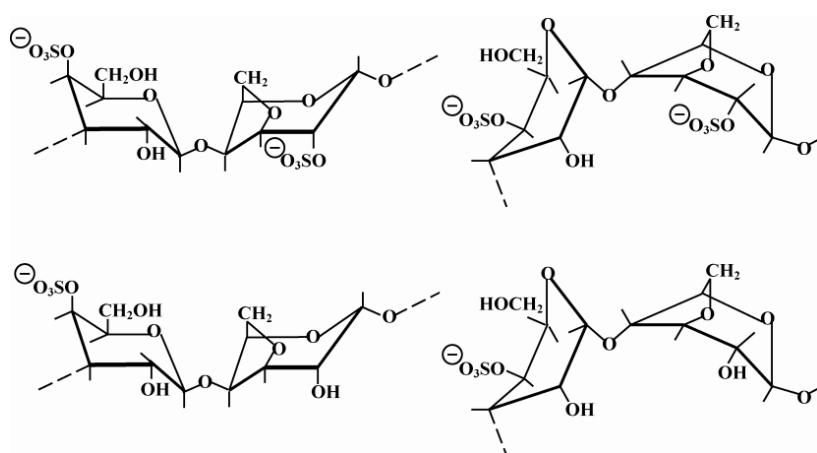


Рис. 4.40.

Схематическое изображение мономерного звена *i*-каррагинана (сверху) и *k*-каррагинана (внизу). Слева идеальная конформация; справа искаженная конформация «лодки»,

рассчитанная с помощью квантово-механического метода [225].

Обращает на себя внимание тот факт, что искаженная конформация «лодки», рассчитанная с помощью квантово-механического метода [225] с учетом окружающей среды и взаимодействия заряженных групп, указывает на возможность формирования спирали - элементы звена цепи каррагинанов изначально изогнуты. Учитывая все полученные структурные результаты, нами была предложена модель квазикристаллитов каррагинан/СРС, которая соответствует данным малоуглового рассеяния (Рис. 4.41).

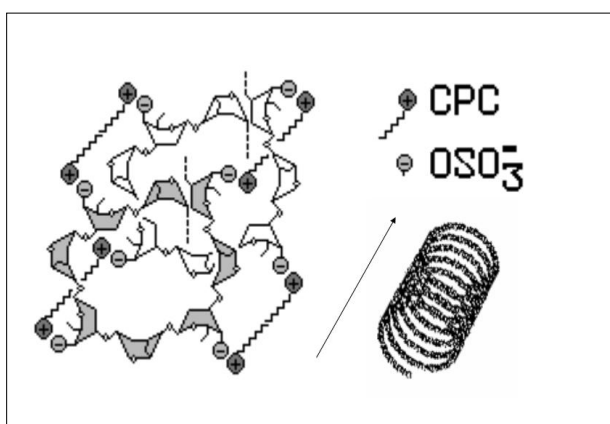


Рис. 4.41. Модель супер-спирали, представляющая каррагинан/СРС комплекс: слева схематично показаны 2 витка спирали, элементами которой являются мономеры каррагинана, и справа целая спиральная структура. Стрелкой показано направление оси спирали.

Поскольку большее число зарядов придает цепи большую жесткость, *ι*-каррагинан в соответствии со своим химическим строением должен формировать более упорядоченную, регулярную структуру, чем *κ*-каррагинан. Иными словами, благодаря второй заряженной группе в мономерном звене *ι*-каррагинана, спиральная структура комплекса должна содержать большее число поперечных связей, что объясняет более выраженную регулярную структуру по сравнению с *κ*-каррагинаном. Именно поэтому супер-спиральная структура *ι*-каррагинана содержит большее число витков спирали (8-10) в квазикристаллите. Для *κ*-каррагинана плотность зарядов ниже и это объясняет меньшее число витков спирали (6-8). Различие структурной организации *ι*- и *κ*-каррагинанов, таким образом, может быть представлено с помощью подробной схемы, показанной на Рис. 4.42.

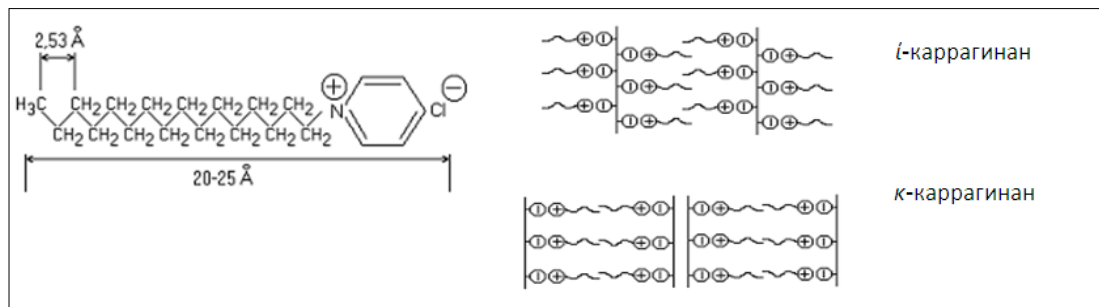


Рис. 4.42. Схема химического строения СРС и СРС/каррагинановых комплексов.

Безусловно супер-спиральная структура, показанная на Рис. 4.41, является идеальной и форма и размер квазикристаллитов СРС/каррагинановых комплексов может варьироваться из-за полидисперсности образцов. Но тот факт, что нам удалось смоделировать рассеяние начального участка кривой с помощью простого тела - полого цилиндра, свидетельствует о том, что эта полидисперсность невысока - для полностью полидисперсной системы такое моделирование было бы невозможно и рассеяние от форм-фактора рассеивающих объектов было бы полностью скрыто за счет его полидисперсности. Ограниченная полидисперсность образцов СРС/каррагинановых комплексов позволила нам впервые использовать *ab initio* подход для восстановления структуры квазикристаллитов. Проведенный нами компьютерный анализ (Глава 2) полностью подтвердил правомочность такого подхода.

В целом, по результатам проведенного структурного анализа малоугловых данных для СРС/каррагинановых комплексов можно сделать следующие выводы:

1. Супер-спиральная модель является идеализацией истинной структуры комплексов, поскольку каррагинан/СРС кристаллиты полидисперсны и по форме и по размерам, но степень полидисперсности для этих образцов невелика.

2. *Ab initio* метод, который был изначально разработан для моделирования только монодисперсных систем, может быть применен и к объектам с невысокой полидисперсностью для уточнения простых моделей.

3. Структурная организация кристаллитов, определенная из анализа центрального рассеяния, находится в полном согласии с независимым структурным анализом брегговских пиков.

4. Стандартная модель кристаллитов, которую можно представить стопкой бислоев каррагинан/СРС не соответствует данным рассеяния, т.к. подобные стопки ламелл не могут образовывать полые структуры.

5. Большинство гидроксильных групп каррагинанов расположены во внутренней области цилиндров. Они могут образовывать водородные связи с H_2O диполями. Поэтому связанная вода в системе каррагинан/ПАВ находится в основном внутри полых цилиндров.

6. Полые, содержащие воду наноструктуры, приготовленные из природных веществ, могут представлять большой интерес для использования в медицине и биологии.

Результаты нашего структурного анализа СРС/каррагинановых комплексов подтверждаются результатами многих других исследований, полученных другими физическими и физико-химическими методами. Так, образование спиральных структур было описано в литературе для нескольких заряженных и само-организованных полимеров [226, 227], в том числе и для каррагинанов [218, 228 - 230]. Более подробно дискуссия, касающаяся структуры не только каррагинанов, но и других заряженных, само-организованных полимерных систем приведена в нашей работе [A26], посвященной исследованиям, описанным выше. В заключении этой работы было впервые высказано предположение, что образование спиралей может быть одним из универсальных путей само-организации заряженных полимеров.

4.2.2. Гибридные полимерные наночастицы

Одним из ярких примеров возможностей малоуглового рассеяния и новых подходов в этом методе было исследование гибридных полимерных наночастиц,

сформированных с помощью гидролитической конденсации октадецилдиметил (3-триметоксисилилпропил) хлорида аммония (ODMACl) и тринатриевой соли триуксусной кислоты N (триметоксисилилпропил) этилендиамина (TANED) в процессе самосборки с неионным ПАВ на основе полиэтиленгликоля (PEG) с гидрофобным октадециловым хвостом (Brij) [A27]. В задачу исследования входило выяснение механизмов взаимодействия ODMACl, TANED и Brij в водных растворах в зависимости от молекулярной массы Brij, т.е. в зависимости от длины гидрофобных хвостов этого ПАВ. Кроме малоуглового рентгеновского рассеяния в этом исследовании использовались методы ядерного магнитного резонанса (ЯМР), динамического светорассеяния (ДСР), просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и рентгеновской дифракции (РД). Совместное использование указанных выше комплементарных методов позволило прояснить механизм формирования гибридных полимерных наночастиц, но кроме этого именно с помощью малоуглового рассеяния удалось определить детальную морфологию образованных наночастиц и определить зависимость их внутренней структуры от длины гидрофобных хвостов Brij.

Структура двух силанов, ODMACl и TANED представлена на Рис. 4.43.

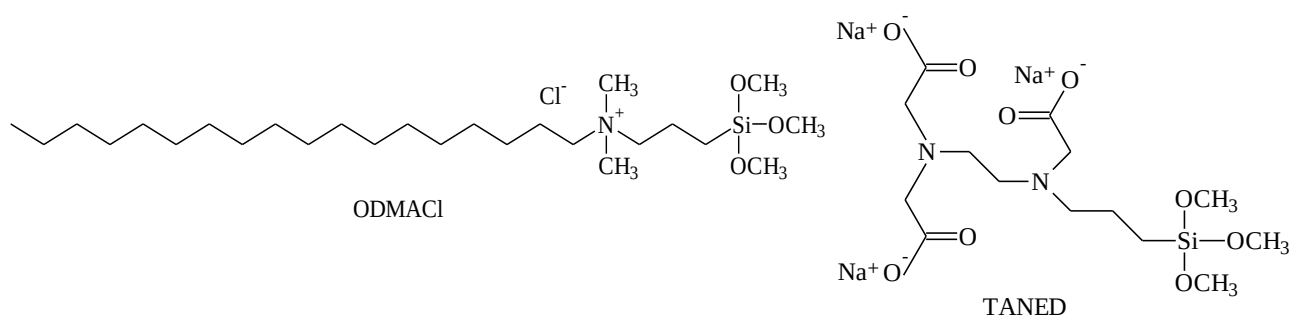


Рис. 4.43. Химическая структура ODMACl и TANED

Эти два силана при гидролитической конденсации образуют полимерные частицы, содержащие два типа функциональных групп. Ранее было показано, что

такие частицы могут служить для контролируемого формирования металлических наночастиц [231]. Однако, инкорпорация металлических соединений и восстановление металла приводит к сильному взаимодействию между полимерными наночастицами и к агрегации. Чтобы предотвратить агрегацию было предложено использовать неионные ПАВ, введение которых в поли(ODMACl-TANED) создает защитную гидрофильную оболочку вокруг частиц.

Гибридные наночастицы на основе ODMACl, TANED и Brij 76, Brij 78 или Brij 700 были созданы при молярном соотношении Brij:ODMACl = 1:6. При этом выдержка для установления равновесия составляла 2 или 24 часа. Затем добавлялся TANED. Детальное описание процесса создания гибридных наночастиц представлено в [A27], а обозначения и экспериментальные условия для исследованных нами образцов приведены в Таблице 8.

Таблица 8. Обозначения и экспериментальные условия для образцов

Образцы	Тип Brij	ODMAC:Brij (мол)	Время установления равновесия
O-B76-T2A	Brij76	1:6	30 мин
O-B76-T2A-2-осадок	Brij76	1:2	30 мин
O-B76-T2A-2-раствор	Brij76	1:2	30 мин
O-B78-T2A	Brij78	1:6	30 мин
O-B700-T2A	Brij700	1:6	30 мин
O-B78-T2	Brij78	1:6	2 часа
O-B78-T2B	Brij78	1:6	24 часа
O-B78-T2B-Fe ₂ O ₃	Brij78	1:6	24 часа

Общая схема образования гибридных полимерных наночастиц показана на Рис. 4.44.

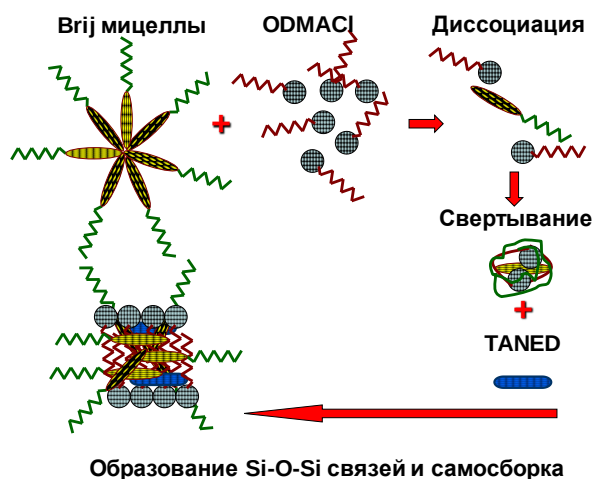


Рис. 4.44. Формирование гибридных наночастиц с помощью гидролитической конденсации двух силанов в присутствии Brij.

Известно, что самоорганизующиеся полимерные системы могут образовывать разнообразные наноразмерные структуры. Так, при низких концентрациях поверхностно-активных веществ как правило образуются сферические мицеллы, цилиндрические и плоские структуры, тогда как при высоких концентрациях ПАВ наблюдаются ламеллярные, кубические гексагональные упаковки [232-235]. Морфология самоорганизованных образцов в основном зависит от типа и соотношения гидрофильных и гидрофобных мотивов в них, но образование кристаллитов в гидрофильном блоке ПАВ может полностью изменить морфологию в целом [236]. В настоящей работе методом малоуглового рентгеновского рассеяния и рядом комплементарных методов (ЯМР, динамическое светорассеяние, ПЭМ, дифференциальная сканирующая калориметрия и рентгеновской дифракции) были изучены структурные особенности композитов на основе ODMACl, TANED и ПАВ (Brij 76, Brij 78 или Brij 700) в зависимости от длины гидрофильных хвостов Brij и от разных условий формирования гибридных наночастиц. В этом исследовании анализ данных малоуглового рассеяния оказался определяющим. Кривые МУРР демонстрируют большое разнообразие (Рис. 4.45), что отражает разнообразие структурных форм, сформированных при разных условиях и разных соотношениях входящих в состав гибридных наночастиц составляющих.

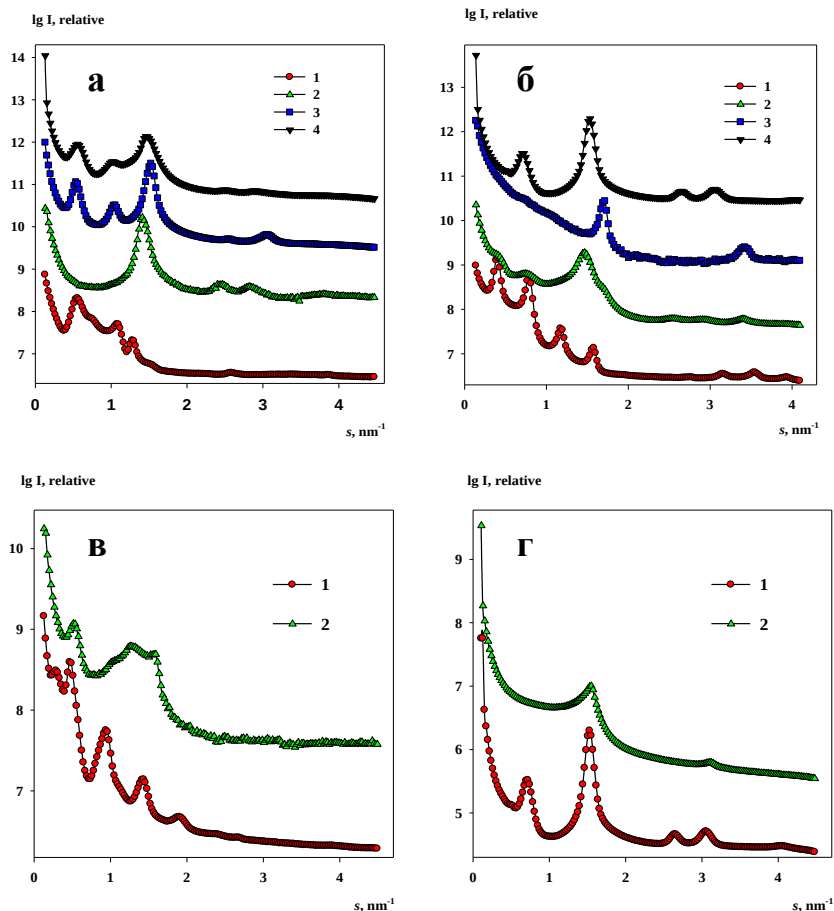


Рис. 4.45. Кривые малоуглового рассеяния гибридными наночастицами: **а** - Brij 76 (1), O-B76-T2A (2), O-B76-T2-2A-осадок (3) и O-B76-T2A-2-раствор (образец получен выпариванием коллоидного раствора) (4); **б** - Brij 78 (1), O-B78-T2A (2), O-B78-T2 (3), и O-B78-T2B (4); **в** - Brij 700 (1) и O-B700-T2A (2); **г** - O-B78-T2B (1) и O-B78-T2B-Fe₂O₃ (2). Обозначения в соответствии с Таблицей 8.

Наличие системы брегговских пиков на кривых малоуглового рассеяния свидетельствует об определенном упорядочении в образцах и об образовании квазикристаллических участков, размеры L которых определяются из соотношения (1.20) по первому брегговскому максимуму:

$$L = \frac{\lambda}{\beta_s \cos \theta}$$

Тип упорядочения, то есть тип кристаллической упаковки в упорядоченных регионах гибридных наночастиц определялся по взаимному расположению

брегговских максимумов с использованием индексов Миллера. Ламеллярная структура характеризуется эквидистантной последовательностью брегговских рефлексов: $s_n = 2\pi n/d_1$, $n = 1, 2, 3, \dots$, где $d_1 = 2\pi/s_1$ – период упорядоченных мотивов, или межплоскостное расстояние, которое определяется из положения первого пика s_1 на кривой рассеяния.

Двумерная гексагональная фаза характеризуется последовательностью брегговских рефлексов: $s_n = 2\pi(2/\sqrt{3})\sqrt{n}/d_1$, $n = (h^2 + k^2 + hk)$, где h, k – целочисленные индексы Миллера, а латеральное расстояние между упакованными элементами рассчитывается по формуле $d_{hex} = 2 d_1/\sqrt{3}$.

Для кубической фазы максимумы Брегга располагаются в соответствии с последовательностью: $s_n = 2\pi\sqrt{n}/d_1$, $n = (h^2 + k^2 + l^2)$, где h, k, l – целые числа. Периодичность кубической системы определяется либо как $d_c = d_1 = 2\pi/s_1$ (если для первого брегговского пика индексы Миллера $hkl=100$), либо $d_c = d_1 \times \sqrt{2}$ (первый рефлекс определяется как $hkl=110$).

Типы квазикристаллических упаковок в гибридных полимерных наночастицах были определены нами по взаимному расположению структурных максимумов на кривых МУРР (Таблица 9).

Таблица 9. Структурные характеристики гибридных материалов на основе разных типов Brij

Образцы	$s, \text{ нм}^{-1}$	$L, \text{ нм}$	$\Delta/\bar{d}$	s_n/s_1	Индексы Миллера	Типы структур и размер ячеек, нм
Brij 76	0.55	128.9	0.10	1	100	Кубическая $d_c = 11.5$
	0.76			1.38	110	
	1.09			1.98	200	
	1.28			2.33	210	
	1.44			2.62	211	
	2.01			3.65	320	
	2.58			4.69	421	
	3.87			7.04	550	

Образцы	$s, \text{ нм}^{-1}$	$L, \text{ нм}$	$\Delta/\bar{d}$	s_n/s_1	Индексы Миллера	Типы структур и размер ячеек, нм
Brij 78	0.40 0.79 1.18 1.57 2,74 3.15 3.54 3.94	160.5	0.08	1 1.98 2.95 3.92 6.9 7.9 8.9 9.8	100 200 300 400 500 600 700 800	Ламеллярная $d_l = 15.7$
Brij 700	0.29 0.47 0.93 1.10 1.43 1.91 2.21 2.68	163.7	0.09	1.62 3.21 3.79 4.93 6.58 7.62 9.24	110 210 420 432 444 664 864 886	Кубическая $d_c = 30.6$
O-B76-T2A (1:6; 30 мин)	1.42 2.43 2.84 3.73	54.6	0.09	1 1.7 2.0 2.6	10 11 20 21	2D гексагональная $d_{\text{hex}} = 5.1$
O-B76-T2A осадок (1:2; 30 min)	0.54 1.04 1.52 2.55 3.05	106.7	0.10	1 2.0 3.0 5.1 6.0	100 200 300 400 500	Ламеллярная $d_l = 11.6$
O-B76-T2A раствор (1:2; 30 min)	0.56 1.00 1.39 1.86 2.51 2.90	86.8	0.11	1 1.78 2.48 3.32 4.48 5.17	011 112 222 332 442 552	Текстура $d = 16.0$
O-B78-T2A (1:6; 30 мин)	0.42 0.76 1.46 1.62 2.54 2.92 3.40	181.7	0.09	1 1.81 3.48 3.86 6.04 6.95 8.09		Кубическая с $d_c = 11.0$, которая сосуществует с ламеллярной $d_l = 11.6$
O-B78-T2 (1:6; 2 ч)	0.74 1.70 3.41	132.8	0.08	1 2.29 4.61	110 311 621	Кубическая $d_c = 12.0$
O-B78-T2B (1:6; 24 ч)	0.72 1.53 2.65 3.05 4.05	99.9	0.09	1 2.12 3.68 4.24 5.63	110 220 333 442 651	Кубическая $d_c = 12.4$

Образцы	$s, \text{ нм}^{-1}$	$L, \text{ нм}$	$\Delta/\bar{d}$	s_n/s_1	Индексы Миллера	Типы структур и размер ячеек, нм
O-B700-T2A (1:6; 30 мин)	0.53 1.12 1.25 1.61 2.72	106.6	0.11	1 2.11 2.36 3.04 5.13	110 221 311 411 551	Текстура $d = 16.8$
O-B78-T2B –Fe₂O₃ (1:6; 24 ч)	1.5 3.1	48.01	0.09	1 2	100 200	Ламеллярная $d_1 = 4.2$

Как видно из Таблицы 9, в зависимости от длины гидрофильных хвостов Brij и условий самосборки можно направленно формировать структуры, имеющие различные типы упаковки квазикристаллических областей.

Молекулы Brij 76 самоорганизуются, формируя кубическую фазу с размером решетки $d_c = 11.5$ нм и степенью упорядочения $\Delta/d_1 = 0.10$. В то же время структура гибридных материалов, основанных на Brij 76, зависит от Brij-ODMACl молярного соотношения: при соотношении 1:6 образуется гексагональная упаковка с расстоянием между мицеллами $d_{\text{hex}} = 5.1$ нм. Именно такая упаковка наблюдалась в работе [231] для поли(ODMACl-TANED). То есть при низком содержании Brij 76 он не оказывает существенного влияния на структуру композита.

При увеличении содержания Brij 76 в композите образуется осадок, хотя большая часть вещества остается в растворе. Структуры гибридных частиц в осадке и в растворе существенно разные. В осадке формируется ламеллярная структура с характеристическим размером $d_1 = 11.6$ нм, который практически совпадает с размером кубической фазы Brij 76. Это позволяет предположить, что ламеллярная структура формируется в основном за счет бислоев Brij 76, где (ODMACl-TANED) расположена в центральной гидрофобной части (Рис. 4.46).

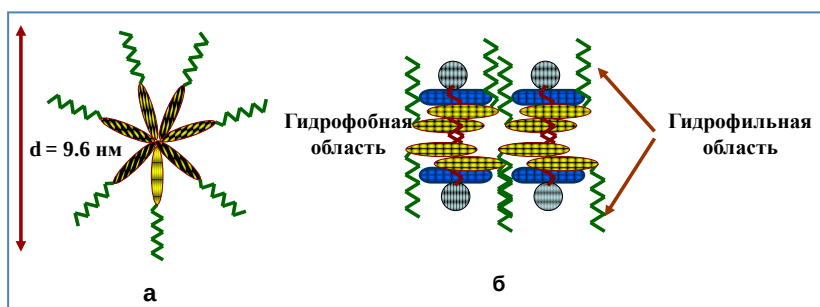


Рис. 4.46. Структура Brij 76 (а) и Brij 76-ODMACI-TANED бислоя (б). Цветовые обозначения те же, что на Рис. 4.44.

Структура той части этого композита, которая остается в растворе, может быть охарактеризована как текстура [56] с периодом $d=16.0$ нм. В этом случае (ODMACI-TANED) также находится в центре, но гибридные частицы имеют преимущественную ориентацию в определенном направлении, образуя слабо упорядоченные цилиндрические формы с квази-2D упаковкой (Рис. 4.47).

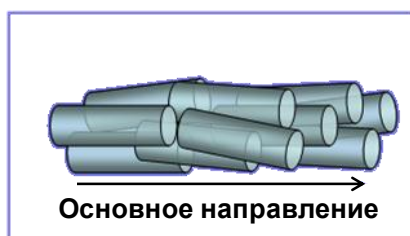


Рис. 4.47. Схематическое изображение текстуры.

Brij 78 формирует ламеллярную структуру с периодом 15.7 нм. Этот размер соответствует размеру двойного слоя Brij 78 (~15.4 нм), то есть образуется нормальная ламеллярная упаковка бислоев. Для гибридного материала О-В78-Т2А картина сложнее: кубическая фаза сосуществует с ламеллярной в этом образце (Таблица 9). Положение первого максимума кубической структуры практически совпадает с первым максимумом для самого Brij 78, хотя в О-В78-Т2А первый максимум значительно более размытый, то есть в композите присутствует менее упорядоченная ламеллярная фаза. Появление кубической фазы более заметно после 2-х часов выдержки образца (О-В78-Т2), хотя и в данном случае первый максимум по-прежнему слабо выражен, но ламеллярная структура в этом образце отсутствует и первый максимум в данном случае относится к кубической фазе. При продолжительном времени выдержки образца в течение 24 часов (О-В78-

T2B) появится ряд хорошо выраженных пиков, соответствующих кубической фазе (Таблица 9).

Для Brij 700 характерна кубическая фаза с размером ячейки 30.6 нм. Поскольку длина полностью расправленного бислоя Brij 700 равна 75 нм, размер 30.6 нм отражает свернутость гидрофильных хвостов в кубической упаковке (Рис. 4.48).

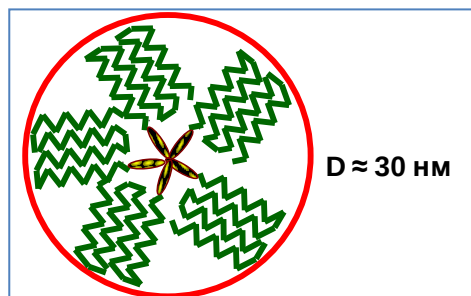


Рис. 4.48. Схематическое изображение мицелл Brij 700.

Гибридный материал O-B700-T2A демонстрирует текстуру, аналогичную той, что образуется в образце O-B76-T2A-раствор, с почти таким же периодом (16.8 нм), что дополнительно свидетельствует о свернутости гидрофильных хвостов, поскольку формируется почти такой же размер цилиндрических мицелл в текстуре.

Таким образом, анализ данных МУРР показывает, что структура гибридных материалов в основном определяется ПАВ (Brij) и его количеством в композитах. Кубическая, 2D гексагональная фаза и текстура представляют собою «закрытые» структуры, в отличие от непрерывной ламеллярной фазы, которая не состоит из отдельных частиц. При этом, закрытые мицеллы могут образовываться из непрерывной фазы из-за локальных дефектов ламеллярных слоев [235]. Интересно, что тип упорядочения не зависит напрямую от длины хвостов ПАВ или от его исходной структуры: чистый Brij 76 формирует кубическую фазу, а гибридный материал на его основе имеет 2D гексагональную, ламеллярную или текстуро-подобную фазы; ламеллярная упаковка Brij 78 заменяется кубической в гибридных материалах (Таблица 9). Стоит также отметить, что степень

упорядочения во всех системах, включая чистые ПАВ, находится в пределах 0.09 - 0.11, что типично для полимерных систем с квазикристаллическими областями, которые сосуществуют с разупорядоченными биконтинуальными фазами.

Попытка использовать гибридные системы в качестве матриц для формирования наночастиц оксида железа, показала, что инкорпорация Fe(II) ионов в O-B78-T2B приводит к образованию O-B78-T2B-Fe₂O₃ материала, где кубическая фаза преобразуется в ламеллярную с межплоскостным расстоянием $d_1 = 4.2$ нм. Такое существенное изменение структуры с учетом небольшого размера наночастиц Fe₂O₃ (1-1.5 нм) можно объяснить повышением гидрофильности системы после инкорпорации ионов Fe(II).

Результаты, полученные при анализе кривых МУРР гибридных материалов, находятся в хорошем соответствии с результатами комплементарных методов, использованных в данном исследовании. В целом, было показано возможность формирования заданных структур, манипулируя количеством ПАВ в системе и его молекулярной массой. Эти структурированные системы можно использовать для формирования и стабилизации неорганических наночастиц, в данном случае наночастиц Fe₂O₃. Однако, лабильность гибридных материалов приводит к серьезному изменению строения исходных образцов. Тем не менее, знание законов формирования гибридных полимерных матриц, их внутренней структуры и локализации гидрофильных и гидрофобных областей, является базисом для дальнейших разработок в области создания материалов с заданными свойствами.

4.2.3. Новые диблок сополимеры: морфология и структурные переходы

Поскольку поиск новых полимерных матриц, необходимых для создания металлосодержащих нанокомпозитов активно продолжается, следует также упомянуть изучение нами с помощью МУРР структуры новых диблок сополимеров, их морфологии и структурных переходов в зависимости от

концентрации, температуры, а также длины и композиции блоков [A28]. Нами было изучено поведение в растворе и морфология наноструктур, сформированных на основе новых блок сополимеров: 1-цетил [2-(акрилоилокси) этил] диметил аммоний бромида (ADHA) и 2-гидроксиэтилакрилат (HEA) или N-изопропилакриламид (NIPAM). В этой работе, как и во многих других исследованиях с помощью МУРР, нами применялся комплексный подход, где малоугловое рассеяние сочеталось с динамическим светорассеянием и электронной микроскопией. В исследованных блок сополимерах рADHA блок состоял из длинных гидрофобных C₁₆ хвостов, присоединенных к положительно заряженной четвертичной аммониевой группе, что превращало этот блок в амфифильный, в то время как второй блок был либо полностью гидрофильный (рHEA) либо термочувствительный (рNIPAM).

Молекулярные характеристики исследованных нами диблок сополимеров представлены в Таблице 10.

Таблица 10. Молекулярные характеристики образцов диблок сополимеров

Обозначения	$m^a)/M_n$	$l^a)/M_n$	ΣM_n	$L_1/L_2, ^{6)} \text{ нм}$
pADHA-b-pHEA-1	24/11000	220/26000	37000	4.8/44
pADHA-b-pHEA-2	22/9900	33/3800	14000	4.4/6.6
pADHA-b-NIPAM-1	24/11000	240/27000	38000	4.8/48
pADHA-b-pNIPAM-2	47/21000	68/7700	29000	9.4/13.6

^{a)} l и m - степень полимеризации в соответствии со схемой на Рис. 4. 48.

^{b)} L₁ - полностью вытянутой цепи рADHA; L₂ - полностью вытянутых цепей рHEA или рNIPAM.

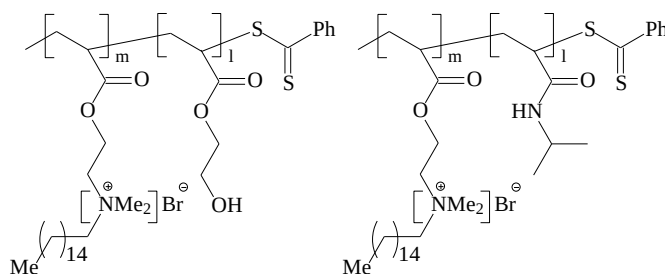


Рис. 4.49. Структуры рADHA-b-pHEA (слева) и рADHA-b-pNIPAM (справа).

Кривые малоуглового рассеяния диблок сополимеров рADHA-*b*-рHEA-1 и рADHA-*b*-рHEA-2 представлены на Рис. 4.50.

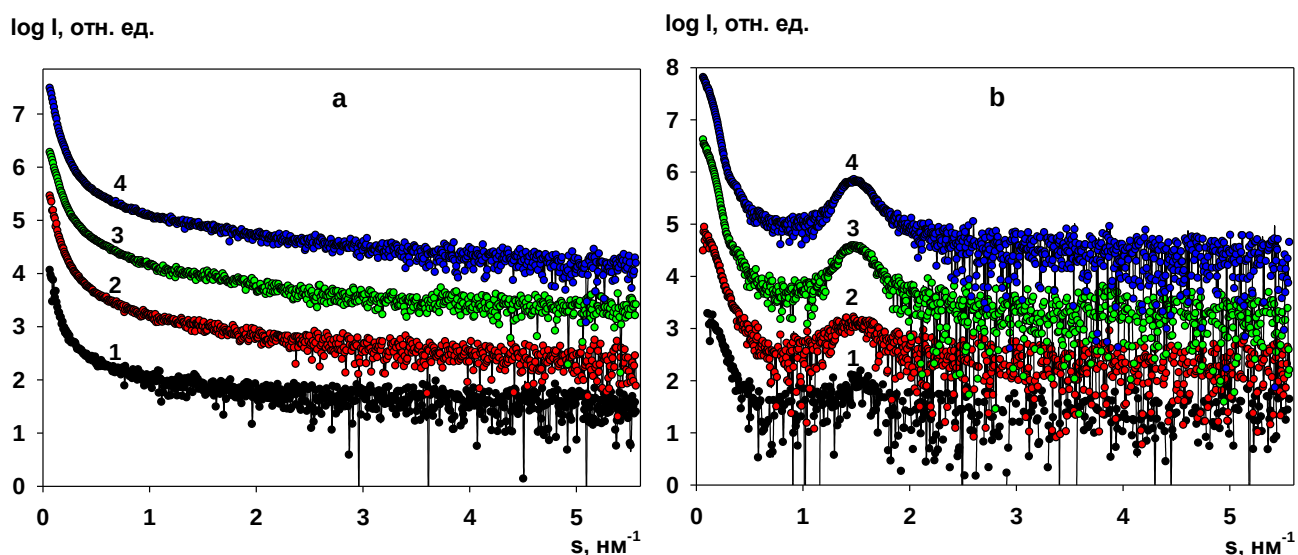


Рис. 4.50. Экспериментальные кривые МУРР от рADHA-*b*-рHEA-1 (a) и рADHA-*b*-рHEA-2 (b) при концентрациях сополимеров в растворе: (a) 1.0 мг/мл (1), 3.0 мг/мл (2), 4.0 мг/мл (3), 5.0 мг/мл (4); (b) 1.0 мг/мл (1), 2.0 мг/мл (2), 3.0 мг/мл (3), 4.1 мг/мл (4). Кривые разнесены по вертикали для лучшей визуализации.

С очевидностью рADHA-*b*-рHEA-1 и рADHA-*b*-рHEA-2 блок сополимеры образуют разные структуры в растворе: рассеяние от рADHA-*b*-рHEA-1 типично для разупорядоченных систем, в то время как рADHA-*b*-рHEA-2 образует квазикристаллическую структуру с брегговским максимумом на 1.5 nm^{-1} , то есть с межплоскостным расстоянием $\bar{d} = 4.2 \text{ nm}$, со средним характеристическим размером квазикристаллитов L около 30-35 нм и степенью разупорядоченности системы $\Delta/\bar{d} = 0.12$.

Структурные отличия рADHA-*b*-рHEA-1 и рADHA-*b*-рHEA-2 объясняются их различными молекулярными характеристиками (Таблица 10). Диблок сополимер рADHA-*b*-рHEA-1 образует конформацию статистического клубка, так как длинные гидрофильные блоки рHEA (220 звеньев) препятствуют образованию

периодических структур в данном диапазоне концентраций, в отличие от рADHA-*b*-рHEA-2, где блоки рHEA значительно короче (33 звена), как это показано на Рис. 4.51.

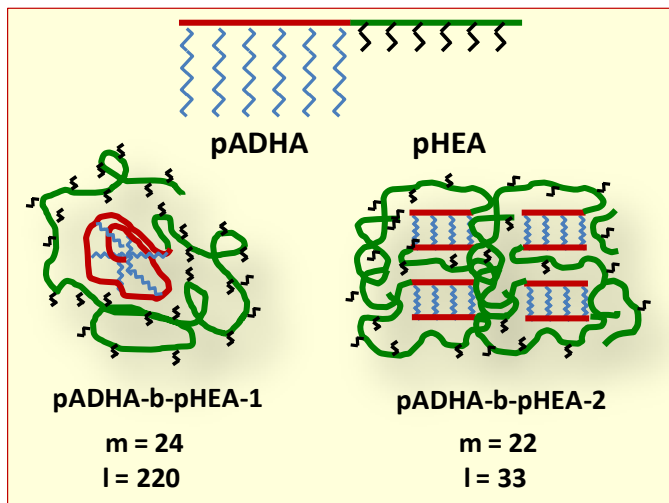


Рис. 4.51. Самосборка в растворе и образование частиц рADHA-*b*-рHEA-1 (слева) и рADHA-*b*-рHEA-2 (справа) диблок сополимеров.

Периодичность $\bar{d} = 4.2$ нм для системы рADHA-*b*-рHEA-2 практически совпадает как со средней длиной рADHA блока для этого сополимера (приблизительно 4.4 нм), так и с толщиной бислоя рADHA хвостов, образуя предположительно ламиллярную структуру со средним размером ламиллярных ячеек 4.2 нм. Сочетание жесткости и гибкости блоков рADHA и рHEA проявляется в формировании полимерной сетки, представленной на Рисунке 4.52 справа. Возможность существования таких образований была нами показана анализом центральной области рассеяния. Прежде всего, с помощью приближения Гинье мы показали, что для этого образца существует практически гомогенная, монодисперсная популяция кристаллитов. При этом наклон графика Гинье не зависит от концентрации, а радиус инерции равен 12.3 ± 0.2 нм. В сферическом приближении $R_g^2 = 3/5 R^2$, то есть размер ($2R$) рассеивающих частиц должен быть равен 32 нм. Это совпадает со средним размером квазикристаллитов рADHA-*b*-рHEA-2. *Ab initio* восстановление формы квазикристаллитов с помощью

программы DAMMIN было проведено по начальному участку кривой МУРР и показано на Рис. 4.52. Несколько независимых прогонов программы DAMMIN дали очень близкие результаты с расхождением $\chi = 2.0$.

log I, отн. ед.

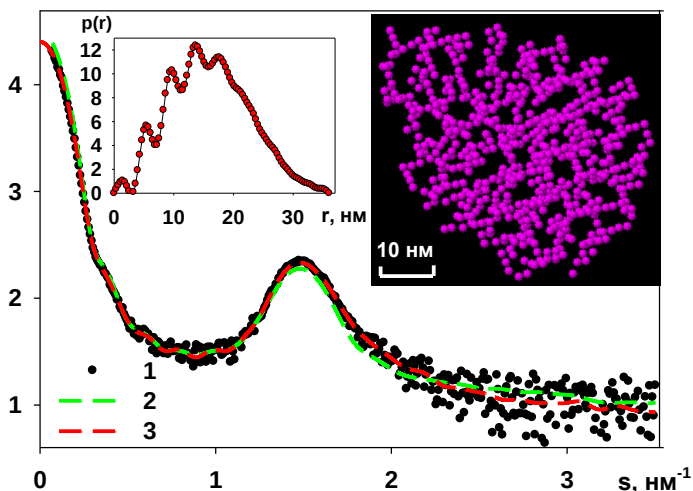


Рис. 4.52. Восстановление

структуры квазикристаллитов
диблок сополимера рADHA-*b*-
рHEA-2 в растворе:
экспериментальная кривая (1);
рассеяние от *ab initio* модели
(2); экстраполяция модельной
кривой в нулевой угол (3).
Вставки: парная функция $p(r)$,

рассчитанная с помощью Фурье преобразования по экспериментальным данным МУРР (сверху слева) и восстановленная *ab initio* шариковая модель сополимера (сверху справа); видны ламиллярные ячейки со средним размером около 4 нм.

Модель рADHA-*b*-рHEA-2 сополимера в растворе представляет собой слегка удлиненное глобулярное тело с максимальным размером D_{max} около 35 нм. Полученная *ab initio* модель поразительно похожа на умозрительную схему организации этого сополимера, показанную на Рис. 4.51, что дополнительно подтверждает образование регулярной сетки для наночастиц рADHA-*b*-рHEA-2 сополимера в растворе. Картина малоуглового рассеяния для термочувствительных диблок сополимеров рADHA-*b*-рNIPAM-1 и рADHA-*b*-рNIPAM-2 значительно сложнее, чем для рADHA-*b*-рHEA-1 и рADHA-*b*-рHEA-2. Эти сополимеры были измерены не только при разных концентрациях в растворе, но также и при разных температурах - выше и ниже критической температуры консолюции в растворе.

На Рис. 4.53 показаны экспериментальные кривые МУРР от рADHA-*b*-pNIPAM-1 и рADHA-*b*-pNIPAM-2 ниже критической точки, которая равна $\sim 32^\circ\text{C}$ (при 10 и 20°C).

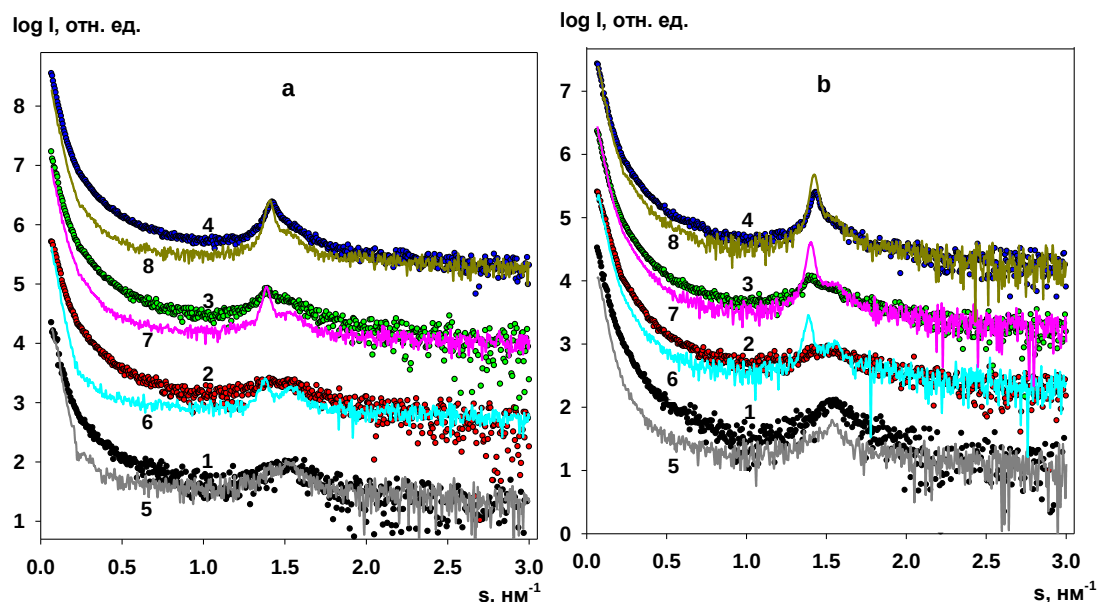


Рис. 4.53. Экспериментальные кривые МУРР от рADHA-*b*-pNIPAM-1 (кривые 1-4, точки) и рADHA-*b*-pNIPAM-2 (кривые 5-8, линии) при 10°C (слева) и при 20°C (справа), и при концентрациях: 2.0 мг/мл (1), 3.5 мг/мл (2), 5.0 мг/мл (3), 6.7 мг/мл (4); 1.0 мг/мл (5), 2.0 мг/мл (6), 3.0 мг/мл (7), 4.0 мг/мл (8). Кривые рассеяния расположены попарно для близких концентраций и разнесены по вертикали для лучшей визуализации.

Для сополимеров рADHA-*b*-pNIPAM-1 и рADHA-*b*-pNIPAM-2 наблюдается и концентрационная и температурная зависимости, которые более выражены для рADHA-*b*-pNIPAM-2 из-за более высокого содержания амфифильного блока, определяющего формирование наноструктуры. Изменение температуры от 10°C до 20°C приводит к увеличению амплитуды брегговских пиков. Однако, более заметные изменения происходят при увеличении концентрации сополимеров в растворе.

При самой низкой концентрации сополимера рADHA-*b*-pNIPAM при обеих температурах на кривых МУРР появляются единичные пики на $1.52 - 1.53 \text{ нм}^{-1}$. Эти пики соответствуют периодичности квазикристаллических $\bar{d} = 4.0 - 4.1 \text{ нм}$, что близко к тому, что наблюдалось для рADHA-*b*-pHEA-2. Повышение концентраций ведет к конформационным перестройкам: пики расщепляются, образуя двойные максимумы, чьи локализация и амплитуда зависят от концентрации. Такое расщепление пиков означает сосуществование двух разных характеристических размеров в образцах. Интересно, что по мере появления нового размера (нового структурного образования) пик, характеризующий структуры образца при самой низкой концентрации, постепенно исчезает. Этот процесс более выражен при температуре 20°C , которая, однако, ниже критической (32°C для pNIPAM). Удивительно также, что брегговские пики полностью исчезают при 30°C , но появляются вновь при 40°C (Рис. 4.54). Это означает полное разрушение периодической структуры при температуре, близкой к критической, и восстановление упорядочения при дальнейшем повышении температуры.

log I, отн. ед.

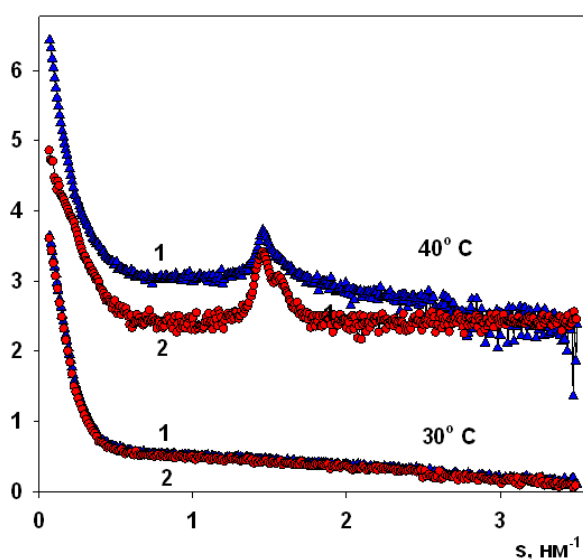


Рис. 4.54. Экспериментальные кривые МУРР от рADHA-*b*-pNIPAM-1 (1, синяя кривая) и рADHA-*b*-pNIPAM-2 (2, красная кривая) при 30°C и при 40°C . Показаны кривые для самых высоких концентраций сополимеров в растворе. Кривые для разных температур разнесены по вертикали для лучшей визуализации.

Все наблюдаемые изменения, выраженные в структурных характеристиках, представлены в Таблице 11. Следует отметить, что для pADHA-*b*-pNIPAM-1 расщепление пиков с повышением температуры и концентрации проявляется слабо. Поэтому структурные характеристики определялись по положению и ширине только наиболее выраженного пика. Следует отметить, что точность определения положения пиков достаточно высока, что позволяет детектировать изменения порядка 0.01 нм^{-1} .

Таблица 11. Структурные характеристики pADHA-*b*-pNIPAM сополимеров^{a)}

pADHA- <i>b</i> - pNIPAM-1	s_1 , нм ⁻¹	d , нм	L , нм	Δ/d	pADHA- <i>b</i> - pNIPAM-2	s_1 , нм ⁻¹	d_1 , нм	L_1 , нм	Δ/d	s_2 , нм ⁻¹	d_2 , нм	L_2 , нм	Δ/d_2
10°C													
2.0 мг/мл	1.52	4.1	40	0.10	1.0 мг/мл	-	-	-	-	1.53	4.1	50	0.09
3.5 мг/мл	1.48	4.2	40	0.10	2.0 мг/мл	1.38	4.5	240	0.04	1.55	4.0	190	0.05
5.0 мг/мл	1.40	4.5	50	0.09	3.0 мг/мл	1.39	4.5	260	0.04	1.55	4.0	210	0.04
6.7 мг/мл	1.42	4.4	80	0.07	4.0 мг/мл	1.40	4.5	220	0.04	-	-	-	-
20°C													
2.0 мг/мл	1.53	4.1	40	0.10	1.0 мг/мл	-	-	-	-	1.53	4.1	60	0.08
3.5 мг/мл	1.52	4.2	50	0.09	2.0 мг/мл	1.38	4.5	240	0.04	1.56	4.0	230	0.04
5.0 мг/мл	1.41	4.5	60	0.08	3.0 мг/мл	1.40	4.5	250	0.04	1.56	4.0	300	0.04
6.7 мг/мл	1.43	4.4	90	0.07	4.0 мг/мл	1.42	4.4	220	0.04	-	-	-	-
40°C													
2.0 мг/мл	1.58	4.0	70	0.08	1.0 мг/мл	1.43	4.4	230	0.04	1.56	4.0	240	0.05
3.5 мг/мл	1.56	4.0	110	0.08	2.0 мг/мл	1.42	4.4	220	0.04	1.57	4.0	180	0.05
5.0 мг/мл	1.55	4.0	210	0.04	3.0 мг/мл	1.43	4.4	190	0.05	1.57	4.0	200	0.04
6.7 мг/мл	1.46	4.3	200	0.05	4.0 мг/мл	1.45	4.3	150	0.05	1.56	4.0	200	0.04

^{a)} Точность определения: s : $\pm 0.01 \text{ нм}^{-1}$; d : $\pm 0.1 \text{ нм}$; L : $\pm 10 \text{ нм}$; Δ/d : ± 0.01

Присутствие длинной цепи pNIPAM в pADHA-*b*-pNIPAM-1 блок сополимере (отношение длин блоков pADHA/pNIPAM = 4.8/48, Таблица 10) может препятствовать образованию двух различных структур. Тем не менее, их присутствие детектируется, хотя и слабо выражено из-за разупорядоченности, вызванной длинным блоком pNIPAM. То есть, мы можем предполагать, что строение обоих pADHA-*b*-pNIPAM блок сополимеров должно быть одно и то же, а различие состоит в большом числе разупорядоченных участков в образце pADHA-*b*-pNIPAM-1. Данные, представленные в Таблице 11, показывают, что структура сополимеров и сосуществование различных характеристических размеров в образцах сильно зависят от концентрации сополимеров в растворе.

Характеристический размер 4.0 - 4.1 нм в pADHA-*b*-pNIPAM блок сополимере определяется размером ламеллярной структуры pADHA, которая модулируется блоком pNIPAM. Расстояние $\bar{d}$ между параллельными pADHA блоками должно быть около 4.4 нм (приблизительно двойная длина амфифильной щетки pADHA), однако pNIPAM блок стягивает концы ламелли из-за образования разупорядоченной области, как это показано на Рис. 4.55. При этом образуется модулированная ламелла с меньшим средним характеристическим размером 4.0 - 4.1 нм. Повышение концентрации блок сополимера приводит к упорядочению в системе за счет внедрения цепей pNIPAM внутрь гидрофобного бислоя, то есть к образованию двойной ламеллярной структуры. Это, в свою очередь, выражается появлением нового пика с характеристическим размером 4.5 нм (Рис. 4.55). При этом новая структура постепенно, с повышением концентрации вытесняет исходную, из-за чего амплитуда пика на 1.52 нм^{-1} снижается, а повышается максимум при 1.4 нм^{-1} . Эти явления хорошо прослеживаются по данным, представленным в Таблице 11.

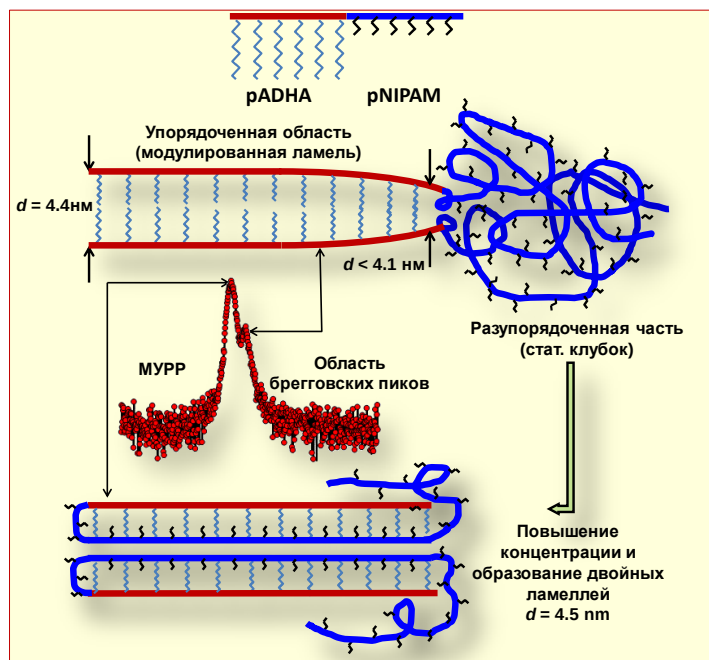


Рис. 4.55. Самосборка pADHA-*b*-pNIPAM блок сополимеров в растворе.

В то время как результаты, полученные для pADHA-*b*-pNIPAM блок сополимеров при разных концентрациях и при температурах 10 и 20 °C представляются разумными, полное исчезновение упорядочения при 30°C в этих блок сополимерах вызывает удивление. Температура, близкая к критической для pNIPAM (32 °C), выражается в быстрой потере ассоциированной воды и в гидрофобизации pNIPAM, что приводит к переходу глобула-клубок. Однако, в литературе до сих пор не было данных о восстановлении подобных структур при дальнейшем нагревании.

Чтобы объяснить такие обратимые структурные перестройки, мы предполагаем, что когда блок pNIPAM начинает быстро терять воду вблизи критической точки, он вынужден активно внедряться в гидрофобные бислои, сформированные хвостами pADHA, дополнительно нарушая существующую структуру. Потеря упорядоченной структуры, в свою очередь, приводит к повышению подвижности отдельных цепей и к сильной агрегации. Это

подтверждается посчитанной нами функцией распределения по размерам. С другой стороны, агрегация сопровождается резким повышением местной концентрации pNIPAM (в агрегатах). Этот процесс и дальнейшее повышение подвижности макромолекул и их гидрофобных хвостов при 40 °C ведет к восстановлению структурного упорядочения. В пользу таких предположений говорит тот факт, что при 40°C расщепление брегговских пиков наблюдается даже при самых низких концентрациях сополимеров. Более того, при этой температуре блок pNIPAM становится более гидрофобным и более совместимым с гидрофобным бислоем, что также вносит вклад в восстановление структуры. Отметим также, что этот процесс сопровождается выходом положительных зарядов pADHA блока в воду, обеспечивая электростатическую стабилизацию наночастиц в водном растворе.

Таким образом, мы показали, что морфология блок сополимеров зависит от концентрации в растворе и от длины и химической композиции блоков в их составе. В случае термочувствительного pADHA-*b*-pNIPAM образуются два типа упорядоченных структур, характеристики которых определяются температурой. Для pADHA-*b*-pNIPAM блок сополимеров наблюдался термозависимый структурный переход: за разрушением упорядоченной структуры вблизи критической температуры в растворе следовало восстановление упорядочения при дальнейшем нагревании. Кроме того, в этой работе нами было показано, что структурные характеристики изученных блок сополимеров определяют их способность к стабилизации металлических наночастиц.

4.3. Заключение к Главе 4

С помощью метода малоуглового рентгеновского рассеяния были показаны возможности и особенности формирования металлических наночастиц в различных структурно организованных полимерных матрицах. Достоинством таких систем является возможность формирования достаточно мелких (от 1 до 4

нм) металлических наночастиц, а общим недостатком всех этих систем является невысокое (порядка нескольких процентов) содержание в них металла и полидисперсность образованных частиц. Такие системы могут успешно применяться в некоторых технических приложениях, например, в катализе, но во многих других областях, в особенности в медицине и биологии, требуется более жесткий подход к этой проблеме. Поэтому продолжается поиск новых полимерных матриц, обладающих соответствующими свойствами. Помимо рассмотренных выше работ в этом направлении [A26 - A28], можно отметить также наши структурные исследования наночастиц фосфолипидов в гексане в процессе их аутооксидации [A29]. В этой работе профили распределения электронной плотности в наночастицах фосфолипидов были представлены ступенчатой функцией, где внутренняя полость везикул была заполнена водой или гексаном. Была показана возможность получения разнообразных форм прямых и обращенных мицелл фосфолипидов в гексане в зависимости от времени аутооксидации.

В работе [A30] нами также были изучены процессы формирования упорядоченных структур, сформированных из короткоблочных полимочевин-полидиметилсилоксановых блок-сополимеров на основе вторичных диаминов.

В целом, с помощью метода малоуглового рентгеновского рассеяния нами была доказана принципиальная возможность получения самых разных полимерных структур, вариабельность которых определяется заранее заданными условиями синтеза, составом композитов и физическими параметрами окружающей среды. Структурное разнообразие формирующих полимерных матриц, продемонстрированное нашими исследованиями, определяет возможность создания нанокомпозитов с заданными свойствами для выполнения конкретных функций.

Глава 5

Структурные исследования монодисперсных нанокомпозитов

5.1 Монодисперсные ферромагнитные наночастицы в растворе, стабилизированные биodeградируемыми полимерами

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 ферронаномagnetиков. Следующей задачей является стабилизация 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 малоуглового рентгеновского рассеяния [A4, A31 - A33].

5.1.1. Структура и свойства наночастиц оксида железа, стабилизированных модифицированным полиэтиленгликолем

Сферические наночастицы (NP) оксида железа, покрытые олеиновой кислотой, со средними диаметрами 20.1 (образец NP1) и 8.5 нм (образец NP2),

были синтезированы методом термальной декомпозиции в докоцене при 370°C (NP1) или в октадецене при 318°C (NP2) (Рис. 5.1) [A4].

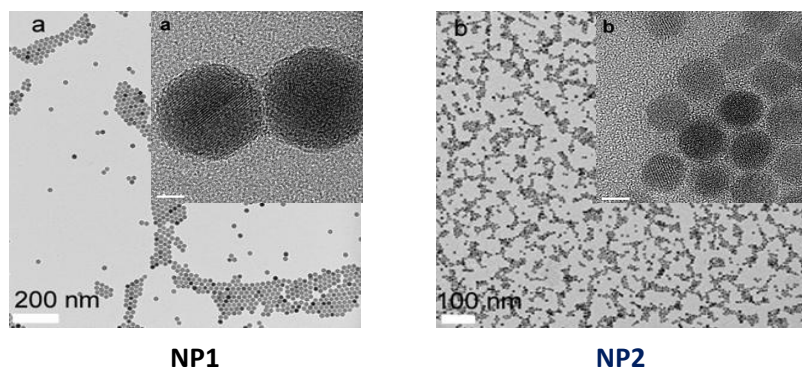


Рис. 5.1. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) наночастиц оксида железа, синтезированных методом термальной декомпозиции в докоцене при 370°C (NP1) или в октадецене при 318°C (NP2).

Чтобы сделать эти наночастицы водорастворимыми, они были инкапсулированы в модифицированные полиэтиленгликолем фосфолипиды.

Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния от NP1 и NP2 в растворе (Рис. 5.2) характерны для практически монодисперсных сферических частиц.

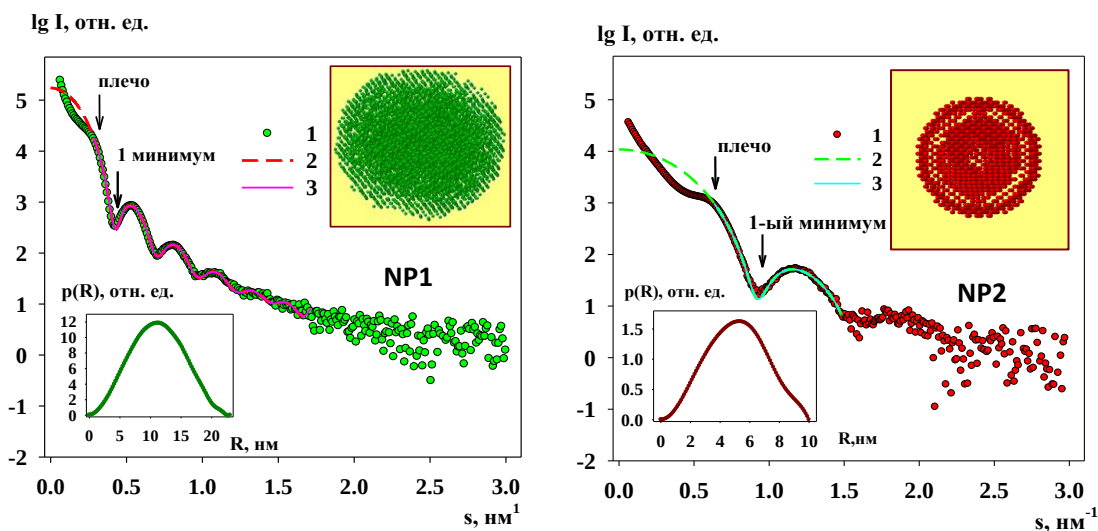


Рис. 5.2. Ферромагнитные наночастицы, покрытые модифицированными фосфолипидами: 1 - экспериментальные кривые малоуглового рассеяния; 2 –

расчетная кривая рассеяния, экстраполированная в нулевой угол; 3 - кривая рассеяния от *ab initio* моделей. Вставки: слева внизу – функция распределения по расстояниям, использованная для *ab initio* моделирования; справа вверху - структурные модели ферромагнитных наночастиц.

Радиусы обоих образцов были рассчитаны из положения первого минимума на кривой s_1 : $R = 4.49/s_1$ [5]. Они оказались равны 10.6 ± 0.6 нм для NP1 и 4.8 ± 0.3 нм для NP2. Эти значения очень хорошо коррелируют с оценкой диаметров этих наночастиц с помощью трансмиссионной электронной микроскопии: 20.1 ± 0.8 нм и 8.5 ± 0.5 нм, соответственно. Следует отметить, что благодаря высокой электронной плотности оксида железа относительно электронной плотности полимерной оболочки, МУРР, равно как и ПЭМ, фиксирует рассеяние практически только от металлического ядра, что затрудняет определение толщины защитного слоя наночастиц.

Характерной особенностью малоуглового рассеяния для этих наночастиц является присутствие перегиба, плеча на экспериментальных кривых в области углов $s = 0.3$ нм⁻¹ и 0.6 нм⁻¹ для NP1 и NP2 соответственно. Эта особенность рассеяния является отражением межчастичной интерференции (см. Главу 3) и указывает на присутствие в растворе кластеров наночастиц, образовавшихся благодаря магнитному взаимодействию между ними. Поэтому анализ данных малоуглового рассеяния был разделен на два этапа. Во-первых, было проведено *ab initio* моделирование структуры индивидуальных ферромагнитных наночастиц. Для этого использовалась область характеристических максимумов на экспериментальных кривых рассеяния. Результаты моделирования представлены на вставках Рис. 5.2. Наночастицы NP1 и NP2 отличаются не только по размерам, но и внутренним строением: в то время как плотность NP1 равномерно уменьшается от центра к периферии, NP2 имеют слоевую структуру. Это отличие

определяется разными условиями синтеза. Образование слоев предположительно происходит из-за присутствия не полностью выпаренного при более низкой температуре поверхностно-активного вещества, используемого при синтезе этих наночастиц.

Вторым этапом исследования было определение структуры кластеров наночастиц в растворе. Для этого использовались уже найденные с помощью *ab initio* подхода (программа DAMMIN) структурные модели индивидуальных наночастиц, начальные участки кривых малоуглового рассеяния и программа SASREF, использующая метод молекулярной тектоники и моделирующая взаимное расположение отдельных частиц относительно друг друга в пределах кластеров. Результаты анализа представлены на Рис. 5.3.

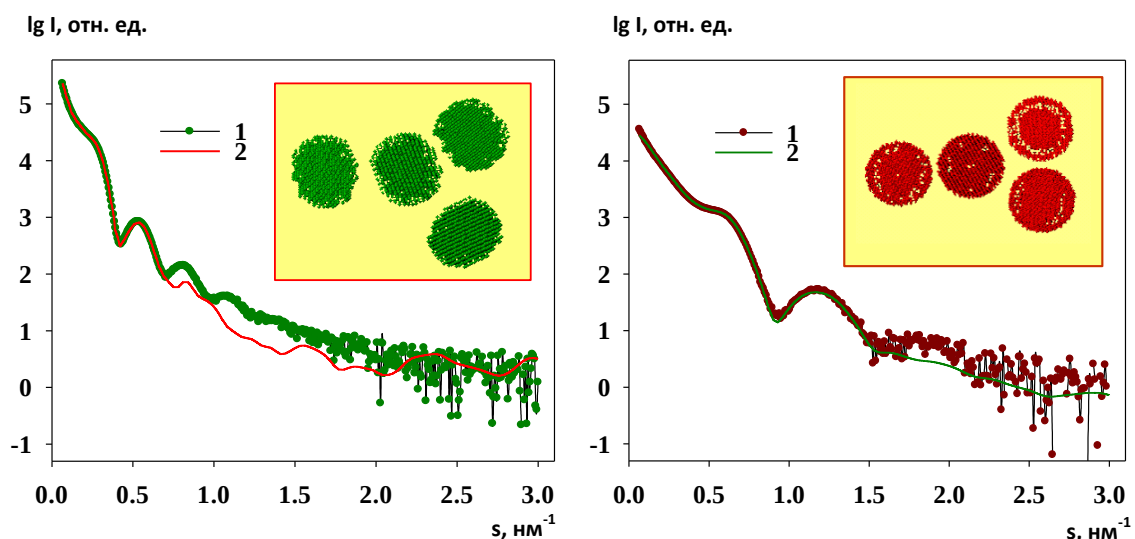


Рис. 5.3. *Ab initio* моделирование структуры кластеров в растворах ферромагнитных наночастиц: 1 – экспериментальные кривые рассеяния; 2 – модельные кривые рассеяния кластерами.

Для обоих образцов образовывались сходные по форме кластеры, состоящие из 4-х наночастиц, расположенных примерно на одинаковом расстоянии друг от друга. Оценка стабилизирующего защитного фосфолипидного слоя по расстоянию между наночастицами дала значения 2.4 ± 0.5 нм и 1.4 ± 0.2 нм для NP1 и NP2,

соответственно. Средние диаметры кластеров аппроксимирующих сфер, D , были равны 50 нм и 35 нм для NP1 и NP2, соответственно. Эти значения хорошо согласуются с гидродинамическими размерами D_h , полученными с помощью динамического светорассеяния.

5.1.2. Наночастицы оксида железа, стабилизированные с помощью альтернативного сополимера, содержащего блоки октадецена и малеиновой кислоты

Аналогичным образом были проведены исследования наночастиц оксида железа, стабилизированных с помощью альтернативного сополимера, содержащего блоки октадецена и малеиновой кислоты (PMAcOD) [A31]. Поскольку задачей этой и двух последующих работ [A32, A33] было оценить влияние защитной полимерной оболочки на стабильность ферромагнитных наночастиц в растворе, нами прежде всего было проведено исследование структуры самого альтернативного сополимера в воде.

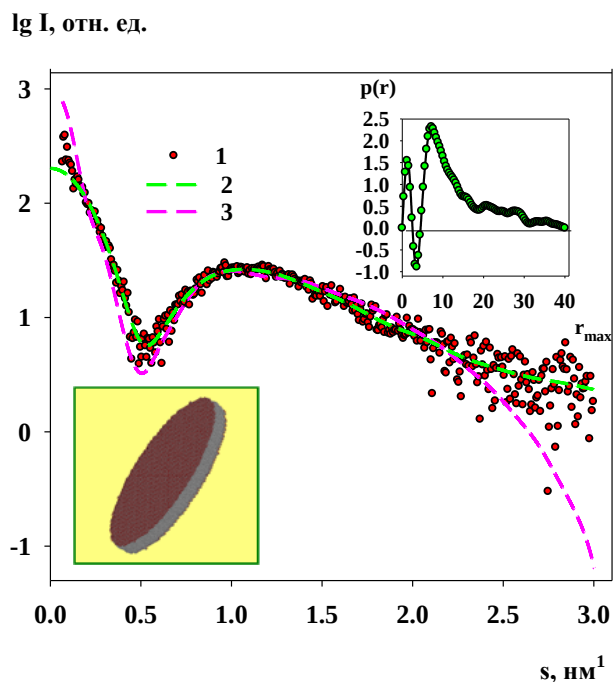


Рис. 5.4. Малоугловое рассеяние альтернативным PMAcOD сополимером в растворе: 1 - экспериментальная кривая МУРР; 2 - расчетная кривая рассеяния, экстраполированная в нулевой угол; 3- модельная кривая рассеяния бислоевым диском, построенным из мономерных единиц - МАсОD-. Вставки: сверху справа - функция распределения по расстояниям; внизу слева -

дискообразная модель PMAcOD сополимера в растворе.

Экспериментальная кривая РМасОД сополимера в растворе показана на Рис. 5.4. Функция распределения по расстояниям $p(r)$, вычисленная по этой кривой (Рис. 5.4, вставка), показывает, что максимальный размер мицелл, которые образует РМасОД в воде равен примерно 40 нм. При этом функция $p(r)$ содержит отрицательные значения в области межатомных расстояний около 3-4 нм. Их появление обусловлено существованием гидрофобных областей в сополимере, которые характеризуются более низкой электронной плотностью относительно воды, что является типичным для липидных бислоевых структур. Расстояние 3-4 нм соответствует толщине двойного слоя, образованного гидрофобными хвостами РМасОД мономеров (1.6 нм на один гидрофобный хвост).

Для того, чтобы понять как происходит самосборка РМасОД сополимера в растворе, с помощью программы молекулярного моделирования Cerius2 (версия 3.5, MSI/Accelrys) [237] были сконструированы пространственные модели отдельных -МасОД- звеньев полимерной цепи, которые могут принимать в растворе восемь различных конформаций, а также короткие РМасОД цепи, состоящие из этих звеньев. Полученные структурные блоки были использованы для построения пространственных моделей мицелл, бимицелл, полых цилиндров, дисков и ассоциатов, состоящих из этих форм. При этом учитывались полученные из анализа функции распределения по расстояниям $p(r)$ размерности: все модели имели максимальный размер около 40 нм и толщину бислоя от 3 до 4 нм. Далее, от этих моделей были рассчитаны интенсивности малоуглового рассеяния, которые затем сравнивались с экспериментальной кривой. Оказалось, что хорошее приближение к экспериментальным данным дает только бислой в форме диска, сконструированный из отдельных -МасОД- звеньев полимерной цепи, диаметром 40 нм и толщиной бислоя 3.2 нм (Рис. 5.4, кривая 3). То есть после гидролиза РМасОД сополимер образует в воде бислоевые дискообразные структуры. Нами было также показано, что эти структуры не существуют в растворе в присутствии ферромагнитных наночастиц: в качестве защитного слоя каждый такой диск

используется на покрытие одной наночастицы оксида железа. При этом 99.9% объемной фракции ферромагнитных наночастиц, покрытых РМАСОД сополимером, не агрегируют и находятся в растворе в виде индивидуальных частиц.

В отличие от ферромагнитных наночастиц, стабилизированных модифицированными фосфолипидами, магнитные жидкости на основе альтернативного РМАСОД сополимера содержат некоторое количество истинных агрегатов. О том, что в данном случае происходит агрегация, а не образование динамических кластеров магнитных наночастиц, свидетельствует изменение начального участка кривой малоуглового рассеяния: вместо плеча на экспериментальных кривых, отражающего межчастичную интерференцию, наблюдается характерный подъем кривой в самых малых углах, указывающий на присутствие больших размеров в растворе (Рис. 5.5).

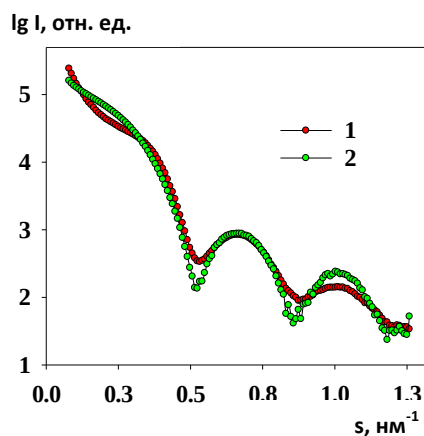
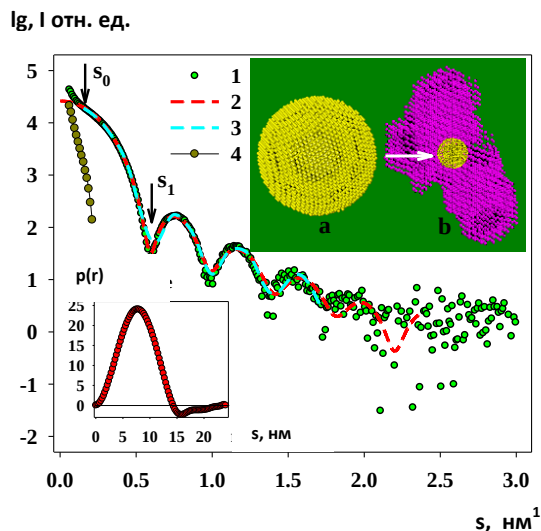


Рис. 5.5. Сравнение кривых малоуглового рассеяния: 1 — рассеяние наночастицами, стабилизированными модифицированными фосфолипидами (интерференция наночастиц в кластерах); 2 — рассеяние наночастицами, покрытыми альтернативным РМАСОД сополимером (отсутствие интерференции и присутствие больших размеров)

Анализ кривых малоуглового рассеяния и функции распределения по расстояниям $p(r)$ для ферромагнитных наночастиц с полимерной оболочкой на основе альтернативного РМАСОД сополимера позволил определить размер и форму наночастиц, толщину полимерной оболочки, а также размер и форму агрегатов (Рис. 5.6).

Рис. 5.6. Малоугловое



рентгеновское рассеяние наночастицами оксида железа, стабилизированными альтернативным РМАсОД сополимером: 1 – экспериментальные данные; 2 – кривая экстраполяции в нулевой угол; 3 – рассеяние от *ab initio* модели для наночастиц; 4 – разностная кривая от агрегатов наночастиц. Вставки: внизу слева – функция распределения по расстояниям $p(r)$;верху справа – *ab initio* модели для наночастиц (a) и их агрегатов (b).

Наночастицы оксида железа представляют собой практически сферическое тело с радиусом 7.9 нм ($R = 4.49/s_1$) и слоевой внутренней структурой. Полученный с помощью МУРР размер хорошо соответствует диаметру наночастицы в 16.0 нм по данным просвечивающей электронной микроскопии. Агрегаты ферромагнитных наночастиц являются конгломератами неправильной формы, которые содержат около 30-40 индивидуальных наночастиц, и их объемная фракция по данным малоуглового рентгеновского рассеяния не превышает 0.1%.

Отрицательные значения функция распределения по расстояниям $p(r)$ (Рис. 5.6, вставка) появляются из-за отрицательного относительно растворителя контраста полимерной оболочки. Это позволяет оценить ее толщину, которая оказалась равна $\approx 1.2 - 1.25$ нм.

5.1.3. Гидрофилизация магнитных наночастиц модифицированными альтернативными сополимерами: влияние оболочки на поведение наночастиц в растворе

Поскольку именно защитная оболочка наночастиц определяет возможность их агрегации, нами было проведено детальное изучение влияния свойств полимерного покрытия наночастиц на их поведение в растворе [A32, A33]. Для этой цели альтернативный полимер PMAcOD был модифицирован полиэтиленгликолем с молекулярной массой 5000 дальтон (серия Р), полиэтиленгликолем с молекулярной массой 750 дальтон (серия S) и с помощью коротких этиленгликольных хвостов (серия G). Оказалось, что полимеры серии Р и G могут использоваться для стабилизации наночастиц оксида железа, в то время как PMAcOD сополимер, модифицированный низкомолекулярным полиэтиленгликолем (серия S) не присоединяется к поверхности наночастиц и не может быть использован для их стабилизации. Чтобы понять природу этого феномена были исследованы процессы мицеллообразования в воде всех трех серий модифицированного PMAcOD сополимера при разных концентрациях в растворе. Концентрационные зависимости наблюдались для полимеров серий Р и G, но она отсутствовала для серии S.

Структурное моделирование показало, что полимеры разных серий образуют в растворе мицеллы разного рода (Рис. 5.7): для серий G и S наблюдаются бислои в форме дисков, а для серии Р *ab initio* моделирование выявило существование агломератов пространственно разделенных плотных субъединиц.

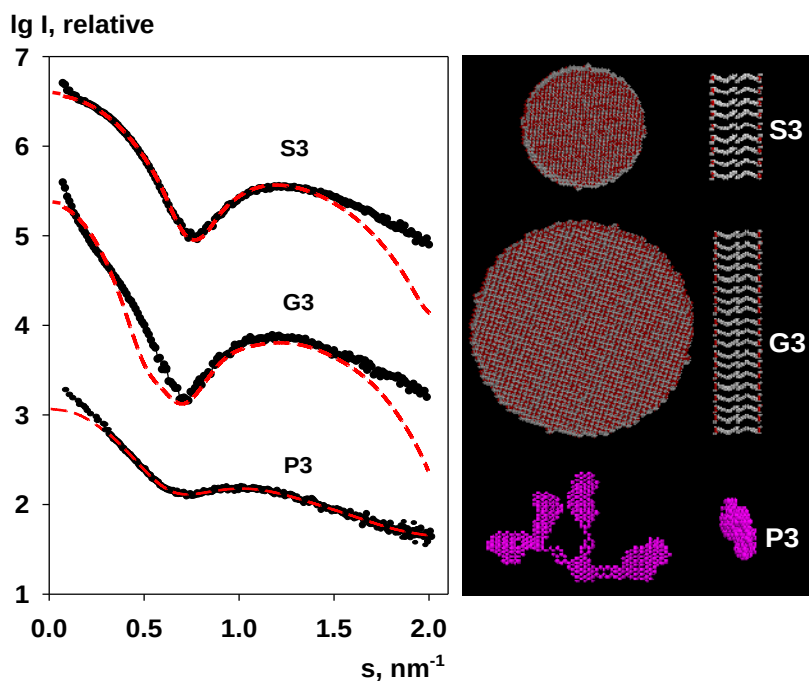


Рис. 5.7. Структурное моделирование для модифицированного PMAcOD сополимера: черные кружочки - экспериментальные кривые; красный пунктир - кривые рассеяния от моделей. Справа: дискообразные модели для S и G образцов в двух ориентациях и *ab initio* моделирование для

сополимера серии P. Отдельно показана структура плотного образования в мицеллах серии P.

Для модельных дисков полимера серии G диаметр был равен 18 нм с толщиной бислоя 4.8 нм, в то время как для серии S диаметр диска равнялся 10 нм, а толщина бислоя была равна 5.0 нм. Отдельные плотные образования в мицеллах полимера серии P аппроксимировались слегка сплюснутым телом с диаметром 5.5 нм.

Наши исследования показали, что PMAcOD сополимер, модифицированный низкомолекулярным полиэтиленгликолем (серия S) образует плотные, устойчивые структуры, которые энергетически выгодны, что не способствует их взаимодействию с такими внешними гидрофобными объектами, как поверхности наночастиц оксида железа. В то же время мицеллы серии G и особенно серии P менее стабильны в растворе и гидрофобные поверхности ферромагнитных наночастиц могут конкурировать с процессами самосборки этих сополимеров и соединяться с ними, что, соответственно, приводит к возможности создания защитного слоя с их помощью.

Как результат наших структурных исследований были предложены модели, объясняющие особенности строения мицелл разных серий (Рис. 5.8).

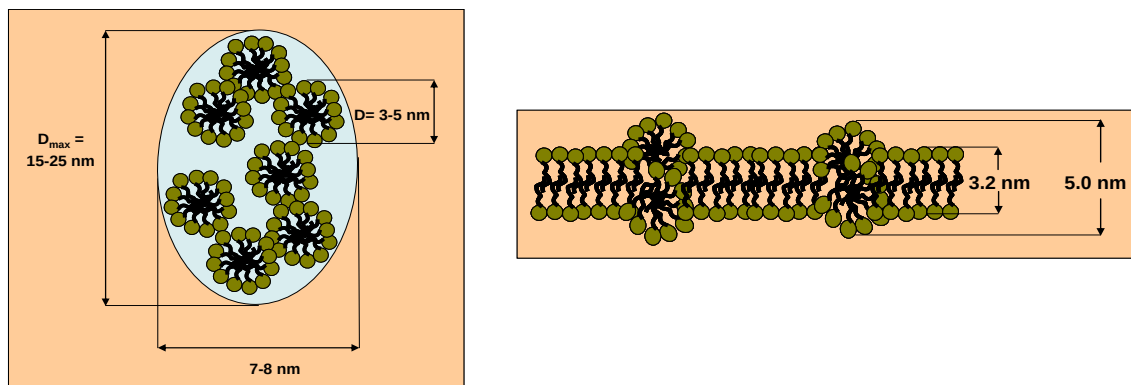


Рис. 5.8. Структурные модели мицелл: слева – гипотетическая модель структуры Р сополимера в растворе; справа – гипотетическая модель частичной сегрегации мицеллярных бислоев.

Сополимеры серий G и Р с разной степенью модификации были использованы в дальнейшем для создания защитных оболочек наночастиц оксида железа разных размеров. Различная степень модификации РМАсOD сополимера была необходима для того, чтобы выявить наиболее приемлемые условия стабилизации наночастиц в растворе.

Кривые малоуглового рассеяния наночастиц оксида железа в растворе показаны на Рис. 5.9.

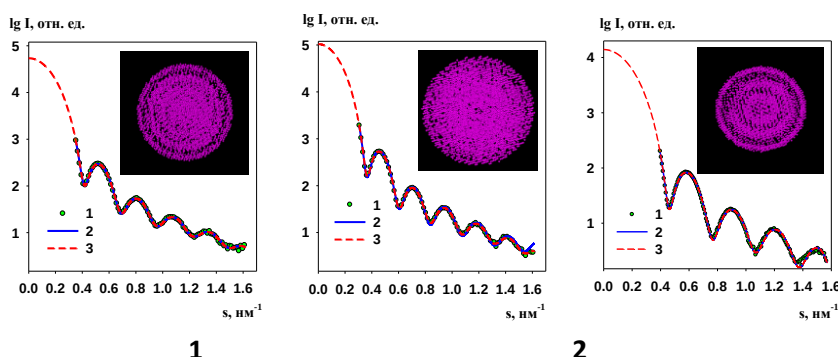


Рис. 5.9. Кривые малоуглового рассеяния и восстановленные *ab initio* формы ферромагнитных наночастиц разных размеров: 1 – диаметр наночастицы 22.0 нм; 2 – диаметр наночастицы 26.0 нм; 3 – диаметр наночастицы 19.5 нм.

Анализ данных малоуглового рассеяния был проведен в два этапа. Первым этапом было определение структурных характеристик индивидуальных наночастиц оксида железа по кривым МУРР в интервале углов $s > 0.3 \text{ nm}^{-1}$. На втором этапе исследовалось взаимодействие наночастиц с использованием начального участка профиля рассеяния. Структурные модели, полученные на первом этапе, были использованы во второй фазе нашего исследования для изучения поведения покрытых различными защитными оболочками ферромагнитных наночастиц в растворе.

Восстановленные *ab initio* формы ферромагнитных наночастиц разных размеров показаны на Рис. 5.9. Все они представляют собой практически сферические тела, размеры которых были определены по первому минимуму на кривой рассеяния. Полученные значения размеров совпали с данными просвечивающей электронной микроскопии. Для всех наночастиц характерна слоевая внутренняя структура, обусловленная присутствием остаточного количества поверхностно-активных веществ, используемых при синтезе наночастиц оксида железа.

В зависимости от степени модификации и, соответственно, плотности и толщины создаваемых полимерных оболочек изученные образцы можно было разделить на группы I, II и III, как это показано на Рис. 5.10.

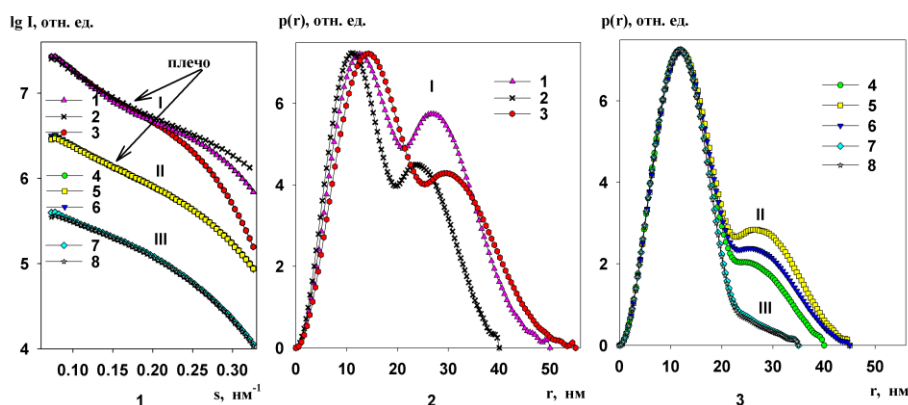


Рис. 5.10. 1 -

сравнение начальных участков кривых рассеяния; 2 и 3 - функции распределения по расстояниям для наночастиц, покрытых

защитными сополимерами серий G и P с разной степенью модификации и толщины защитного слоя.

Следует отметить, что все изученные образцы содержат в основном индивидуальные наночастицы оксида железа, но также некоторое количество динамических кластеров и агрегатов в разных соотношениях в зависимости от свойств защитных оболочек. Как видно из Рис. 5.10, 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 сополимера РМасОД серии Р. 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 также относятся образцы, стабилизированные сополимером РМасОД серии Р, но с меньшей степенью модификации, а также наночастицы, покрытые немодифицированным сополимером РМасОД (образец 4).

Рассеяние образцами 7 и 8 (третья группа) не содержит признаки межчастичной интерференции. К этой группе относятся наночастицы, покрытые сополимером РМасОД серии G.

Функции распределения по расстояниям, посчитанные по экспериментальным кривым малоуглового рассеяния (Рис. 5.10), также с очевидностью разделяются на три группы, содержащие те же самые образцы. Профили $p(r)$ демонстрируют присутствие динамических кластеров и некоторого количества наиболее крупных агрегатов в первой группе, в то время как третья группа содержит в основном индивидуальные наночастицы и маленькие агрегаты, предположительно преимущественно в виде димеров. Во второй группе образцов

в растворе происходит и межчастичная интерференция и агрегация наночастиц. Компьютерное моделирование взаимодействия наночастиц в растворе подтвердило полученные результаты. На Рисунке 5.11 представлены структуры динамических кластеров и агрегатов для разных групп образцов.

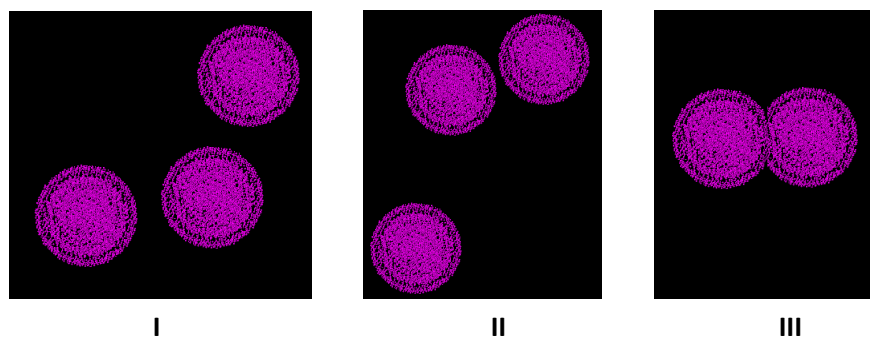


Рис. 5.11. Примеры структур кластеров и агрегатов для различных групп ферромагнитных наночастиц.

Таким образом, нами было показано, что отрицательно заряженные наночастицы оксида железа, защищенные модифицированным сополимером РМАСОD серий Р и G, содержат только небольшое количество агрегатов и демонстрируют высокую стабильность в водных растворах, что принципиально важно для практического применения этих наночастиц в биологии и медицине. Уменьшение степени модификации сополимера и толщины оболочки приводит к большей агрегации частиц для образцов серии Р, однако образцы серии G вообще не содержат крупных агрегатов.

5.2. Жесткоцепные ароматические дендримеры, содержащие квантовые точки CdS

Дендримеры представляют собой монодисперсные, высокомолекулярные соединения, у которых можно контролируемо изменять размеры от генерации к генерации. Кроме того, высокая функциональность дендримеров и возможность ее направленного изменения, а также их способность к самоорганизации с образованием сложной иерархии супрамолекулярных структур позволяют рассматривать дендримеры в качестве перспективных наноразмерных матриц для получения материалов с узким распределением по размерам и с четко определенными свойствами. Однако, для решения специализированных технологических задач необходимо установление взаимосвязи молекулярной архитектуры дендримеров с их фазовым состоянием, физико-химическими свойствами, особенностями самосборки в объемной фазе и способностью формирования комплексов с соединениями-партнерами для создания композитов с желаемыми свойствами.

Мы исследовали процессы образования и стабилизации квантовых точек CdS в присутствии полипиридилфениленовых дендримеров третьей генерации (PPPD) в зависимости от условий синтеза и архитектуры PPPD [A34]. Одной из важных особенностей этой работы было то, что в ней использовались многие положения, разработанные и рассмотренные нами в главе 3, то есть 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 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.

Комплементарным методом исследования в этой работе была просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ).

Схематические модели двух видов дендримеров, исследованных нами, а именно tri-PPPD и tetra-PPPD, представлены на Рис. 5.12.

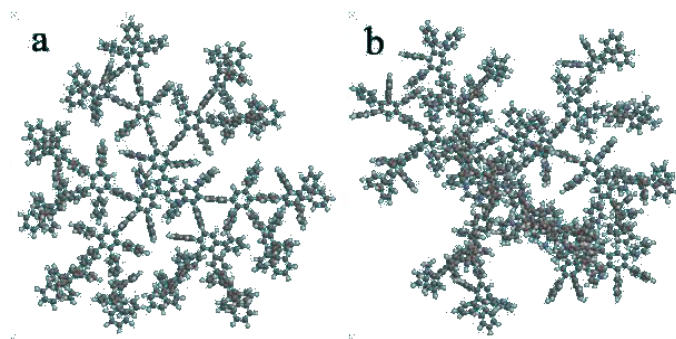


Рис. 5.12. Трехмерные 'ball-and-stick' модели tri-PPPD (a) и tetra-PPPD (b), предсказанные с помощью программы Spartan.

Нами были исследованы следующие образцы дендримеров и их композитов с квантовыми точками:

Обозначения исследованных образцов PPPD и CdS/PPPD:

1,3,5-triethynylbenzene	=>	tri-PPPD
tetraphenylmethane	=>	tetra-PPPD
1,3,5-triethynylbenzene с CdS	=>	DNC-1
tetraphenylmethane с CdS	=>	DNC-2
tetraphenylmethane с CdS	=>	DNC-2

Образцы DNC-2 и DNC-3 отличались между собой условиями синтеза: исходная концентрация при синтезе образца DNC-3 была в 4 раза ниже (2.3 М/л), чем образца DNC-2 (8.5 М/л). Для DNC-1 концентрация при синтезе составляла 8.5 М/л, как и в случае DNC-2.

На Рисунке 5.13 показаны изображения квантовых точек CdS, полученных с помощью ПЭМ, всех трех образцов CdS/PPPD изученных нами. Размеры квантовых точек CdS равны 4.3 нм со стандартным отклонением 20.0% для DNC-1, 3.9 нм со стандартным отклонением 15.4% для DNC-2, и 2.4 нм со стандартным отклонением 20.8% для DNC-3.

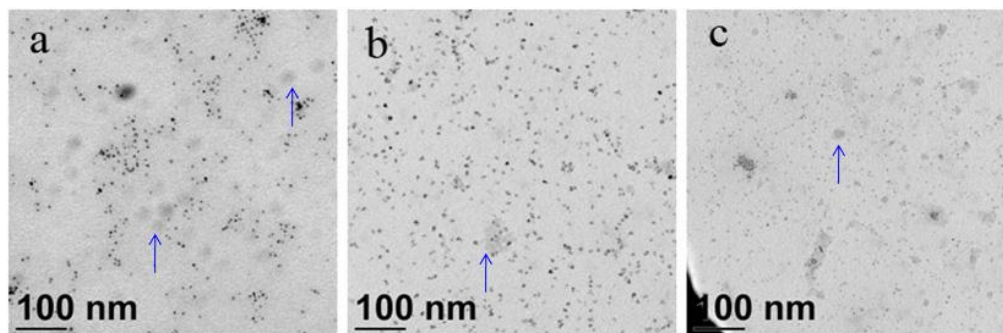


Рис. 5.13. Изображения квантовых точек CdS, полученных с помощью ПЭМ, для DNC-1 (a), DNC-2 (b), и DNC-3 (c). Темные точки - наночастицы CdS, более крупные серые образования (указанные синими стрелками) - это агрегаты PPPD.

Экспериментальные кривые МУРР исследованных образцов представлены на Рис. 5.14.

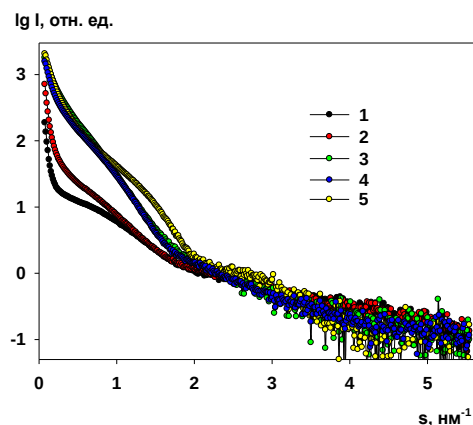


Рис. 5.14. Экспериментальные кривые МУРР от tri-PPPD (1), tetra-PPPD (2), DNC-1 (3), DNC-2 (4) и DNC-3 (5).

Для того, чтобы наиболее полно охарактеризовать CdS/PPPD наноконкомпозиты, исследовалась структура как отдельных дендримеров, так и их комплексы с квантовыми точками. Все кривые МУРР, представленные на Рис. 5.14, характеризуются, во-первых, значительным повышением рассеяния в самых

малых углах, то есть присутствием крупных частиц, а во-вторых, наличием характерного рассеяния от формы наночастиц в диапазоне волновых векторов от 1.0 до 3.0 нм⁻¹, что свидетельствует о рассеянии также моодисперсными объектами. Для таких систем, как мы показали в главе 3, следует разделить структурный анализ возможных ассоциатов и индивидуальных наночастиц, используя соответствующие угловые интервалы на кривых МУРР.

Для оценки формы и размера индивидуальных рассеивающих объектов были рассчитаны с помощью программы GNOM парные функции $p(r)$ на интервале, где исключено рассеяние от крупных супрамолекулярных образований ($s < s_{min}$). Чтобы найти необходимый интервал было использовано приближение Гинье, удовлетворяющее требованию $sR_g < 1.3$. Интервал $s > s_{min}$ был использован для вычисления парных функций $p(r)$, которые потом использовались для восстановления форм с помощью программы DAMMIN.

5.2.1. Форма и размер исходных дендримеров

Для обоих дендримеров значение $s_{min} = 0.8 \text{ нм}^{-1}$ было достаточным, чтобы исключить влияние крупных ассоциатов и восстановить форму индивидуальных макромолекул. Средние радиусы инерции R_g и максимальные размеры D_{max} индивидуальных tri-PPPD и tetra-PPPD наночастиц и нанокомпозитов представлены в Таблице 12. Эти данные хорошо коррелируют с тем, что было получено ранее с помощью атомно-силовой микроскопии для tetra-PPPD [238].

Таблица 12. Характеристические размеры PPPD и CdS/PPPD нанокомпозитов

Образец	Индивидуальные частицы	
	R_g , нм	D_{max} , нм
tri- PPPD	1.7±0.1	5.0±0.5
tetra-PPPD	2.0±0.1	6.0±0.5
DNC-1	2.1±0.1	6.0±0.5
DNC-2	2.6±0.1	8.0±0.8
DNC-3	1.65±0.05	4.5±0.3

Результат восстановления формы индивидуальных наночастиц tri-PPPD и tetra-PPPD а помощью программы DAMMIN показаны на Рис. 5.15.

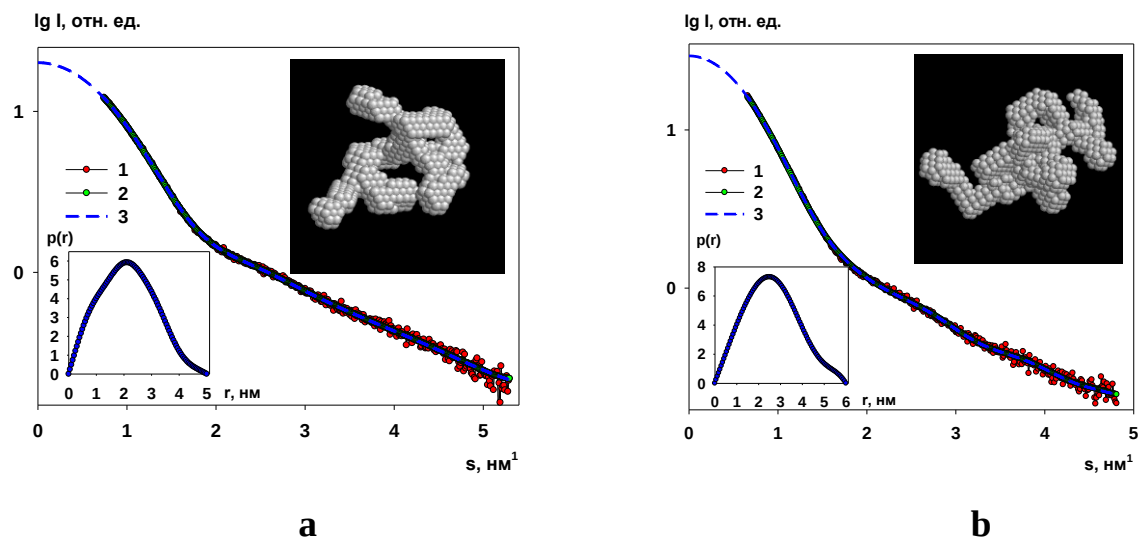


Рис. 5.15. Восстановление формы индивидуальных молекул PPPD в растворе для tri-PPPD (a) и tetra-PPPD (b): экспериментальные кривые (1); рассеяние от моделей DAMMIN (2); кривые, экстраполированные в нулевой угол (3). Вставки: парные функции (слева внизу) и *ab initio* шариковые модели дендримеров (справа сверху).

Восстановленные *ab initio* формы отражают подвижность ветвей дендримеров в растворах, вызванную вращением ароматических фрагментов вокруг C-C связей.

5.2.2. Форма и размер ассоциатов дендримеров

Начальный участок кривых рассеяния (вплоть до $s = s_{min} \sim 0.8$ nm⁻¹) от дендримеров в растворе отражает форму их ассоциатов. Для tri-PPPD и для tetra-PPPD парные функции $p(r)$, рассчитанные по этому участку кривых МУРР дают максимальный размер порядка 70 нм и средний размер поперечного сечения

ассоциатов около 25 нм. Восстановленные формы ассоциатов дендримеров показаны на Рис. 5.16.

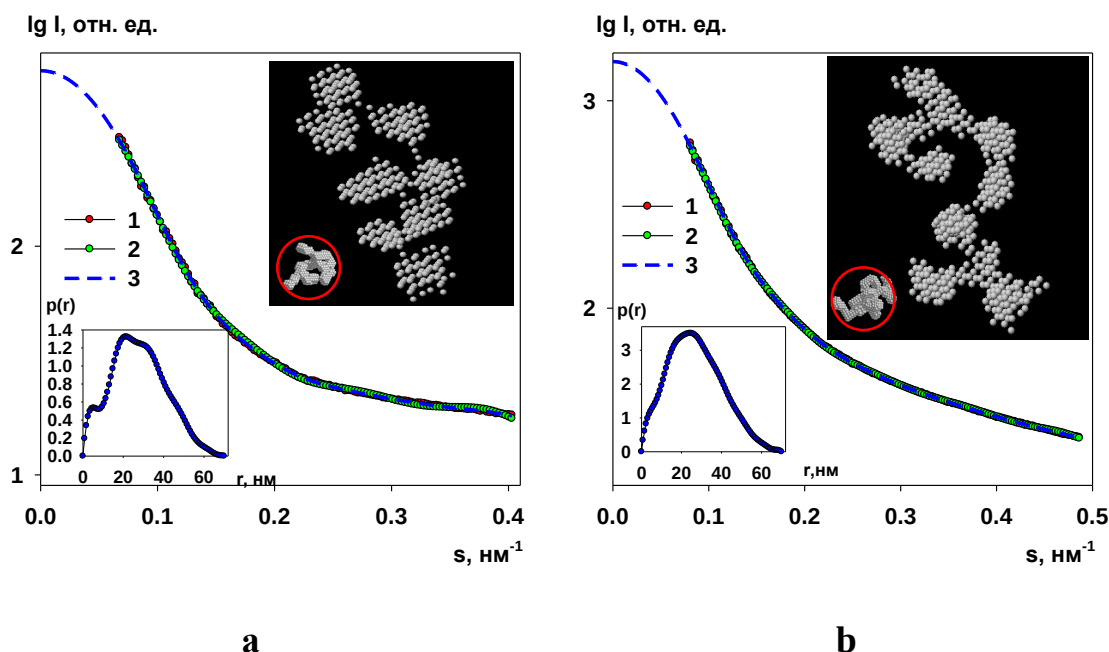


Рис. 5.16. Восстановление формы ассоциатов tri-PPPD (a) и tetra-PPPD (b) в растворе: экспериментальные кривые (1); рассеяние от моделей DAMMIN (2); кривые, экстраполированные в нулевой угол (3). Вставки: парные функции (слева внизу) и *ab initio* шариковые модели дендримеров (справа сверху); для сравнения размеров красным обведены восстановленные формы индивидуальных PPPD.

Таким образом, ассоциаты представляют собой разветвленные цепочки длиной порядка 70 нм, состоящие из частиц с размерами 4.5 – 5.5 нм, что совпадает с размерами для индивидуальных макромолекул дендримеров. Количество ассоциатов в образцах по нашим оценкам не превышает нескольких весовых процентов, то есть их число составляет в растворе порядка 0.01%.

5.2.3. Форма и размер CdS/PPPD нанокомпозитов

Для CdS/PPPD нанокомпозитов рассеяние в основном определяется рассеянием от квантовых точек из-за их высокой электронной плотности по

сравнения с дендримерами: 4.8 г/см^3 против 1.06 г/см^3 . Однако сигнал от дендримеров также присутствует в кривых МУРР и это следует учитывать при определении формы нанокompозитов.

Для более точного восстановления формы квантовых точек в составе CdS/PPPD нанокompозитов из кривых рассеяния нанокompозитами следует вычесть рассеяние от исходных дендримеров. Результаты восстановления формы CdS по разностным кривым представлены на Рис. 5.17.

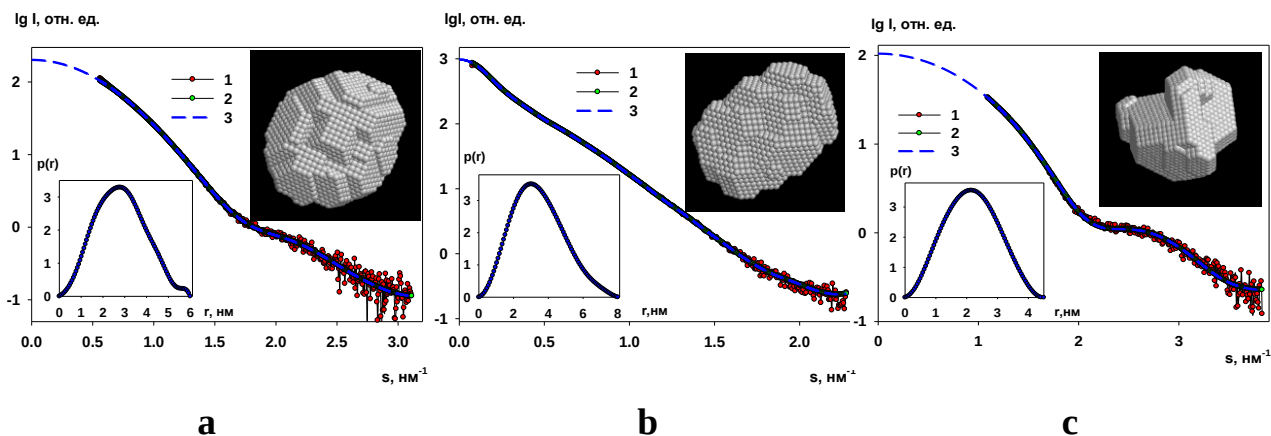


Рис. 5.17. Восстановление формы CdS в нанокompозитах DNC-1 (a), DNC-2 (b) и DNC-3 (c): экспериментальные кривые (1); рассеяние от моделей DAMMIN (2); кривые, экстраполированные в нулевой угол (3). Вставки: парные функции (слева внизу) и *ab initio* шариковые модели квантовых точек CdS (справа сверху).

Полученные *ab initio* формы представляют собой плотные слегка удлинённые тела с максимальными размерами 6.0 нм (DNC-1) и 8.0 нм (DNC-2) с поперечным сечением порядка 2.5 нм. Эти размеры несколько превышают размеры, полученные с помощью ПЭМ. Несмотря на то, что рассеяние исходными дендримерами было вычтено, влияние остаточного рассеяния от них все-таки остается из-за перекрестных членов от рассеяния квантовыми точками и дендримерами в интегральном уравнении МУРР. В целом это приводит к некоторому увеличению размеров и искажению форм. Однако, следует отметить,

что полученные данные хорошо коррелируют с размерами, полученными динамическим светорассеянием для этих нанокомпозитов [239].

Было бы естественно предположить, что для стабилизации одной квантовой точки необходима одна молекула дендримера, но размер квантовых точек слишком большой. Поэтому нами число молекул дендримеров в нанокомпозитах было приблизительно оценено по объему Порода. Нанокомпозиты DNC-1, DNC-2 и DNC-3 имеют объемы $70 \pm 7 \text{ нм}^3$, $90 \pm 8 \text{ нм}^3$ и $40 \pm 4 \text{ нм}^3$, соответственно, в то время как объемы tri- и tetra-PPPD равны $10 \pm 1 \text{ нм}^3$ и $15 \pm 2 \text{ нм}^3$. Учитывая породовские объемы квантовых точек, можно предположить, что для их стабилизации нужно 2-4 макромолекулы PPPD. Инкапсуляцию CdS можно метафорически представить как сплюснутый мяч (кватновая точка) в руках (дендримеры) с тем, чтобы поверхность мяча была недоступна для растворителя (Рис. 5.18). Такой сценарий соответствует структурам tri- и tetra-PPPD, где периферическими группами являются фенильные кольца, которые не могут взаимодействовать с поверхностью CdS, тогда как пиридиновые группы, сорбируясь на поверхности квантовых точек, локализованы внутри PPPD молекул.



Рис. 5.18. Гипотетическая морфология CdS/PPPD нанокомпозитов.

5.2.4. Моделирование структуры CdS/PPPD нанокомпозитов методом молекулярной тектоники

Ab initio восстановление формы имеет ряд ограничений: полидисперсность искажает реконструированную форму; для неоднородных тел не учитывается разность электронных плотностей; полиморфизм также влияет на результат и так

далее (см. главу 3). Поэтому для построения более точной модели CdS/PPPD нанокompозитов нами был использован метод молекулярной тектоники [36]. Для моделирования использовались формы PPPDs, полученные выше *ab initio* методом и программой DAMMIN, а квантовые точки CdS (ядра) моделировались различными эллипсоидами вращения с размерами и анизотропией близкими к тем, что были ранее определены для квантовых точек. Важно, что число виртуальных атомов (шариков) в моделях CdS задавалось так, чтобы учесть разность в электронной плотности квантовых точек и дендримеров - для эллипсоидов их число было примерно в 5 раз больше, чем для дендримеров на единицу объема. Для каждого нанокompозита использовалось множество прогонов программы SASREF с разным числом макромолекул PPPDs (от двух до четырех, как было показано выше по Породовскому объему) и с разными формами ядер (эллипсоиды вращения с различными геометрическими характеристиками). Параметры эллипсоидов выбирались не произвольным образом, но основываясь на данных ПЭМ с учетом полидисперсности. Кроме того проводился анализ полученных решений и были построены трехмерные графики зависимости невязки χ^2 от параметров эллипсоидов с полуосями a, b, c. В результате нами были получены модели, представленные на Рис. 5.19, 5.20 и 5.21.

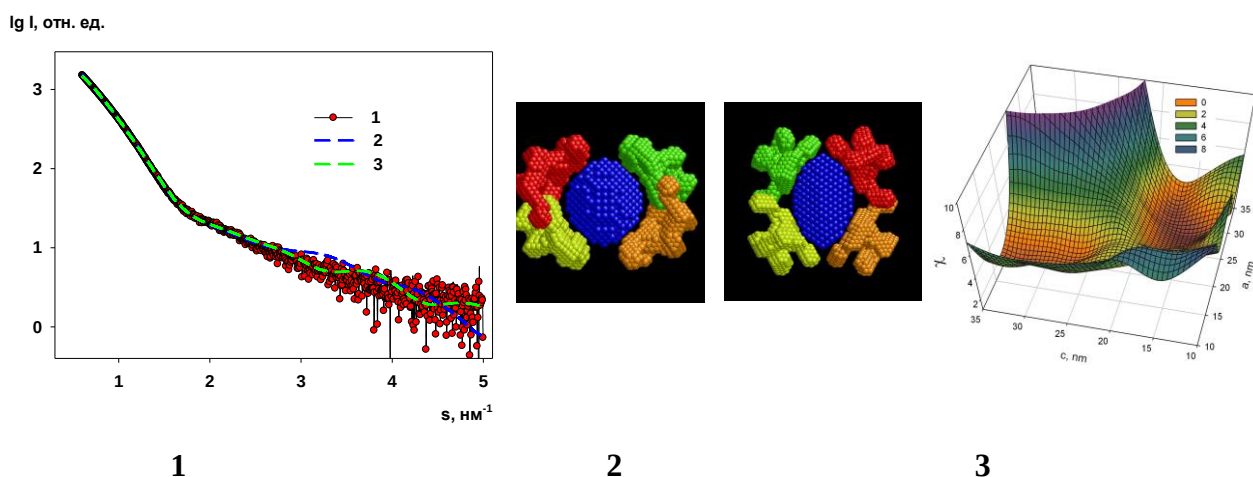


Рис. 5.19. Моделирование с помощью молекулярной тектоники для композита DNC-1. Панель 1: экспериментальная кривая МУРР (1); рассеяние от

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 нанокompозита программой SASREF (синий цвет: CdS ядро, другие цвета: tri-PPD 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.

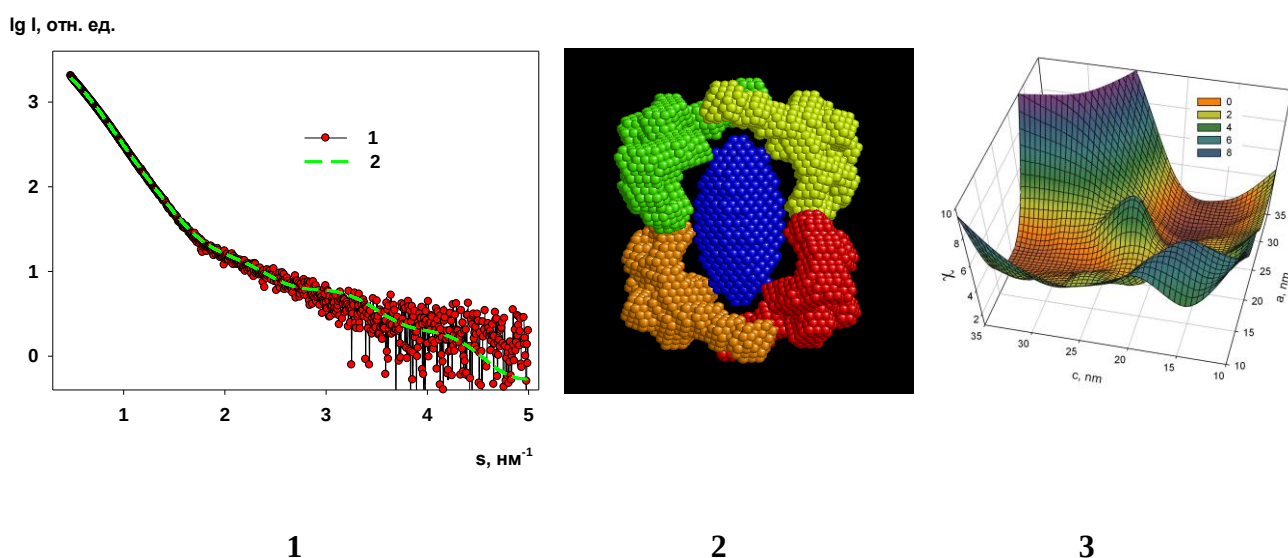


Рис. 5.20. Моделирование с помощью молекулярной тектоники для композита DNC-2. Панель 1: экспериментальная кривая МУРР (1); рассеяние от модели с ядром $1.5 \times 3.0 \times 3.0$ нм, показанной на панели 2 (2). Панель 2: реконструкция структуры нанокompозита программой SASREF (цвета как на Рис. 5.19). Панель 3: цветовая поверхность решений: зависимость невязки от параметров CdS ядра с полуосями a , b , c . Самый глубокий минимум наблюдается для сплюснутых частиц с $a = 3.0$ нм и $c = 1.5$ нм.

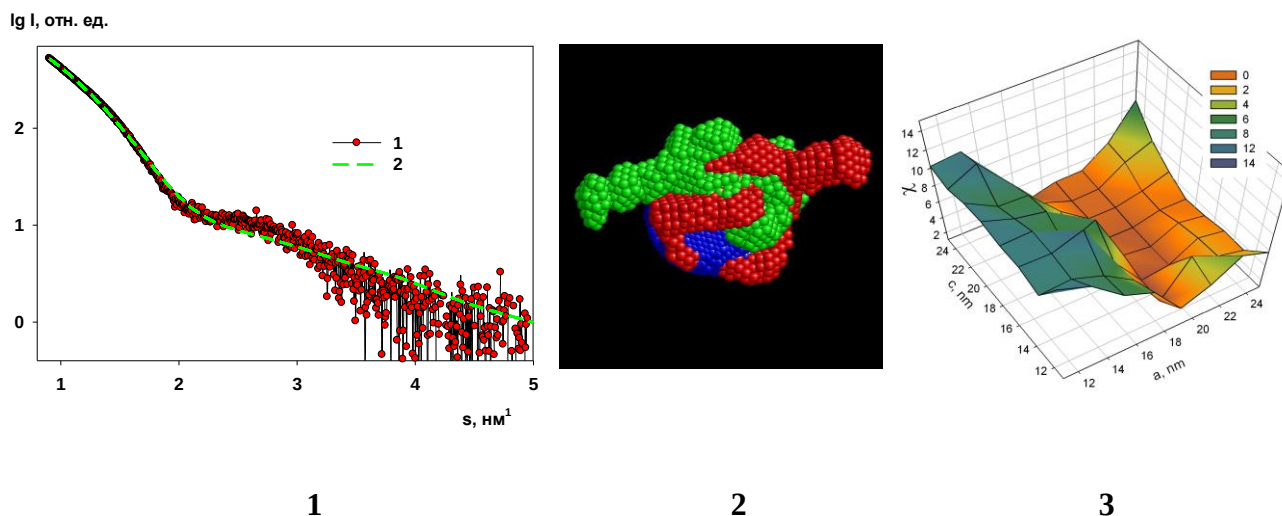


Рис. 5.21. Моделирование с помощью молекулярной тектоники для композита DNC-3. Панель 1: экспериментальная кривая МУРР (1); рассеяние от модели с ядром $1.3 \times 1.9 \times 1.9$ нм, показанной на панели 2 (2). Панель 2: реконструкция структуры нанокомпозита программой SASREF (цвета как на Рис. 5.19). Панель 3: цветовая поверхность решений: зависимость невязки от параметров CdS ядра с полуосями a , b , c .

Все модели, полученные нами с помощью метода молекулярной тектоники (моделирование твердыми телами) соответствуют предложенной выше морфологии нанокомпозитов CdS/PPPD, названной сплюснутый мяч в руках.

Следует отметить, что удовлетворительное 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.

5.2.5. Форма и размер ассоциатов CdS/PPPD нанокompозитов

Парные функции $p(r)$, рассчитанные по начальной части кривых рассеяния (меньше $s_{\min}=1 \text{ нм}^{-1}$), для DNC-1, DNC-2 и DNC-3 нанокompозитов, то есть для их ассоциатов, демонстрируют максимальные размеры порядка 60-65 нм (Рис. 5.22, а), что меньше, чем ассоциаты исходных PPPD (Рис. 5.16), с поперечным сечением около 7 нм для DNC-1 и DNC-2 и приблизительно 12 нм для DNC-3.

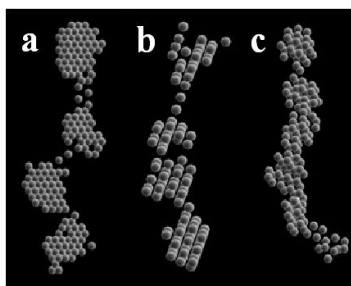
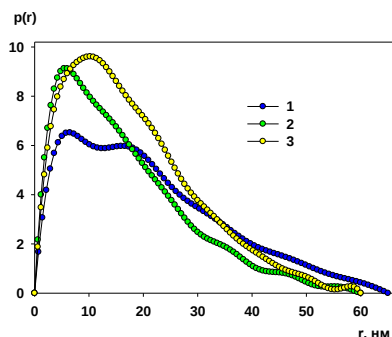


Рис.5.22. Парные функции $p(r)$ для CdS/PPPD ассоциатов: DNC-1 (1), DNC-2 (2), и DNC-3 (3) (слева) и их восстановленные формы (справа), обозначенные,

соответственно, как (а), (б) и (в). Формы (а), (б) и (в) не представлены адекватно их размерам - дана только их общая конфигурация для лучшей визуализации.

Формы ассоциатов, восстановленные программой DAMMIN представляют собой цепочки частиц с размерами, соответствующими размерам индивидуальных CdS/PPPD наночастиц в растворе. В отличие от PPPD ассоциатов, которые представляют собой разветвленные цепи (Рис. 5.16), ассоциаты CdS/PPPD короче (4-5 отдельных тел) и почти линейные. Мы предполагаем, что из-за присутствия квантовых точек CdS в наночастицах композита межчастичное взаимодействие затруднено, поскольку дендримеры адсорбированы на поверхности CdS, но если взаимодействие все-таки происходит, структура в целом становится более жесткой из-за ограниченной подвижности CdS/PPPD частиц. Стоит отметить, что в процессе ассоциации возникают цепочки отдельно расположенных и почти несприкасающихся наночастиц, что дополнительно позволяет нам проводить анализ рассеяния как от индивидуальных частиц так и от их ассоциатов.

5.2.6. Итоговые комментарии к исследованию

В представленной выше работе впервые удалось визуализировать трехмерную морфологию наночастиц композитов CdS/PPPD по данным малоуглового рентгеновского рассеяния. Эти наночастицы обладают и полидисперсностью и структурным полиморфизмом, что подтверждается данными ПЭМ и других методов. Тем не менее, нам на практике удалось показать, что методы структурной диагностики МУРР, разработанные изначально для монодисперсных систем, могут быть успешно использованы и в случае структурно полиморфных и полидисперсных систем, если их структурная вариабельность ограничена и не превышает уровня разрешения метода. 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. Используя 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. Однако, с другой стороны, всегда необходимо помнить о принципиальной неоднозначности метода малоуглового рассеяния. Поэтому МУРР всегда лучше использовать в многоплановых взаимодополняющих исследованиях с целью перекрестного подтверждения полученных результатов.

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

5.3. Заключение к главе 5

В Главе 5 были представлены структурные исследования современных монодисперсных нанокомпози́тов, которые очень важны с точки зрения их применения. Так, магнитные наночастицы в последнее десятилетие привлекают к себе большое внимание. Взрыв интереса к исследованиям в этой области мотивирован широкими технологическими возможностями их применения, в вычислительной технике и системах хранения данных, для повышения контраста в магнитно-резонансной томографии, в качестве селективных датчиков для исследования биомолекулярных взаимодействий, для разделения клеток, для доставки лекарственных препаратов, в гипертермии и так далее (Глава 2). В свою очередь, водорастворимые катионные полифениленпиридиниевые дендримеры могут служить, например, в качестве перспективных наноразмерных матриц для получения материалов с узким распределением по размерам и с четко определенными свойствами, а также для применения в медицине и биологии и разработки дендримерных носителей для диагностики и лечения широко распространенных социально значимых нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера, прионовые болезни и др.) [240].

В связи с этим важной задачей является развитие методов структурной нанодиагностики таких нанокомпози́тов, то есть определения их структурных параметров на уровне 1 - 100 нм. В данной главе нами были показаны возможности малоуглового рассеяния для детальной характеристики сложных композиционных систем, рассмотрены условия стабилизации магнитных наночастиц в растворе биodeградируе́мыми полимерами, показано влияние оболочки на поведение наночастиц в растворе и предложены новые методы интерпретации данных малоуглового рассеяния для сложных взаимодействующих наносистем.

Глава 6

Структурная нанодиагностика биологических макромолекул и их комплексов

В рассмотренных ниже работах представлены современные подходы к анализу малоугловых данных при исследовании различных биологических объектов и их 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. Теория малоуглового рассеяния и подходы к решению структурных задач изначально и в основном развивались именно для исследования монодисперсных систем идентичных частиц. 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. Выше мы показали, что разработанные методы могут быть также адаптированы для решения значительно более широкого круга задач. Тем не менее, МУРР в исследованиях различных биологических объектов, благодаря своей универсальности, попрежнему играет решающую роль. Это подтверждается, например, проведенным нами анализом докладов, представленных на последней по времени 11-ой Международной конференции по биологии и синхротронному излучению 2013 (BSR2013), проходившая в сентябре 2013 года в Гамбурге, Германия, где хорошо видно преобладающее присутствие МУРР в биологических исследованиях (Рис. 6.1).

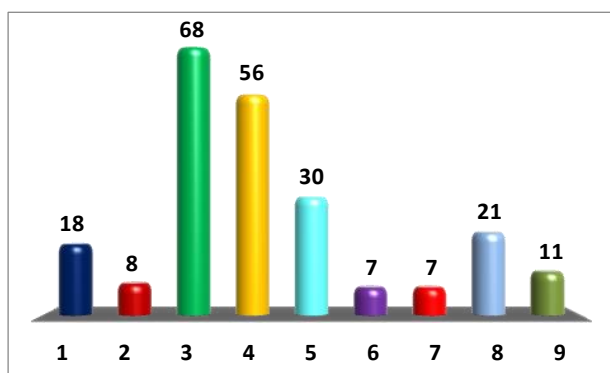


Рис. 6.1. Распределение по темам докладов на 11-ой Международной конференции по биологии и синхротронному излучению 2013

(BSR2013): 1 - инструментарий для синхротронных исследований; 2 - подготовка и характеристика биологических образцов; 3 - малоугловое рентгеновское рассеяние в исследованиях биологических образцов; 4 - рентгеновская кристаллография макромолекул; 5 - методы визуализации биологических объектов; 6 - исследование медицинских объектов; 7 - развитие метода МУРР; 8 - гибридные методы в структурной биологии; 9 - использование лазера на свободных электронах в биологии.

Основными тенденциями, которые были ярко выражены в докладах на этой престижной конференции являлись следующие:

1. Переход от частного к целому и, как следствие, изучение многокомпонентных систем.
2. Разработка новых методов интерпретации и визуализации данных при исследовании более сложных систем.
3. Измерения в реальном времени, изучение быстрых процессов и динамических систем.
4. Исследование разупорядоченных биологических объектов.
5. Использование гибридных методов: (i) сочетание различных методов исследования, (ii) сочетание различных подходов к интерпретации и (iii) исследование сложных (составных) макромолекул.
6. Исследование единичных биологических объектов.

Как можно видеть из этого перечня, по-прежнему остается актуальным изучение структуры индивидуальных биологических объектов (белков, нуклеотидов и других), но все больше внимания уделяется сложным структурам, комплексам и межмолекулярным взаимодействиям, то есть переходу от простого (единичного) к сложному (к системе). Усложнение объектов исследования неизбежно требует разработки новых подходов к решению структурных задач. Еще совсем недавно невозможно было опубликовать работы по малоугловому

исследованию белковых макромолекул, если образец содержал некоторое количество агрегатов или ассоциатов [241]. Однако, на практике исследуемые образцы практически всегда обладают некоторой полидисперсностью и/или полиморфностью, которые часто являются проявлением существенных свойств и функциональных особенностей исследуемых веществ. Именно поэтому с помощью компьютерного моделирования нами был проведен анализ возможности восстановления структуры рассеивающих объектов в случае их взаимодействия или при наличии агрегатов и кластеров (Глава 3). Выше было показано, как полученные выводы и разработанные приемы были использованы на практике для небелковых объектов. В данной Главе нами будет показана возможность построения моделей и восстановления структуры низкого разрешения для системных объектов - бионаноккомпозитов 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 и другими методами.

6.1. Изменения структуры квазинематических слоев молекул ДНК, индуцированные катионами редкоземельных элементов и наночастицами золота

Бионанотехнология – раздел нанотехнологии, задачей которого является создание пространственных наноконструкций (нанообъектов), характеризующихся размерными свойствами, строительными блоками которых являются молекулы биологического происхождения [242].

Среди недавно изученных наноконструкций 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 [243, 244]. Например, ионы Gd^{3+} , связывающиеся с линейной двухцепочечной ДНК в водно-солевых растворах или в частицах 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. Эти частицы, будучи внедрены в специально подобранную биологическую среду, например ХЖКД ДНК или РНК, могут быть введены внутрь опухоли и полностью ее разрушить при нагревании под воздействием инфракрасного излучения, которое глубоко проникает в ткани через поверхность кожи. 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 нанокомпозитов, 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 [A35 - A38] и (2) наночастицами золота [A39 - A45].

6.1.1. Структурные характеристики частиц холестерических жидко-кристаллических дисперсий ДНК в комплексе с гадолинием

Жесткие частицы холестерических жидко-кристаллических дисперсий (ХЖКД), сформированные из двухцепочечных макромолекул ДНК в комплексе с солью гадолиния демонстрируют уникальные свойства, которые выражаются в двух главных эффектах:

- 1) усиление отрицательной полосы спектра кругового дихроизма (КД), которая характерна для исходных ХЖКД на основе ДНК;
- 2) исчезновение характеристических брегговских пиков на экспериментальных кривых малоуглового рассеяния, соответствующих пространственно организованному двухцепочечным макромолекулам ДНК.

Изначально эти эффекты казались несовместимыми и противоречащими друг другу и, соответственно, нуждались в объяснении. Одним из наиболее демонстративных методов разумной интерпретации обнаруженных феноменов является моделирование структуры полученных комплексов и сравнение кривых малоуглового рассеяния от моделей с экспериментальными данными МУРР. Таким образом, основной целью данной работы было структурное моделирование перехода между «жидким» и «жестким» состоянием макромолекул двухцепочечной ДНК в составе частиц ХЖКД в процессе их взаимодействия с солью гадолиния, и сравнение полученной информации с результатами методов структурного исследования.

Прежде всего, можно предположить, что присоединение низких концентраций ионов гадолиния к двухцепочечной молекуле ДНК даже, если она находится в составе частиц ХЖКД, приводит к нарушению гомогенности вторичной структуры нуклеиновой кислоты. Модифицированные молекулы ДНК разделяются на чередующиеся фрагменты с различными конформациями полинуклеотида (например, В–Z–В–В–Z–Z). Поэтому, если фрагменты соседних молекул комплекса ДНК с гадолинием или даже все молекулы в составе

холестерических жидко-кристаллических дисперсий приобретают неоднородную вторичную структуру, следует ожидать, что трансляционный порядок этих фрагментов (молекул) нарушится, и структурные брегговские пики на кривых малоуглового рассеяния должны либо измениться, либо исчезнуть.

Поэтому было интересно провести моделирование структурных изменений в ДНК на надмолекулярном уровне, а для этого измерить кривые МУРР ХЖКД ДНК в комплексе с солью гадолиния в разных концентрациях последнего.

Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния от исходных ХЖКД ДНК частиц и их комплексов с различными концентрациями соли $GdCl_3$ показаны на Рис. 6.2.

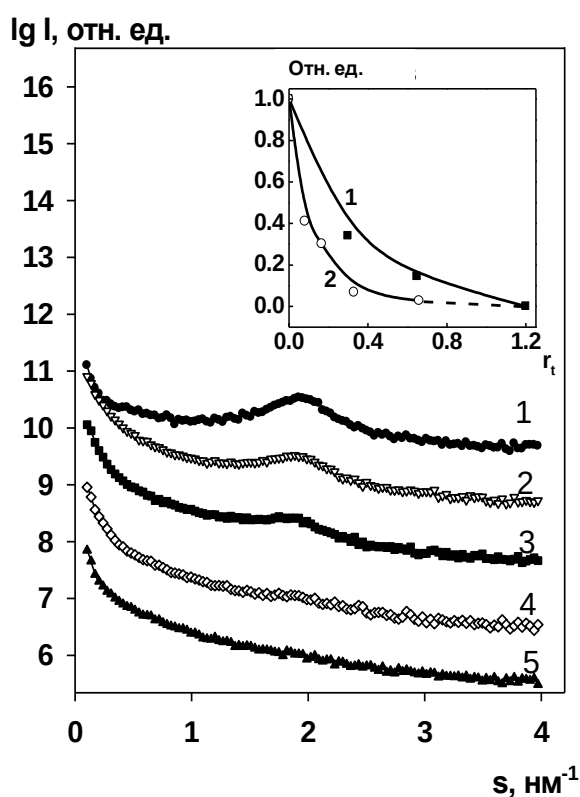


Рис. 6.2. Экспериментальные кривые МУРР от исходных ХЖКД ДНК частиц (кривая 1) и от их комплексов с различными концентрациями соли Gd (кривые 2-5). Кривые МУРР разнесены по вертикали для лучшей визуализации. Вставка: сравнение кругового дихроизма (КД) и МУРР: 1- зависимость амплитуды аномальной отрицательной полосы спектра КД комплексов ДНК- Gd^{3+} от значений r_t ; 2 - зависимость амплитуды брегговских пиков на кривых МУРР комплексов ДНК- Gd^{3+} от значений r_t , где

r_t – отношение общей молярной концентрации $GdCl_3$ к молярной концентрации азотных оснований ДНК.

Соответствующие структурные характеристики, рассчитанные с помощью программы РЕАК по кривым малоуглового рассеяния, представлены в Таблице 13.

Таблица 13. Структурные характеристики исходных ХЖКД ДНК частиц и их комплексов с солью гадолиния

Образцы	$s_{\max}$, нм ⁻¹	$\bar{d}$, нм	L , нм	$\Delta/\bar{d}$	A^*	S^*	r_t^*
DNA	1.9	3.2	21	0.12	0.52	0.0127	0
DNA/Gd₁	1.9	3.3	28	0.11	0.30	0.0057	0,082
DNA/Gd₂	1.9	3.3	30	0.10	0.22	0.0026	0,167
DNA/Gd₃	1.9	3.3	26	0.10	0.05	0.0005	0,33
DNA/Gd₄	1.9	3.3	24	0.10	0.02	0.0000	0,66

A - амплитуда первого брегговского пика, относительные единицы

S - площадь под брегговским пиком, относительные единицы.

r_t - отношение общей молярной концентрации $GdCl_3$ к молярной концентрации азотных оснований ДНК

Следует сразу отметить, что все структурные изменения молекул ДНК в составе ХЖКД частиц, выявленные с помощью малоуглового рассеяния происходят при очень низких концентрациях соли гадолиния (Таблица 13). При $r_t = 0.66$ характеристический брегговский пик исчезает полностью (Рис. 6.2, кривая 5). В этом интервале концентраций зависимость амплитуды аномальной отрицательной полосы спектра КД комплексов ДНК- Gd^{3+} от значений r_t и зависимость амплитуды брегговских пиков на кривых МУРР комплексов ДНК- Gd^{3+} от значений r_t демонстрируют схожий характер. Следовательно, гипотеза, что вторичная структура ДНК при взаимодействии с ионами гадолиния серьезно нарушается, находит свое подтверждение в данных малоуглового рассеяния.

Как можно видеть из Таблицы 13, такие основные структурные характеристики образцов как положение брегговского максимума $s_{\max}$ на кривых рассеяния, периодичность системы ($\bar{d} = 2\pi/s_{\max}$), средние размеры квазикристаллитов L и степень разупорядоченности системы ($\Delta/\bar{d}$) практически не изменяются. Это свидетельствует о том, что внутренняя структура упорядоченных

регионов в ХЖКД частицах остается постоянной. Однако, последовательное уменьшение площади под брегговскими пиками после образования комплекса ДНК с гадолинием говорит об уменьшении числа упорядоченных квазикристаллических регионов в системе. Следовательно, можно предположить, что взаимодействие между катионами гадолиния и молекулами ДНК нарушает параллельную укладку последних и приводит к уменьшению числа упорядоченных регионов и образованию разупорядоченных областей.

Функции объемных распределений по размерам неоднородностей $D_V(R)$ в ХЖКД ДНК, рассчитанные с помощью программы GNOM, показаны на Рис. 6.3.

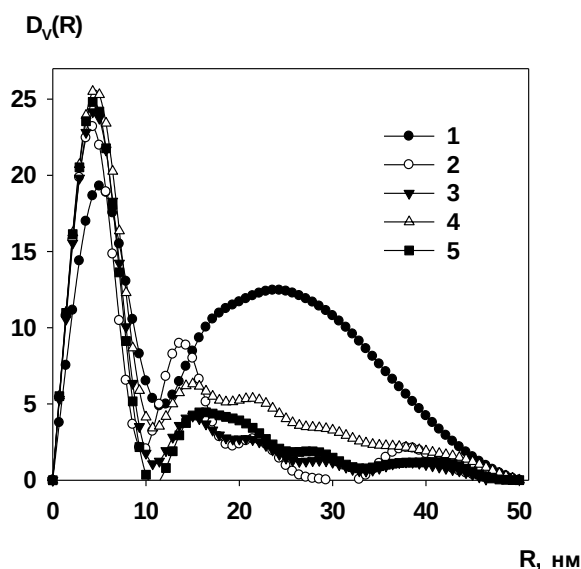


Рис. 6.3. Объемные функции распределения по размерам $D_V(R)$ для исходных ХЖКД частиц (кривая 1) и их комплексов с гадолинием в порядке повышения концентрации последнего (кривые 2–5).

Все распределения носят бимодальный характер с первой фракцией, имеющей размеры 5-6 нм и широким вторым максимумом с размерностями от 10 до 50 нм. Предположительно первая фракция относится к поперечному сечению среднего ансамбля макромолекул ДНК в ХЖКД частицах, а вторая отражает его длину. Средний размер второй фракции коррелирует со средним значением размеров квазикристаллитов L , показанных в Таблице 13. Форма брегговских пиков на экспериментальных кривых МУРР отражает сосуществование упорядоченных и разупорядоченных областей в частицах ХЖКД ДНК, а величины степени разупорядоченности ($\Delta/\bar{d}$), также показанных в Таблице 13, являются

численными характеристиками такой структурной организации. Поэтому можно предложить умозрительную модель, соответствующую внутренней структуре частиц ХЖКД ДНК (Рис. 6.4)

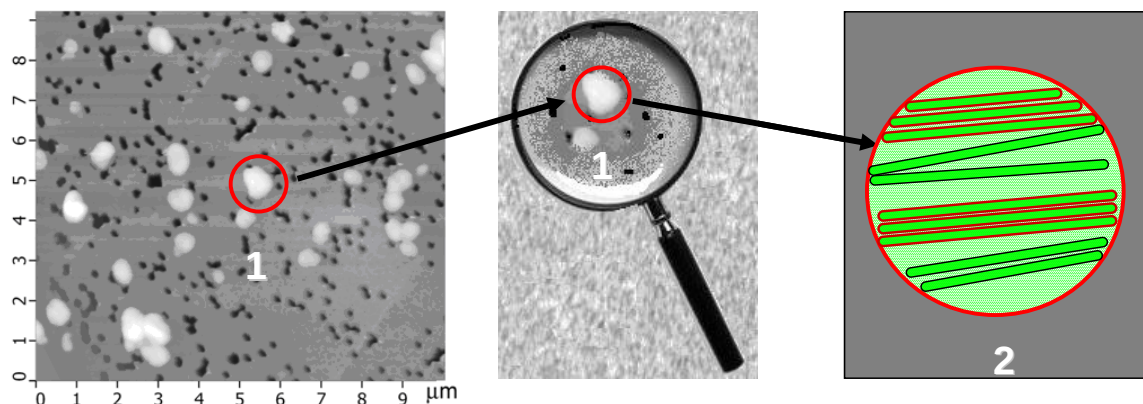


Рис. 6.4. Схематическое представление внутренней структуры частиц ХЖКД ДНК: 1 – атомно-силовая микроскопия частиц ХЖКД ДНК; 2 – внутренняя структура слоя молекул ДНК в частицах ХЖКД ДНК с упорядоченными регионами, характеризующимися средней длиной 25 - 30 нм и поперечным сечением молекулярных ансамблей ДНК порядка 5 - 6 нм.

Предложенную умозрительную модель мы подтвердили компьютерным моделированием, применяя два альтернативных подхода. Первый состоял в моделировании системой простых тел без учета особенностей вторичной структуры ДНК. С помощью вспомогательной программы `gen_dam_body` программного комплекса ATLAS были смоделированы длинные цилиндры с диаметром 2.3 нм и длиной 40-50 нм в качестве одной молекулы двухцепочечной молекулы ДНК. С помощью программы MASSHA [47] эти цилиндры были расположены аналогично тому, как могли бы быть расположены макромолекулы ДНК в квазикристаллических областях частиц ХЖКД с периодом (межплоскостным расстоянием или с расстоянием между центрами макромолекул-цилиндров) $\bar{d} \approx 3.0 - 3.3$ нм. Такие параметры соответствовали реальной системе

ХЖКД ДНК. Далее были смоделированы возможные структурные изменения в квазикристаллах, т.е. вносилось некоторое разупорядочение в параллельно уложенных слоях ДНК: там где ионы гадолия присоединялись к макромолекулам полинуклеотида происходило либо стягивание на более близкое расстояние двух прямых цилиндров, либо их изгиб в точке присоединения Gd^{3+} . Затем программой CRY SOL рассчитывались интенсивности рассеяния от полученных моделей ХЖКД ДНК и сравнивались с экспериментальными данными. Результаты моделирования представлены на Рис. 6.5. Наилучшее совпадение с экспериментальными данными дала модель ансамбля с небольшим нарушением параллельности цилиндров (Рис. 6.5, слева).

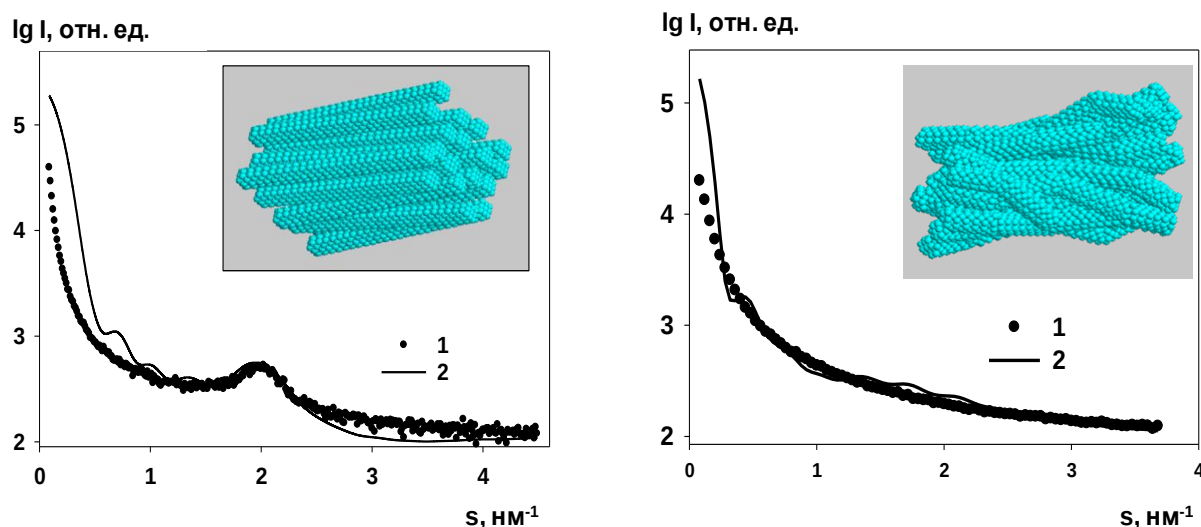


Рис. 6.5. Сравнение экспериментальных кривых МУРР для исходных систем ХЖКД ДНК (кружочки) с модельными кривыми от систем длинных цилиндров (непрерывные линии): слева - невысокая степень разупорядочения параллельной упаковки ДНК; справа - высокая степень разупорядочения с изгибом цилиндров. Вставки: PDB-модели упаковок молекул ДНК. Диаметр цилиндров 2.3 нм, длина 40-50 нм и расстояние между центрами цилиндров приблизительно 3.0 - 3.3 нм.

Оказалось, что при низкой степени нарушения параллельности модельная кривая рассеяния демонстрирует брегговский пик на том же самом месте, то есть с

тем $\bar{d} = 2\pi/s_{\max}$, какой наблюдается в эксперименте. Большая степень разупорядочения и изгиб цилиндров приводит к полному исчезновению брегговского максимума (Рис. 6.5, справа). Промежуточные варианты, то есть постепенное введение разупорядочения, хорошо совпадают с экспериментальными данными (не показано для экономии места).

Второй подход к моделированию ХЖКД ДНК систем состоял в использовании реальной структуры атомного разрешения В-формы ДНК из банка данных RCSB Protein Data Bank (PDB: 1bna для двухспиральной ДНК в В-форме), которая показана на Рис. 6.6.

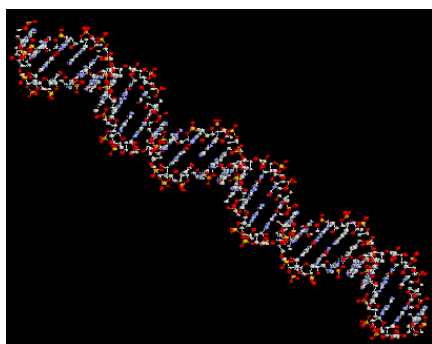


Рис. 6.6. Атомная структура ДНК (PDB: 1bna, фрагмент В-формы).

Аналогично предыдущему подходу, с помощью программы MASSHA были смоделированы упорядоченные и разупорядоченные системы ХЖКД ДНК с такими же геометрическими параметрами систем, то есть с расстоянием между центрами 3.3 нм и длиной макромолекул 40 – 50 нм (Рис. 6.7)

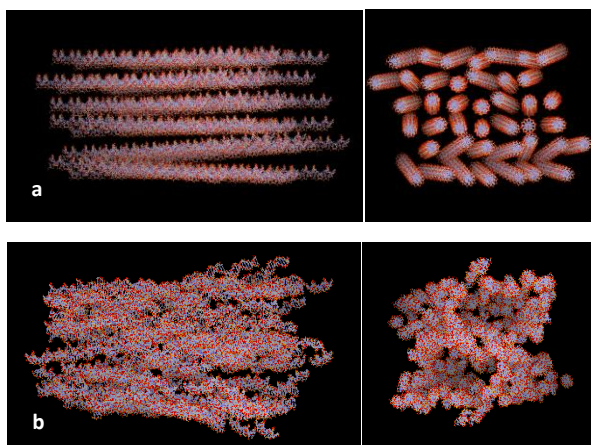


Рис. 6.7. Блоки, составленные из атомных структур ДНК: с низкой степенью разупорядочения (а) и с изогнутыми макромолекулами ДНК (б). Показаны в двух взаимно перпендикулярных ориентациях.

Сравнение кривых рассеяния от полученных моделей с экспериментальными представлено на Рис. 6.8. Как видно из рисунка, модельные и экспериментальные кривые показывают хорошее соответствие и почти не отличаются от кривых на Рис. 6.5. Это происходит потому, что метод малоуглового рассеяния является методом низкого разрешения и влияние рассеяния от атомных структур в нем незначительно. В основном проявляется влияние от рассеяния формой, которая для атомной структуры также представляется длинным цилиндром.

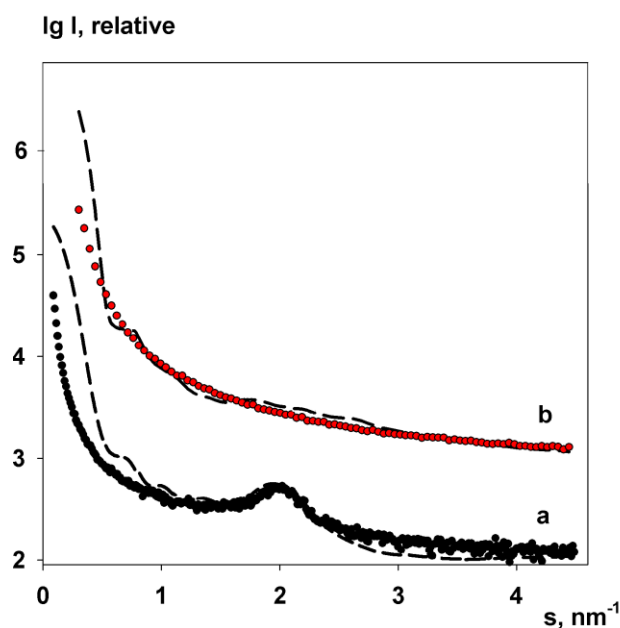


Рис. 6.8. Сравнение экспериментальных кривых МУРР (кружочки) с модельными (пунктирные линии) при использовании структур атомного разрешения для ДНК: а - низкая степень разупорядочения; б — разупорядоченная система.

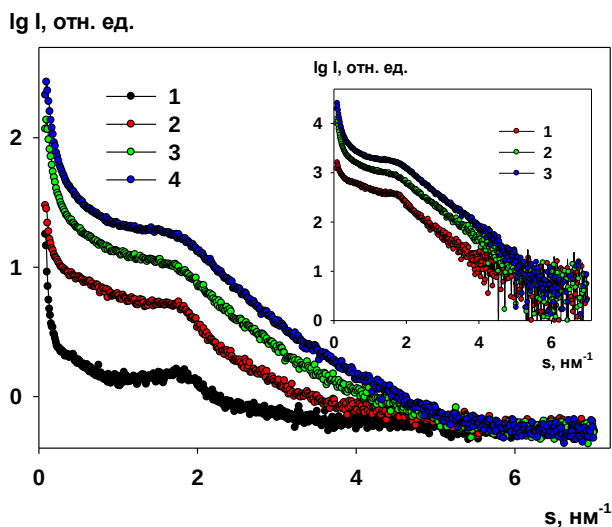
Полученные результаты показывают, что тонкие изменения в конформации ДНК при взаимодействии с ионами гадолиния могут быть детектированы с помощью КД или другими оптическими методами, но не с помощью малоуглового рассеяния. С другой стороны, МУРР показывает изменения упаковки в квазикристаллических областях, что невозможно выявить оптическими методами. Поэтому сочетание методов позволяет получить наиболее полную информацию о системе.

Таким образом, результаты, представленные в этом исследовании, помогли разрешить противоречие 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.

6.1.2. Структура квазинематических слоев молекул ДНК с инкорпорированными наночастицами золота

Были измерены кривые малоуглового рассеяния от образцов ХЖКД ДНК с инкорпорированными наночастицами золота со средними размерами 2 нм: образцы DNA+Au1, DNA+Au2 и DNA+Au3. Цифры 1, 2 и 3 соответствуют концентрации золота в системе: $0.066 \cdot 10^{14}$, $0.33 \cdot 10^{14}$ и $0.66 \cdot 10^{14}$ наночастиц золота в 1 мл. В качестве контроля использовалась кривая малоуглового рассеяния исходной жидко-кристаллической дисперсии ДНК - образец DNA. Полученные кривые малоуглового рассеяния представлены на Рис. 6.8.



(DNA+Au1)-DNA, 2 - (DNA+Au2)-DNA и 3 - (DNA+Au3)-DNA.

Рис. 6.9. Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния образцов исходной ХЖКД ДНК (DNA) и жидко-кристаллической дисперсии ДНК с инкорпорированными наночастицами золота: 1 – DNA; 2 - DNA+Au1; 3 - DNA+Au2; 4 - DNA+Au3. На вставке представлены разностные кривые: 1 -

Как видно из Рис. 6.9, на кривых малоуглового рассеяния образцов с инкорпорированными наночастицами золота присутствуют максимумы, положение которых совпадает с положением характеристического брэгговского пика на кривой малоуглового рассеяния исходной ХЖКД ДНК. Появление брэгговских максимумов на кривых рассеяния свидетельствует об образовании упорядоченной структуры с характеристическими параметрами, которые определяются из положения пиков, их интенсивности и полуширины, поскольку при рассеянии неструктурированными, неупорядоченными образцами брэгговские максимумы не могут появиться [5, 56]. В области самых малых углов, т. е. в области центрального рассеяния, наблюдается значительное увеличение интенсивности малоуглового рассеяния, что свидетельствует о присутствии в образцах достаточно крупных рассеивающих объектов.

Важно, что положение максимумов на кривых рассеяния не изменилось после инкорпорации в ХЖКД ДНК наночастиц золота. Это говорит о том, что структура ХЖКД ДНК в целом сохранилась – остались прежними межплоскостные расстояния, которые характеризуются положением брэгговских пиков и определяются из соотношения $d_1 = 2\pi/s_1$. В этом случае у нас появляется уникальная возможность проанализировать рассеяние непосредственно от наночастиц металла [5]. Для этого из рассеяния комплексом ДНК+Au следует вычесть рассеяние исходной ХЖКД ДНК. Полученные таким образом разностные кривые представлены на вставке Рис. 6.9. Они были использованы для анализа строения кластеров наночастиц золота в матрице ДНК.

То, что после вычитания рассеяния ХЖКД ДНК из рассеяния комплекса ДНК+Au, мы имеем дело с рассеянием именно от металла, видно из амплитуд малоуглового рассеяния разностных кривых – они на 2 порядка выше амплитуд рассеяния комплексами (Рис. 6.9). Это происходит потому, что электронная плотность золота на порядок выше электронной плотности ХЖКД ДНК и

комплекса ХЖКД ДНК с золотом, а амплитуда рассеяния прямо пропорциональна значению электронной плотности [5].

Обращает на себя внимание тот факт, что после вычитания рассеяния от исходной ХЖКД ДНК, брэгговские пики не только сохранились на разностных кривых рассеяния, но и их положение не изменилось. Это означает, что наночастицы золота структурированы и расположены так же, как расположены молекулы ДНК в составе ХЖКД. Совпадение структурных характеристик хорошо видно из Таблицы 14, где представлены структурные параметры, посчитанные с помощью программы PEAK [20] для всех образцов, в том числе для кластеров золота, т.е, для кривых, обозначенных как (DNA+Au1)-DNA, (DNA+Au2)-DNA и (DNA+Au3)-DNA.

Совпадение основных параметров структуры исходной ХЖКД ДНК и структуры, образованной наночастицами золота, свидетельствует о том, что наночастицы встроились в архитектуру ХЖКД ДНК: они обволакивают и контрастируют макромолекулы ДНК, воспроизводя таким образом структуру жидкокристаллической дисперсии. Иными словами наночастицы золота образуют контрастную реплику структуры исходной ХЖКД ДНК.

Таблица 14. Структурные характеристики образцов ХЖКД ДНК

Наименование кривых рассеяния	$s_{\max}$ nm^{-1}	$\bar{d}$ nm	L nm	$\Delta/\bar{d}$
DNA	1.8	3.6	24	0.12
DNA+Au1	1.8	3.6	23	0.11
DNA+Au2	1.7	3.7	21	0.13
DNA+Au3	1.8	3.6	20	0.12
(DNA+Au1)-DNA	1.7	3.7	24	0.12
(DNA+Au2)-DNA	1.8	3.6	20	0.13
(DNA+Au3)-DNA	1.8	3.6	21	0.14

Как видно из Таблицы 14, структурные характеристики образцов, в том числе и посчитанные по разностным кривым, практически не отличаются между собой в пределах ошибки измерения – относительная ошибка измерения не превышала 2%. Таким образом, расстояние между параллельно лежащими молекулами ДНК в ХЖКД в среднем остается неизменным после инкорпорации наночастиц золота, а сами наночастицы металла, располагаясь в пространстве между молекулами ДНК, воспроизводят структуру исходной жидкокристаллической структуры.

Для определения структурной организации кластеров наночастиц золота, инкорпорированных в ХЖКД ДНК, были посчитаны функции распределения по расстояниям $p(r)$ на угловом интервале от 0.3 до 3.0 nm^{-1} , где профиль кривой рассеяния в большей степени определяется индивидуальными наночастицами золота и/или их небольшими кластерами. Полученные профили функции $p(r)$ представлены на Рис. 6.10.

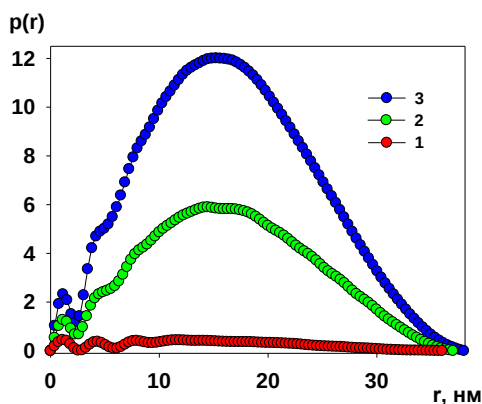


Рис. 6.10. Функции распределения по расстояниям, определенным по разностным кривым малоуглового рассеяния: 1 - (DNA+Au1)-DNA; 2 - (DNA+Au2)-DNA; 3 - (DNA+Au3)-DNA.

Следует отметить, что амплитуда функции распределения по расстояниям $p(r)$ пропорциональна количеству рассеивающих электронов. Соответственно, для образца с самым высоким содержанием золота амплитуда $p(r)$ максимальна, а для образца (DNA+Au1) – минимальна. Форма кривых функций $p(r)$ характерна для тел удлиненной формы [5] с максимальным размером (длиной) около 40 нм. Имеется также размер порядка 2.0 нм и кратные этой величине размерности,

которые воспроизводятся на всех профилях функции распределения по расстояниям. Можно предположить, что кластеры золота состоят из наночастиц с размерами около 2.0 нм, которые образуют короткие и длинные цепочки, расположенные между макромолекулами ДНК. Как следует из Рис. 6.10, наиболее популярная длина (наибольшая амплитуда функции $p(r)$) во всех образцах равна 13 – 16 нм, хотя там могут встречаться и более короткие цепочки, вплоть до единичных наночастиц золота (Рис. 6.11).

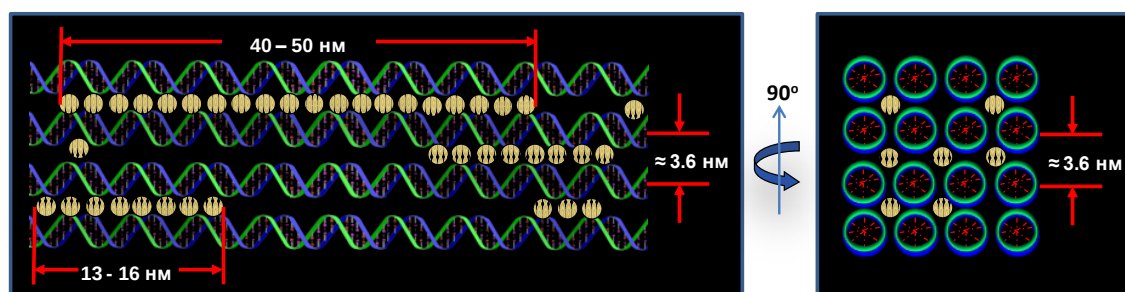


Рис. 6.11. Гипотетическая модель строения комплекса DNA+ Au.

С помощью косвенного Фурье-преобразования, реализованного в программе CNOM [19] можно определить распределение по размерам наночастиц золота. Однако, в данном случае эта процедура будет некорректной, так как при вычислении распределения по размерам используется сферическая аппроксимация формы наночастиц, что в данном случае невозможно, поскольку располагаясь между молекулами ДНК наночастицы образуют удлинённые кластеры. Метод малоуглового рассеяния является методом низкого разрешения, и формы, представленные на Рис. 6.12, для метода будут представляться как единые удлинённые тела 1 и 2 (например, цилиндры), а не совокупность отдельных сфер.

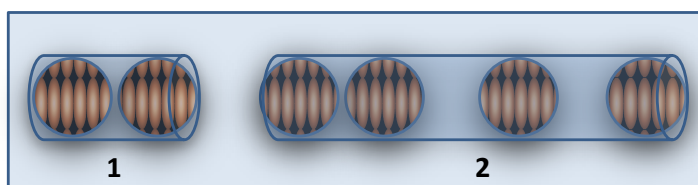


Рис. 6.12. Малоугловое рассеяние от объектов, состоящих из близко расположенных сферических тел,

будет аппроксимироваться как единые удлинённые тела цилиндрической формы.

Дополнительным и независимым подтверждением слоевого расположения наночастиц золота в структуре ХЖКД ДНК может быть моделирование строения кластеров и их взаимного расположения с последующим сравнением теоретической кривой рассеяния от таких моделей с экспериментальным малоугловым профилем. В программе MASSHA [47] кластеры наночастиц золота были построены из плотных сфер со средним размером 2 нм и расположенных в параллельных слоях с межплоскостным расстоянием равным 3.6 нм. 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 Рис. 6.13.

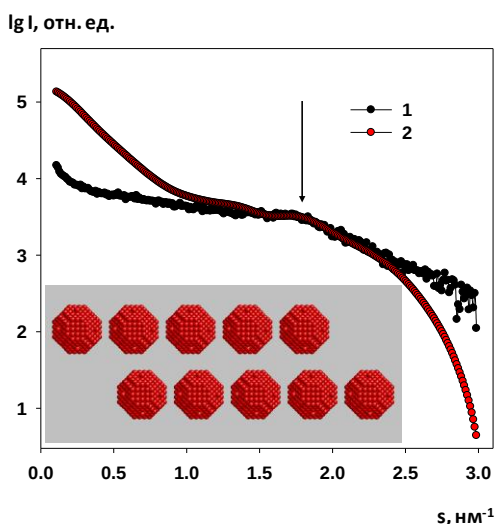


Рис. 6.13. Сравнение экспериментальной (DNA+Au1)-DNA (1) и модельной (2) кривых рассеяния для кластеров золота в области Брэгговского пика (указан стрелкой). На вставке внизу — гипотетическое расположение наночастиц золота между слоями ДНК. Расстояние между слоями задано равным 3,6 нм.

Как видно из Рис. 6.13, в области брэгговского пика экспериментальная и модельная кривые полностью совпадают, т.е. совпадают межплоскостные

расстояния, определяемые из $d_1=2\pi/s_1$. Аналогичные результаты были получены и для других концентраций золота. Следует также заметить, что использование в моделировании расстояний, отличных от 3.6 нм, приводило к сдвигу брэгговского пика и к отсутствию корреляции между экспериментальной и модельной кривыми.

Таким образом, мы показали, 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 «ауروفильных» связей между атомами золота, уменьшением длины связи Au-Au и перекрыванием d-орбит [245]. Распределение кластеров по размерам (длинам) может определяться кинетическими факторами и возможностью сосуществования кластеров разного размера [246].

Мы рассмотрели воздействие наночастиц золота малого размера (~ 2 нм) и показали, что инкорпорация их в жидкокристаллическую структуру ДНК индуцируют два разных процесса на двух разных структурных уровнях:

1) переход холестерической структуры частицы дисперсии в нематическую, сопровождаемый быстрым уменьшением амплитуды аномальной полосы в спектре кругового дихроизма [247];

2) формирование кластеров из наночастиц золота в пространстве между соседними макромолекулами ДНК, фиксированными в структуре квазинематических слоев.

В целом, воздействие наночастицами Au на ХЖКД ДНК приводит к формированию нанобиоматериала с новыми физико-химическими свойствами,

отличающие его от стандартных нанобиоматериалов на основе двухцепочечных молекул ДНК [248].

Было важно также исследовать изменение в структуре жидкокристаллических дисперсий двухцепочечных ДНК при инкорпорации в них более крупных наночастиц золота. Была измерена кривая малоуглового рассеяния от образца ХЖКД ДНК с инкорпорированными наночастицами золота с размером 15 нм (Рис. 6.14, кривая 2).

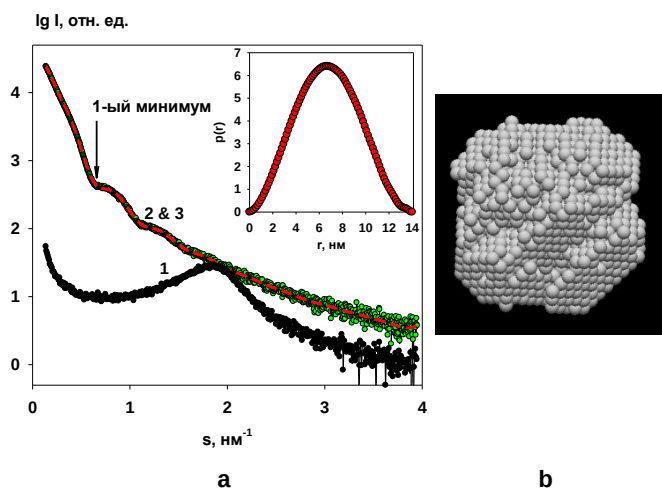


Рис. 6.14. МУРР от образца ХЖКД ДНК с наночастицами золота с размером 15 нм и восстановление формы наночастиц золота. **а:** 1 - экспериментальная кривая; 2 - модельная кривая от формы наночастиц Au; 3 - кривая рассеяния, рассчитанная программой GNOM от парной функции. Вставка: парная функция $p(r)$. **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 кривой малоуглового рассеяния для этого образца видно, что эти наночастицы слегка полидисперсны - интенсивность повышается в области центрального максимума. Однако эта полидисперсность незначительная и 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.

Поскольку полидисперсность наночастиц золота незначительна, нами была посчитана функция распределения по расстояниям $p(r)$, представленная на Рис. 6.14 во вставке. Радиус инерции, полученный по парной функции $p(r)$ и максимальный размер D_{max} также дают размер наночастиц порядка 14 ± 1 нм. Определенная с помощью программы DAMMIN форма представлена на Рис. 6.14 справа. Оказалось, что полученная форма имеет выраженные грани. Возможно такая форма оказывает дополнительный эффект на структурную организацию ХЖКД ДНК: в отличие от наночастиц золота с размером 2 нм, крупные наночастицы полностью разрушают квазинематическую упаковку ДНК. Мало 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 также резкое уменьшение амплитуды аномальной отрицательной полосы спектра КД для этого образца. Схематическую, гипотетическую модель такой структуры можно представить так, как это показано на Рис. 6.15.

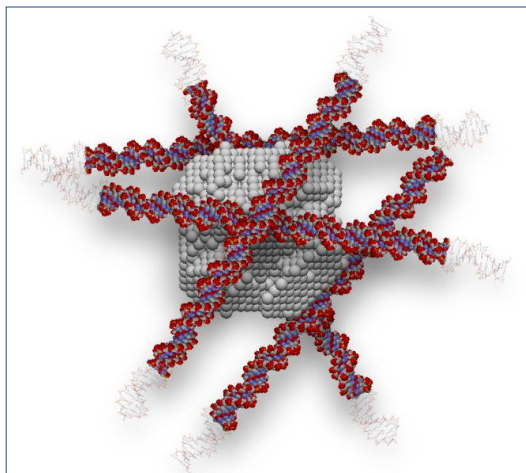


Рис. 6.15. Гипотетическая структура, образующаяся при взаимодействии двухцепочечных молекул ДНК с крупными наночастицами золота.

Таким образом, отрицательно заряженные наночастицы золота взаимодействуют с двухцепочечными молекулами ДНК в составе ХЖКД, полностью разрушают исходную квазинематическую структуру и образуют разупорядоченные агрегаты ДНК-Au. Это позволяет предположить, что пространственная топография наночастиц Au может играть роль внешнего фактора, который подавляет процессы взаимного распознавания молекулами ДНК и формирования холестерической структуры в комплексе ХЖКД ДНК - Au.

В заключение можно сказать, что результаты изучения пространственной структуры методом малоуглового рентгеновского рассеяния жидкокристаллических дисперсий ХЖКД ДНК и их комплексов с редкоземельными металлами и золотом, во-первых, в очередной раз продемонстрировали потенциал метода в решении структурных задач и построении моделей в случае биконтинуальных систем. Особо следует подчеркнуть значение компьютерного моделирования пространственной структуры. В данном цикле работ такой подход был использован впервые для выяснения строения наноконструкций. Во-вторых, 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 [248].

6.2. Структура и комплексообразование матричного белка вируса гриппа М1 в растворе

Объектом исследования данной работы являлся один из ключевых белков вируса гриппа - матричный белок М1. 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 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 патогенных частиц.

Вирион гриппа обычно имеет сферическую форму, но под микроскопом часто также видны удлинённые или бесформенные частицы. Их размеры варьируют в пределах от 80 до 120 нм. Оболочку вируса гриппа образует рафтовая липидная мембрана, в которую включены белки - гемагглютинин, нейраминидаза и белок М2. Последний служит ионным каналом, избирательно проводящим внутрь вириона протоны, т.е. этот трансмембранный белок обеспечивает определённый уровень кислотности внутри вируса в процессе его жизненного цикла. Под оболочкой вириона находится генетический материал вируса (рибонуклеопротеиды), состоящий из восьми специфических фрагментов, которые кодируют все необходимые для вируса гриппа белки. Внутренние компоненты вирусной частицы с липидной мембраной и поверхностными белками связывает белок М1, образующий под мембраной жёсткий структурированный слой — матрикс. Этот матриксный белок — один из основных структурных компонентов вириона, который в процессе вирусной инфекции выполняет множество важных функций [249-251] и осуществляет белково-белковые и белково-липидные взаимодействия [252-254].

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. На снимках электронной микроскопии [255] он виден под липидной мембраной в виде регулярно организованной пространственной решетки, состоящей из «кирпичиков» размерами $4.0 \times 4.0 \times 6.0$ нм, а совсем недавно с помощью

электронной криотомографии удалось увидеть, что этот белок образует не просто слой, а спираль, плотно прилегающую изнутри к липидной оболочке вириона [256].

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 [257].

В единственной работе, где для исследования М1 использовался метод малоуглового (нейтронного) рассеяния, были приведены только интегральные характеристики М1 (размеры и молекулярная масса), но не структура [258]. Причем молекулярная масса свидетельствовала о том, что белок в растворе существует в виде мономера, в отличие от кристалла, где всегда обнаруживаются две макромолекулы в виде плотно упакованного димера. В то же время линейные размеры М1 в растворе оказались значительно больше тех, которые теоретически должны быть для глобулярного белка весом 30 кДа.

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 [259]. Но даже при этих условиях всегда образуется некоторое количество агрегатов, осложняя или делая недоступными детальные структурные исследования. Так, при исследовании структуры белка с помощью МУРР

присутствие в растворе более крупных частиц, то есть наличие агрегации или полидисперсности, как правило, приводит к некорректному решению структурной задачи [241]. Однако, даже многократно очищенные и тщательно приготовленные растворы М1, по полученным нами данным аналитического ультрацентрифугирования (Рис. 6.16) [A46], содержат от 2 до 2.5% агрегатов (фракция с коэффициентом седиментации $s_{20,w} = 5.5 S$). Скоростной эксперимент показал также наличие структурной анизотропии М1, а значение коэффициента седиментации основной фракции $s_{20,w} = 2.42S$ оказалось значительно ниже теоретического значения для глобулярных белков, состоящих из 252 аминокислот ($s_{max} = 3.15S$).

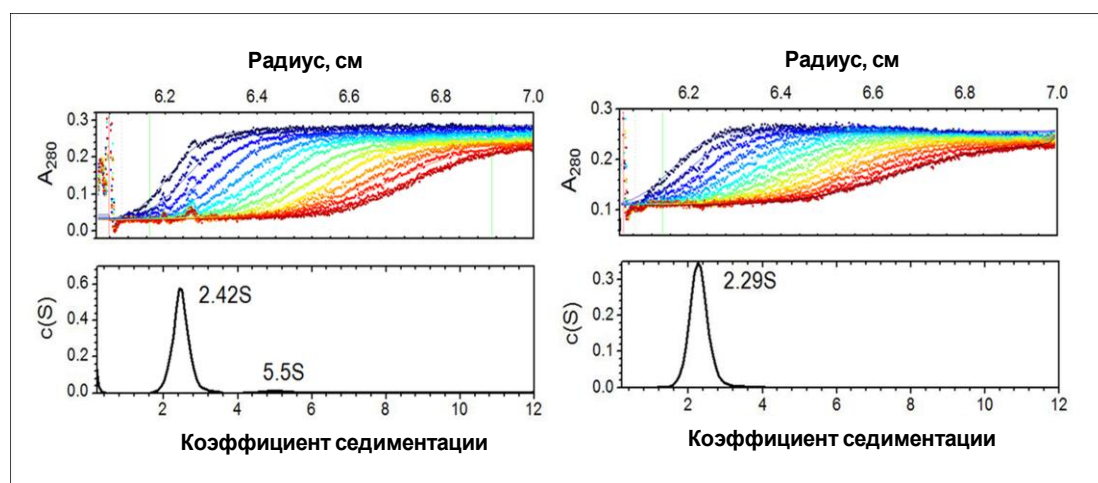


Рис. 6.16. УЦФ белка М1 (слева) и NM-домена (справа). Верхние панели: исходные данные; поглощение при 280 нм показано, как функция радиального положения мениска, на графике продемонстрированы каждая пятая кривая для лучшей визуализации. Нижние панели: соответствующие распределения по коэффициентам седиментации.

6.2.1. Интегральные характеристики белка М1 и его NM-домена

Анализ результатов аналитического ультрацентрифугирования (Рис. 6.16) свидетельствуют о том, что М1 в растворе имеет предположительно вытянутую форму, состоящую из глобулярной части (NM-домена) и частично

разупорядоченного, вытянутого С-конца. Это хорошо согласуется с выводами работы, где для анализа структуры М1 использовалась тритиевая планиграфия [260].

Дальнейшая структурная характеристика белка М1 и его домена NM были выполнены нами с помощью МУРР. Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния для М1 для всех использованных концентраций демонстрировали увеличение амплитуды рассеяния в самых малых углах (Рис. 6.17, левая панель), в то время как для NM-домена этого эффекта не наблюдалось (Рис. 6.17, правая панель).

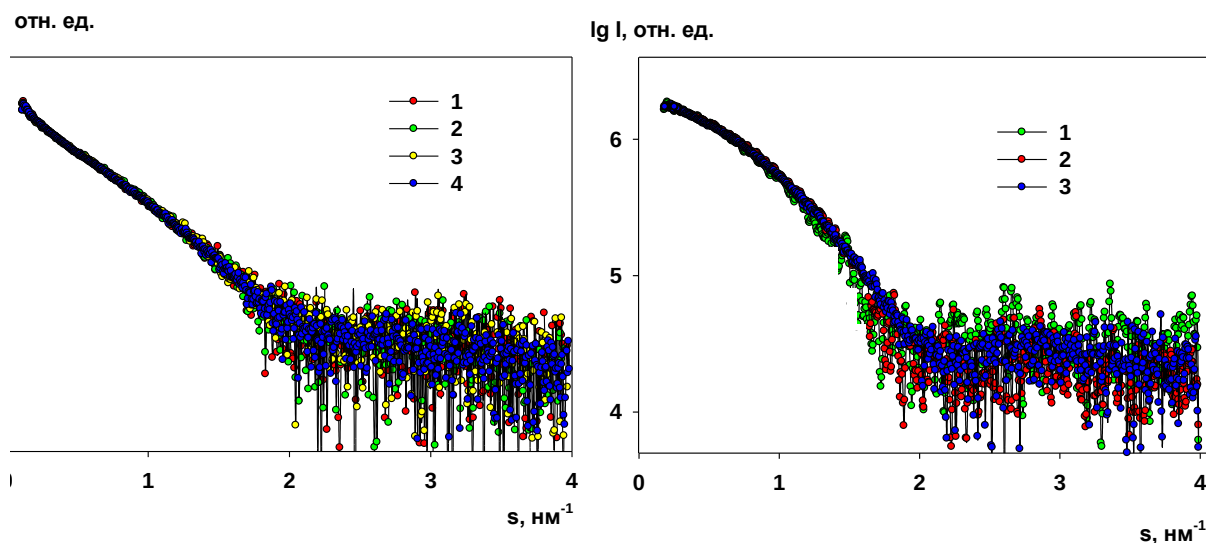


Рис. 6.17. Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния белком М1 (слева) и его NM-домена (справа), измеренные при концентрациях: для М1 кривые 1- 4 соответствуют концентрациям $c = 4.5$ мг/мл; 3.4 мг/мл, 2.3 мг/мл и 1.7 мг/мл; для NM-домена кривые 1 - 3 соответствуют концентрациям $c = 3.8$ мг/мл, 3.0 мг/мл и 1.5 мг/мл.

Для обоих образцов отсутствует концентрационная зависимость и межчастичная интерференция, однако, кривые МУРР для М1 свидетельствуют о сосуществовании в растворе мономеров белка и крупных ассоциатов даже при

кислом pH. Для NM-фрагмента белка при этих же условиях никаких форм агрегации или кластеризации не наблюдается.

Для восстановления структуры по данным малоуглового рассеяния в присутствии некоторого количества агрегатов или ассоциатов было необходимо определить область волновых векторов, где влияние рассеяния от крупных объектов будет снижено до минимума. Для этого использовался подход, описанный нами в Главе 3: прекращение изменения радиуса инерции R_g и максимального размера D_{max} при отсечении разного количества точек на кривой малоуглового рассеяния в самых малых углах, то есть в области, ответственной за рассеяние крупных рассеивающих объектов (Рис. 6.18).

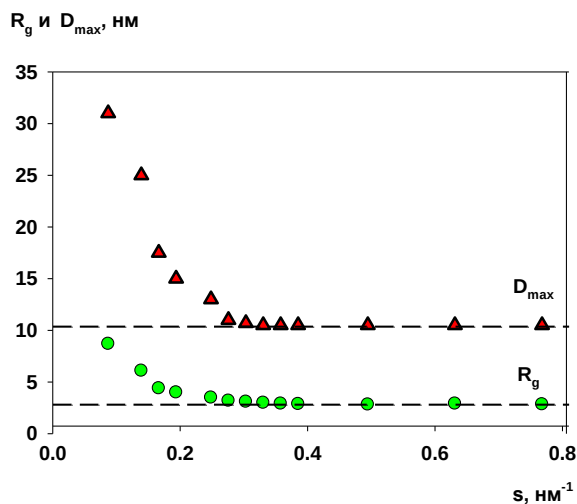


Рис. 6.18. Изменение R_g и D_{max} для белка M1 как функция волнового вектора при отсечении разного количества точек на кривой малоуглового рассеяния в самых малых углах, то есть в области, ответственной за рассеяние крупных рассеивающих объектов.

Как видно из Рис. 6.18, $s_{min} \approx 0.3 \text{ нм}^{-1}$ является минимальным значением волнового вектора s , при котором R_g и D_{max} достигают плато, то есть отсечение начального участка кривых рассеяния вплоть до этого значения s позволит минимизировать влияние рассеяния ассоциатами при восстановлении структуры белка M1. Поэтому далее для структурного анализа макромолекул M1 нами использовались усеченные кривые рассеяния в диапазоне от 0.3 нм^{-1} до 4 нм^{-1} .

Дополнительно были проанализированы графики Гинье и Кратки [5, 241, 261, 262] как для полного белка M1, так и для его MM-домена (Рис. 6.19).

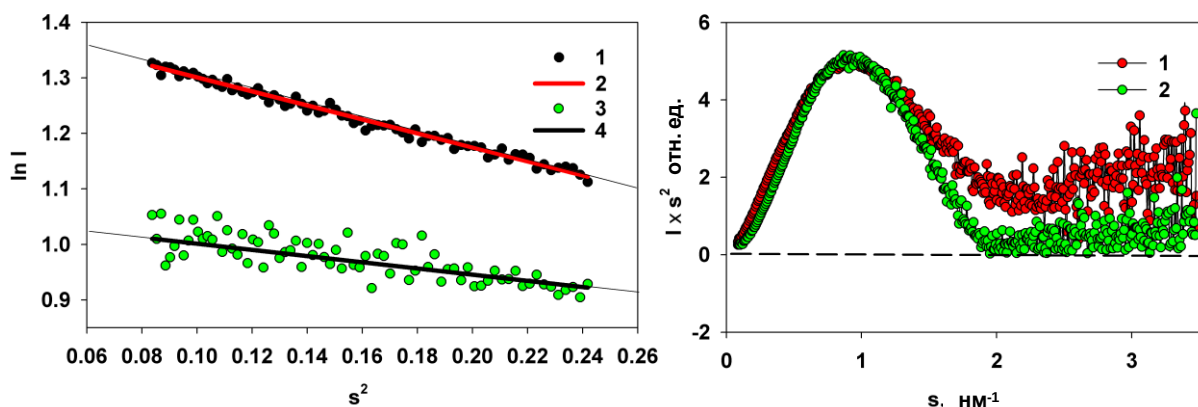


Рис. 6.19. Анализ области Гинье (слева) и графики Кратки (справа) для M1 белка и для NM-домена. График Гинье для M1: 1 – экспериментальные данные; 2 – приближение Гинье; график Гинье для NM-домена: 3 – экспериментальные данные; 4 – приближение Гинье). Графики Кратки для M1 (1) и для NM-домена (2).

При вычислении радиусов инерции было соблюдено ограничение: sR_g не должны превышать значения 1.3. Рассчитанное в интервале $0.3 < s < 0.44 \text{ нм}^{-1}$ значение $R_g = 2.9 \pm 0.1 \text{ нм}$ для M1 белка совпадало с полученным ранее в работе [258]. Молекулярная масса M , вычисленная из значения рассеяния в нулевом угле, оказалась равна $27 \pm 3 \text{ кДа}$, что очень хорошо коррелирует с теоретическим значением, определенном по аминокислотной последовательности белка (27.9 кДа).

Значения R_g для NM-домена ($1.9 \pm 0.1 \text{ нм}$) и его молекулярная масса ($17 \pm 2 \text{ кДа}$) свидетельствуют о том, что в растворе при кислом pH этот фрагмент белка в отличие от кристалла существует в виде мономера. Молекулярные массы целого белка M1 и его NM-фрагмента, рассчитанные по данным МУРР, полностью соответствуют значениям, которые были получены по данным аналитического ультрацентрифугирования ($27.9 \pm 1.4 \text{ кДа}$ и $18.5 \pm 1.0 \text{ кДа}$, соответственно).

Графики в координатах Кратки для обоих образцов (Рис. 6.19) имеют колоколообразные формы, характерные для плотно свернутых глобулярных

белков [5, 241, 261-263]. Однако график Кратки для M1 демонстрирует заметный подъем на больших углах, то есть часть этого белка (предположительно С-домен) может быть разупорядоченной и гибкой. Напротив, график Кратки для NM-домена типичен для компактных глобулярных белков. Породовские объемы (исключенные объемы) для M1 и NM-фрагмента равны $55 \pm 7 \text{ нм}^3$ и $36 \pm 5 \text{ нм}^3$, соответственно. Учитывая эмпирическое отношение породовского объема и молекулярных масс для белков, которое равно приблизительно $1/(1.7 \div 2.0)$ [241], эти объемы хорошо соответствуют теоретическим и полученным выше значениям молекулярных масс, что свидетельствует о существовании обоих образцов в растворе в виде мономеров.

6.2.2. *Ab initio* восстановление формы M1 белка и анализ гибкости и разупорядоченности его С-домена

Функция распределения по расстояниям $p(r)$ для M1, рассчитанная с помощью программы GNOM с использованием укороченного интервала волновых векторов (начиная с $s=0.3 \text{ нм}$) (Рис. 6.20, левая панель, вставка), дает D_{max} равным $10.5 \pm 1 \text{ нм}$. Ассиметричный профиль $p(r)$ отражает существование глобулярного региона с размером около 4 нм (предположительно, NM-домен) и удлинённого хвоста длиной примерно 6 нм (предположительно, С-концевого домена).

Структура низкого разрешения M1, восстановленная *ab initio* с помощью программ DAMMIN [25] и GASBOR [28], дают хорошее соответствие с экспериментальными данными (Рис. 6.20, А) с невязкой $\chi \approx 1.2$. Типичные модели, показанные на Рис. 6.20, В (верхний ряд), содержат компактную глобулярную часть и удлинённый хвост. Глобулярная форма, отмеченная окружностью, по размеру соответствует мономеру NM-домена (PDB: 1AA7). Таким образом, *ab initio* моделирование определенно показывает, что белок M1 содержит глобулярный NM-фрагмент, аналогичный по форме и размеру

кристаллической структуре мономера NM-домена, к которому присоединен слабо структурированный, гибкий С-концевой домен.

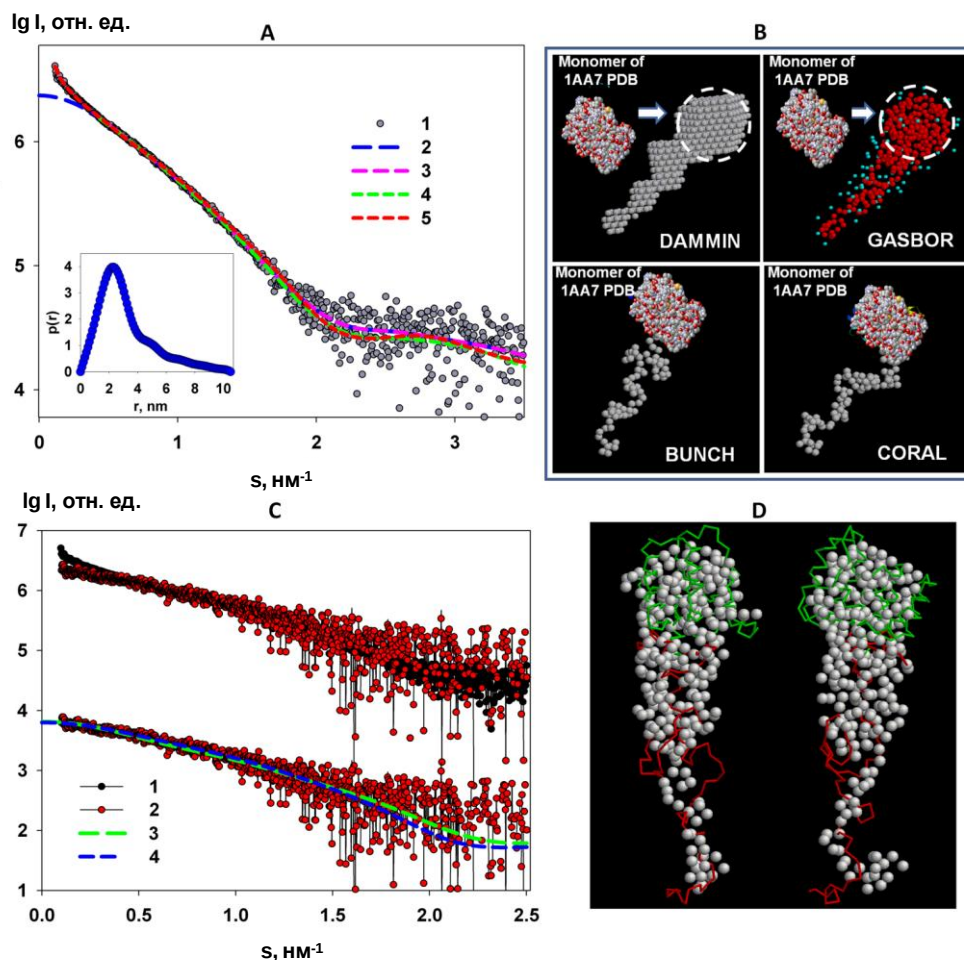


Рис. 6.20. Восстановление структуры белка M1. А: экспериментальные данные МУРР (1), рассчитанная из функции $p(r)$ и экстраполированная к нулевому углу интенсивность рассеяния (2), рассеяние, рассчитанное от *ab initio* моделей (DAMMIN & GASBOR), показанные на правой панели В, верхний ряд (3), кривые 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 M1 белка (1) с профилем рассеяния белка, прошедшего on-line

хроматографическую колонку (2), кривые рассеяния, рассчитанных 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 (C_α цепи: NM-домен - зеленый цвет; С-концевой домен - красный цвет). Модели показаны в двух ориентациях, развернутых на 90° относительно друг друга.

В то же время восстановление формы мономера NM-домена показало полное совпадение с кристаллической структурой этого домена ($\chi \approx 1.2$) (Рис. 6.21).

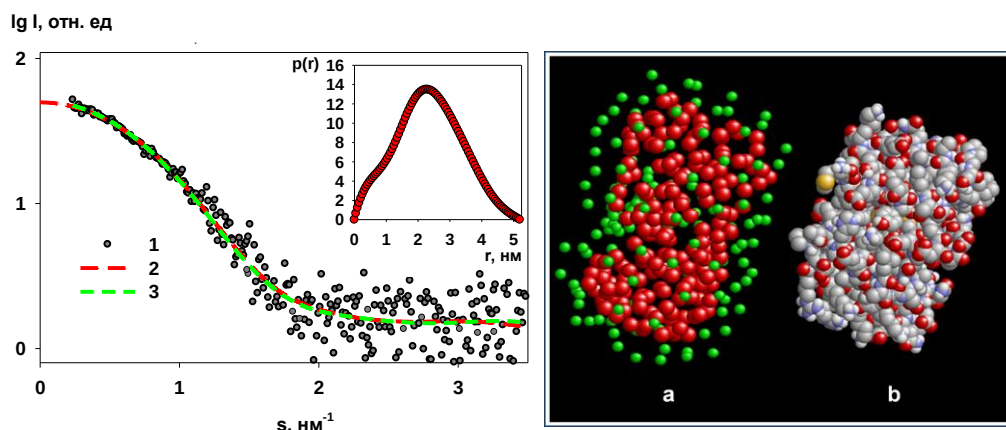


Рис. 6.21. Восстановление формы NM-домена. Левая панель: экспериментальные данные МУРР (1), рассчитанная от $p(r)$ и экстраполированная к нулевому углу интенсивность рассеяния (2), рассеяние, рассчитанное от модели GASBOR (3). Вставка: функция распределения по расстояниям $p(r)$, рассчитанная программой GNOM. Справа: форма, восстановленная с помощью программы GASBOR (красные шарики - виртуальные аминокислотные остатки; зеленые шарики: виртуальные молекулы воды) (a), кристаллическая структура NM-домена (PDB: 1AA7) (b).

Таким образом, *ab initio* моделирование впервые убедительно подтвердило гипотезу о том, что белок M1 содержит плотную глобулярную часть, соответствующую NM-фрагменту, структура которого совпадает с кристаллической, и слабо упорядоченный С-концевой домен. Гибкость последнего и его конформация была проанализирована количественно с помощью программы ЕОМ [44]. Выборка наилучшего решения для полного белка M1 из пула всех получаемых структур (10000 решений) дала хорошее соответствие с экспериментальной кривой рассеяния $\chi \approx 1.2$ (Рис. 6.22, панель а).

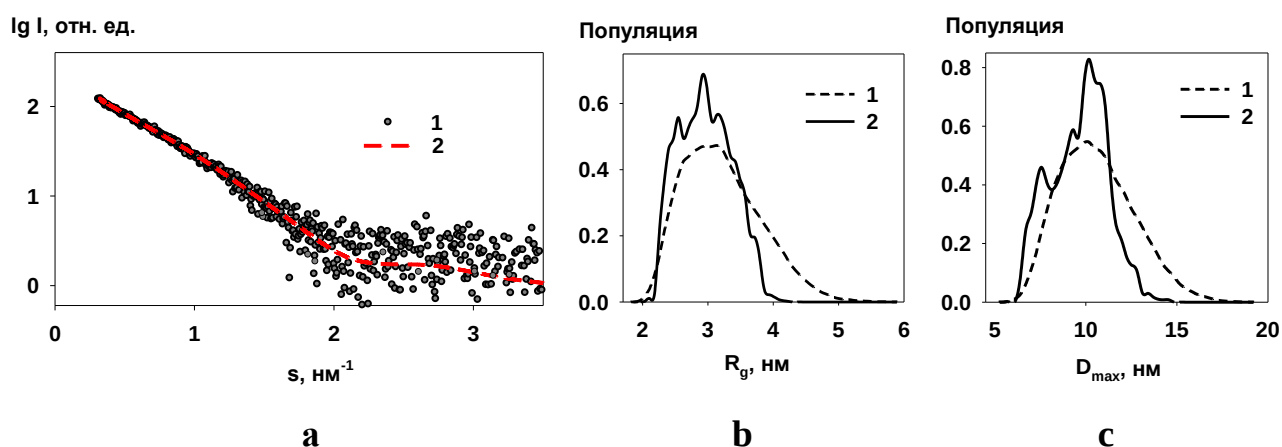


Рис. 6.22. Анализ гибкости С-домена белка с помощью программы ЕОМ. Панель **а** демонстрирует экспериментальные данные МУРР (1) и рассеяние от выбранных моделей; панели **б** и **с** показывают распределения R_g и D_{max} (пул всех решений (1), выбранный ансамбль (2)).

Профили распределений R_g и D_{max} выбранных решений ЕОМ (наилучшим образом соответствующих экспериментальным данным МУРР) существенно более узкие, чем профили пула всех решений, а структуры с R_g и D_{max} , превышающими 4 и 13 нм, соответственно, отсутствуют в выбранном ансамбле решений. Эти результаты показывают, что С-домен, хотя и развернут, тем не менее не ведет себя как полностью разупорядоченная цепь, а обладает ограниченной гибкостью и некоторой упорядоченностью. Максимальный размер M1 варьируется от 6 до 13

нм с наиболее вероятным значением 10–11 нм. Учитывая, что NM-домен имеет длину 4 нм, то размер частично разупорядоченного С-концевого домена меняется от 2 до 9 нм с наиболее популярной длиной 6–7 нм, что полностью совпадает с восстановленной *ab initio* структурой M1.

Частичная разупорядоченность, обнаруженная с помощью программы EOM, позволила нам визуализировать усредненную конформацию С-домена с использованием гибридных методов (сочетание *ab initio* восстановления структуры и молекулярной тектоники (программы BUNCH [36] и CORAL [21])). Эти две программы выдали согласующиеся модели с хорошим соответствием с экспериментальными данными - $\chi \approx 1.3$ (Рис. 6.20, А). Полученные гибридные модели также показали, что С-домен представляет собой удлинненную и частично развернутую цепочку аминокислот, что хорошо коррелирует с результатами *ab initio* восстановления (Рис. 6.20, В, нижний ряд).

Было очень важно подтвердить результаты, полученные нами по усеченным данным МУРР, и показать, что такой подход правомочен. Поэтому был выполнен on-line эксперимент по хроматографическому разделению компонентов с различными размерами. В этом эксперименте хроматографическая колонка была напрямую связана с кюветой дифрактометра и в процессе элюции были зарегистрированы примерно 3000 кривых МУРР. В результате, было выявлено рассеяние от мономерной фракции (Рис. 6.20, С) с $R_g = 2.7 \pm 0.2$ нм, что находится в хорошем согласии с результатами, полученными по усеченной кривой рассеяния, а восстановленная для мономерной фракции *ab initio* форма также соответствует формам, восстановленным ранее по усеченной экспериментальной кривой МУРР (Рис. 6.20, D). Более того, кривые рассеяния от моделей CORAL и BUNCH (Рис. 6.20, В) соответствуют данным МУРР для выделенной хроматографически мономерной фракции (Рис. 6.20, С). Таким образом, хроматографический анализ on-line полностью подтвердил результаты, полученные по исходным кривым рассеяния белка M1 и впервые показал на практике правомерность предложенного

нами подхода к использованию усеченных кривых рассеяния при правильно определенных интервалах волновых векторов.

6.2.3. Анализ формы ассоциатов белка M1

Наблюдаемое повышение интенсивности рассеяния в самых малых углах для M1 не зависело от концентрации и, следовательно, можно предположить, что кластеры M1 образуют вполне определенные структуры в отличие от агрегатов. Для их анализа из экспериментальной кривой рассеяния целого белка M1 было вычтено рассеяние индивидуальными макромолекулами M1, рассчитанное программой CRY SOL [33] по структуре белка, восстановленной программами BUNCH и CORAL. Полученная разностная кривая (Рис. 6.23, левая панель, кривая 1) была использована для анализа структуры кластеров белка M1.

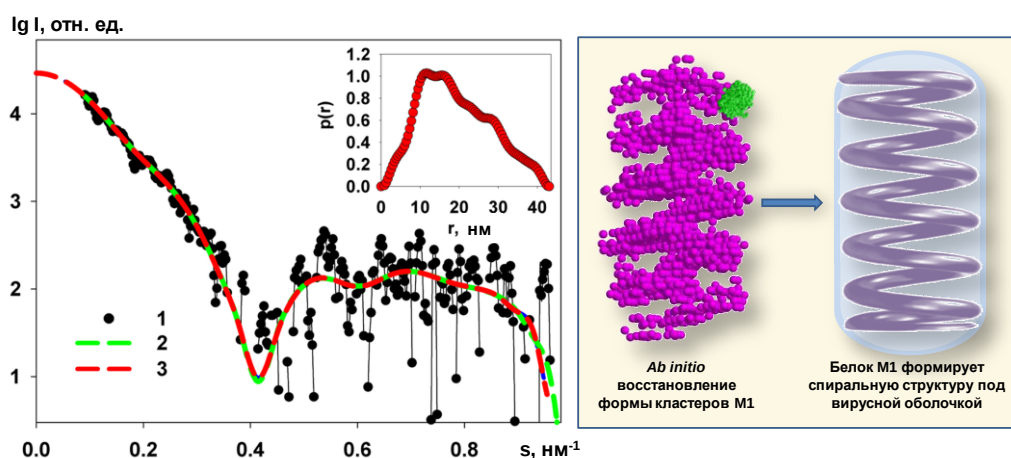


Рис. 6.23. Восстановление формы кластеров белка M1. Левая панель: разностная кривая, соответствующая рассеянию от кластеров (1), обратное преобразование функции $p(r)$ и ее экстраполяция к интенсивности в нулевом угле (2), рассеяние от *ab initio* модели, полученной программой DAMMIN (3) Вставка: функция распределения по расстояниям для кластеров. Правая панель: типичная модель восстановленной структуры кластера, полученная программой DAMMIN и гипотетическая модель самосборки белка M1 в качестве спиральной структуры (пружины), поддерживающей форму вириона. Кристаллографическая модель NM-домена показана зеленым для сравнения размеров.

Используя программу GNOM, было найдено значение радиуса инерции R_g , равное 13.5 ± 0.5 нм, и определена функция распределения по расстояниям $p(r)$ для кластеров, показанная на Рис. 6.23 (вставка). Максимальный размер оказался равным $D_{max} = 43 \pm 5$ нм. Парная функция $p(r)$ характеризуется присутствием регулярно повторяющихся максимумов, что предполагает наличие внутренней регулярной структуры. Форма, восстановленная *ab initio* для кластеров с использованием программы DAMMIN (Рис. 6.23, правая панель) демонстрирует спиралеобразную структуру, аналогичную той, что была предсказана в работе Harris et al [264] и наблюдалась Calder et al с помощью электронной криотомографии в аутентичном вирусе гриппа [256]. 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 [54]. Оказалось, что объемная фракция кластеров в растворе белка М1 составляет 0.03 ± 0.01 , что хорошо совпадает с данными УЦФ. Модельная кривая OLIGOMER дала хорошее соответствие с экспериментальными данными МУРР с $\chi = 1.04$ (Рис. 6.20, кривая 5). Атомно-силовая (Рис. 6.24) и просвечивающая микроскопия (Рис. 6.25) подтвердили данные малоуглового анализа.

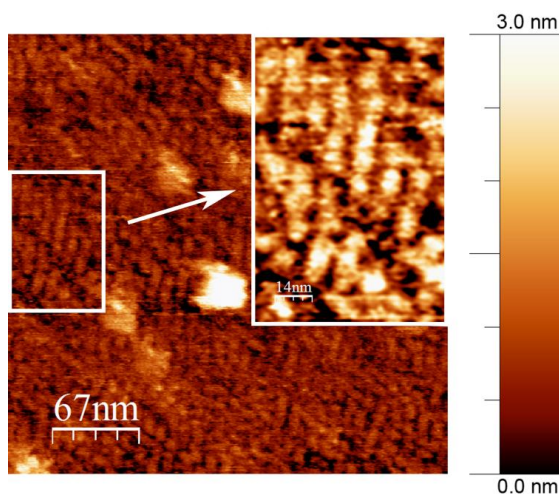


Рис. 6.24. Атомно-силовая микроскопия структур, образованных белком М1 на отрицательно заряженной подложке. На вставке показано увеличенное изображения участка, обведенного белыми линиями.

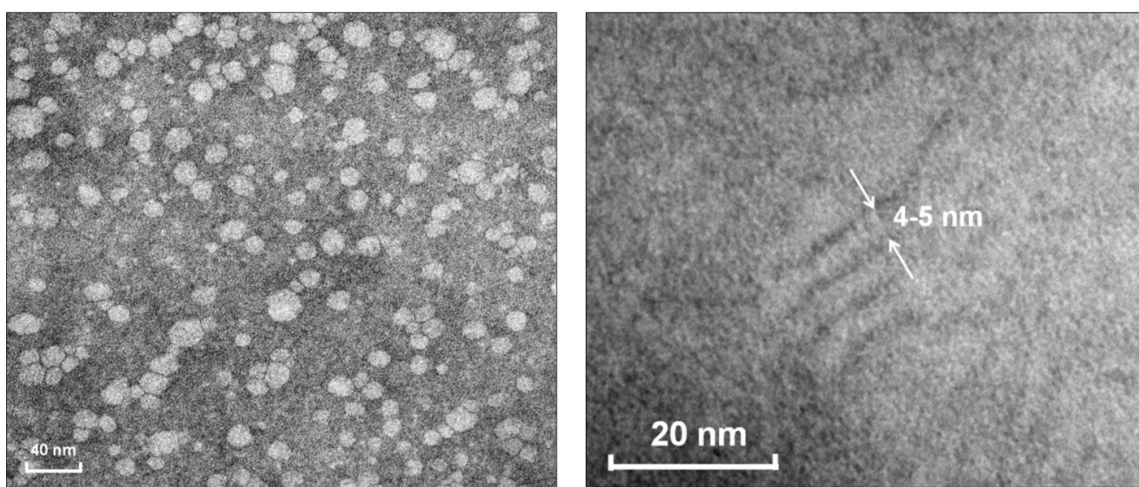


Рис. 6.25. Типичное изображение кастеров М1 с помощью ПЭМ. Белок М1 формирует на поверхности сетки агломераты вирусо-подобных частиц с размерами порядка 20 - 40 нм (левая панель). Увеличенное изображение одной из таких вирусо-подобных частиц показано на правой панели.

6.2.4. Общий анализ результатов

В данном исследовании [A46] МУРР, УЦФ и АСМ были использованы, чтобы определить структуру полного белка М1 и процессы его самосборки в кислых растворах. Подобные исследования проводились во всем мире в течении многих лет, но нами были впервые получены результаты, детально показывающие структуру белка М1 в кислом растворе. На основании полученных данных был сделан вывод, что именно 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 M1. Оба подхода дали абсолютно совпадающие результаты, что очень важно в дальнейшем с методологической точки зрения. Еще одной особенностью данной работы было то, что по одной и той же кривой малоуглового рассеяния удалось восстановить структуру и индивидуальных макромолекул и их структурированных ассоциатов.

В целом, нами в работе [A46] была впервые показана структурная анизотропия макромолекулы белка M1. Наблюдаемая гибкость С-концевого домена M1 помимо объяснения невозможности кристаллизации полного белка, является той важной его особенностью, которая обеспечивает мультифункциональность M1 и его способность быть посредником в

многоступенчатом процессе инфицирования. Нами также впервые было показано, что М1 может образовывать вирусо-подобные частицы в растворе или на липидном бислое без участия белков-партнеров. 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.

6.3. Структурная организация и функция биологических комплексов

В настоящее время одной из основных особенностей 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 системы в целом.

Ниже на примере изучения структуры двух важных и интересных биологических объектов нами показаны возможности метода малоуглового рассеяния в структурной диагностике сложных биологических комплексов и их отдельных компонентов.

6.3.1. Структурный анализ хеликазы RecQ из бактерии *Deinococcus Radiodurans* и ее комплексов с ДНК-субстратами

Deinococcus radiodurans представляют 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 [265]. 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.

Все функции ДНК в живых организмах определяются ее взаимодействием с белками. Среди различных белков хеликазы выполняют особую роль. Так, хеликазы семейства RecQ участвуют в устранении структурных изменений, обнаруживающихся при репликации ДНК [266]. Все члены этого семейства хеликаз имеют центральный домен (каталитическое ядро) протяженностью 350 аминокислот, который содержит семь хеликазных мотивов. Специфичность хеликаз семейства RecQ определяется их N-концевой структурой (HRDC доменом). 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 [267, 268]. «Избыточное» присутствие HRDC доменов в бактерии *Deinococcus radiodurans*, необычайно устойчивой к радиации и другим мощным воздействиям, привлекает особое внимание. В нашей работе [A47] 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). Важно было также 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 [267] и гомолога каталитического ядра хеликазы из *E. coli* [269].

Были измерены кривые малоуглового рассеяния в растворе полной хеликазы - DrRecQ^{full}, и конструкция без HRDC2 и HRDC3 доменов - DrRecQ⁶¹⁰ (Рис. 6.26).

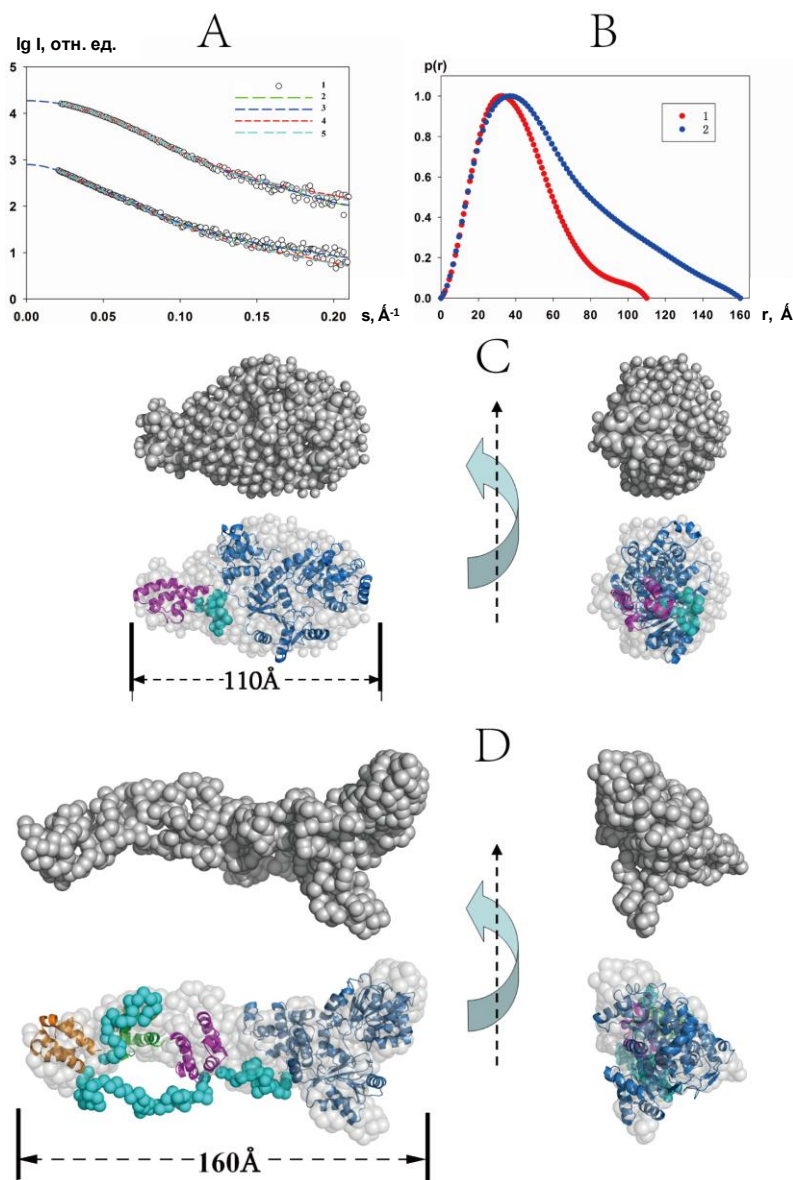


Рис. 6.26. Анализ данных МУРР для DrRecQ⁶¹⁰ и DrRecQ^{full}. (А) кривые малоуглового рассеяния в растворе от DrRecQ⁶¹⁰ (верхняя кривая) и DrRecQ^{full}

(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. (B) Функции распределения по расстояниям для DrRecQ⁶¹⁰ (кривая 1) и DrRecQ^{full} (кривая 2). (C, D) *Ab initio* формы и формы восстановленные с помощью метода молекулярной тектоники для DrRecQ⁶¹⁰ (C) и для DrRecQ^{full} (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 МУРР впервые несколькими независимыми способами были восстановлены структуры этих соединений. При восстановлении гибридным методом [36] с помощью программы CORAL [21] нами использовались структуры атомного разрешения. Сопоставление с помощью программы SUBCOMB *ab initio* моделей и моделей с восстановленными программой CORAL фрагментами макромолекул показало их хорошее соответствие: NSD=1.15 для DrRecQ⁶¹⁰ и NSD=1.68 для DrRecQ^{full}. Анализ гибкости DrRecQ^{full} и DrRecQ⁶¹⁰, проведенный нами с помощью программы EOM, показал, что обе макромолекулы могут существовать в растворе в двух конформациях - закрытой и открытой (Рис. 6.27).

Из Рис. 6.27 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-партнерами в биохимических реакциях.

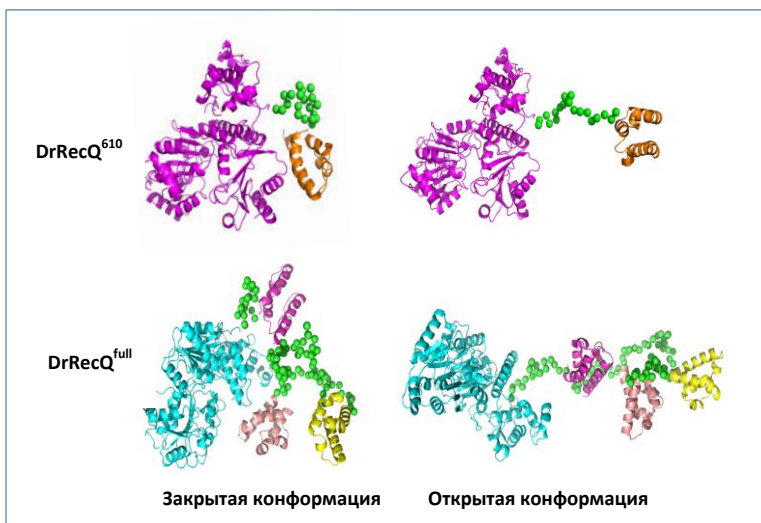


Рис. 6.27. Строение DrRecQ⁶¹⁰ и DrRecQ^{full} в растворе по данным МУРР. Каталитическое ядро DrRecQ⁶¹⁰ обозначено пурпурным цветом, а для DrRecQ^{full} - бирюзовым. Зелеными шариками обозначены восстановленные программой

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 нам с помощью программ MONSA [29] и SASREF [36] удалось определить локализацию ДНК в комплексе, определяя тем самым роль HRDC доменов при взаимодействии с ней (Рис. 6.28 и 6.29).

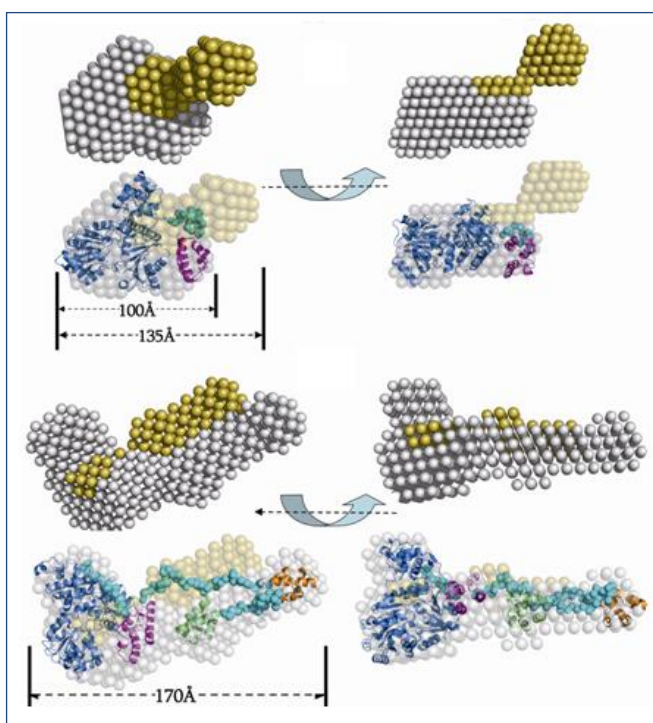


Рис. 6.28. Восстановление структуры комплекса DrRecQ с Y-DNA. Верхние два ряда (блок 1): мультифазное восстановление структуры комплекса reconstructions DrRecQ⁶¹⁰-Y₁₈₋₁₂. Нижние два ряда (блок 2): мультифазное восстановление структуры комплекса DrRecQ^{full}-Y₁₈₋₁₂. Структурные модели, полученные с помощью 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.

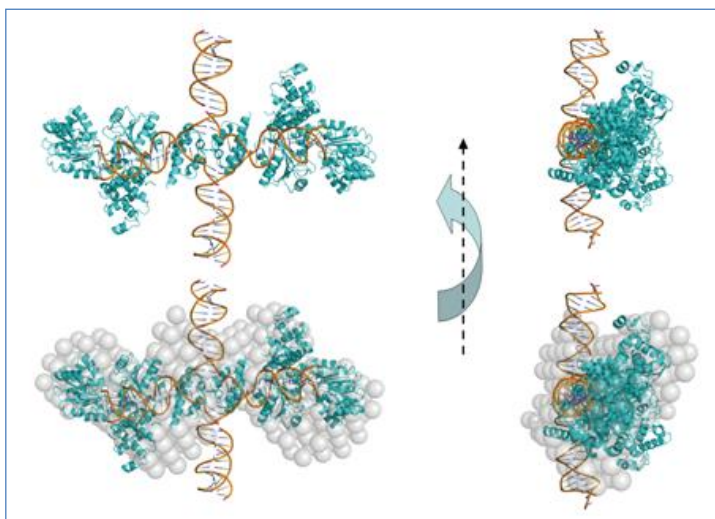


Рис. 6.29. Восстановление структуры комплекса DrRecQ⁶¹⁰-HJ методом молекулярной тектоники (верхний ряд). Наложение структурной модели DrRecQ⁶¹⁰-HJ и *ab initio* модели (нижний ряд). Модели повернуты на 90 градусов вокруг вертикальной оси.

Нами было показано, что (1) при взаимодействии с DrRecQ⁶¹⁰ с HJ ДНК фермент димеризуется и (2) при этом он преимущественно находится в закрытом состоянии (Рис. 6.29). Однако, DrRecQ активирует открытую конформацию для поиска поврежденного участка ДНК и только присоединяясь к нему 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^{full}-HJ дало аналогичные результаты. Таким образом, наша работа [A46] стала новым этапом в понимании процессов активации и взаимодействия семейства RecQ в целом и DrRecQ в частности с молекулами ДНК при ее восстановлении.

6.3.2. Малоугловые исследования в растворе структурных особенностей (MNF1-MNF2)₄ октамера, обеспечивающего образование комплекса MNF-FANCM с хроматином

Нами также исследовались пути восстановления ДНК при анемии Фанкони [A48]. Анемия Фанкони возникает при наличии дефекта в кластере белков, отвечающих за репарацию ДНК. При этом возникают поперечные сшивки внутри двойной спирали, которые блокируют ее репликацию.

Существуют группа белков (FANCA, -B, -C, -E, -F, -G, -L, и -M), способных рекрутировать факторы репарации ДНК - это так называемое FA-ядро [270, 271]. Будучи компонентом FA-ядра, FANCM содержит эволюционно консервативный хеликазный домен и может специфически распознавать и связываться с соответствующими структурами ДНК [272-274]. MNF1 и MNF2 представляют собой два недавно открытых белка, которые в комплексе с FA-ядром участвуют в репарации ДНК. Комплекс MNF1с MNF2 обозначают в литературе как MNF. Эти белки являются FANCM-ассоциированными агентами, в результате чего FANCM может связываться с хроматином с помощью компактного (MNF1-MNF2)₂ тетрамера [275].

С-концевой домен MNF1 играет существенную роль в присоединении к ДНК обоих MNF и MNF-FANCM комплекса [275]. Структура атомного разрешения С-концевой домен MNF1 неизвестна, поскольку он не кристаллизуется из-за высокой гибкости. В нашей работе мы использовали малоугловое рентгеновское рассеяние для определения структуры полных комплексов MNF и FANCM-F в растворе с применением как *ab initio* восстановления, так и метода молекулярной тектоники.

Результаты структурного анализа по данным малоуглового рентгеновского рассеяния с применением программ DAMMIN и GASBOR (*ab initio* восстановление формы) и программы SASREF (моделирование жесткими телами) структур MNF комплекса и MNF-FANCM-F представлены на Рис. 6.30. На этом

рисунке представлены также восстановленные с помощью программы CORAL некристаллизуемые фрагменты белков. Соответствие *ab initio* восстановленных форм кристаллическим структурам белков осуществлялось нами программой SUPCOMB.

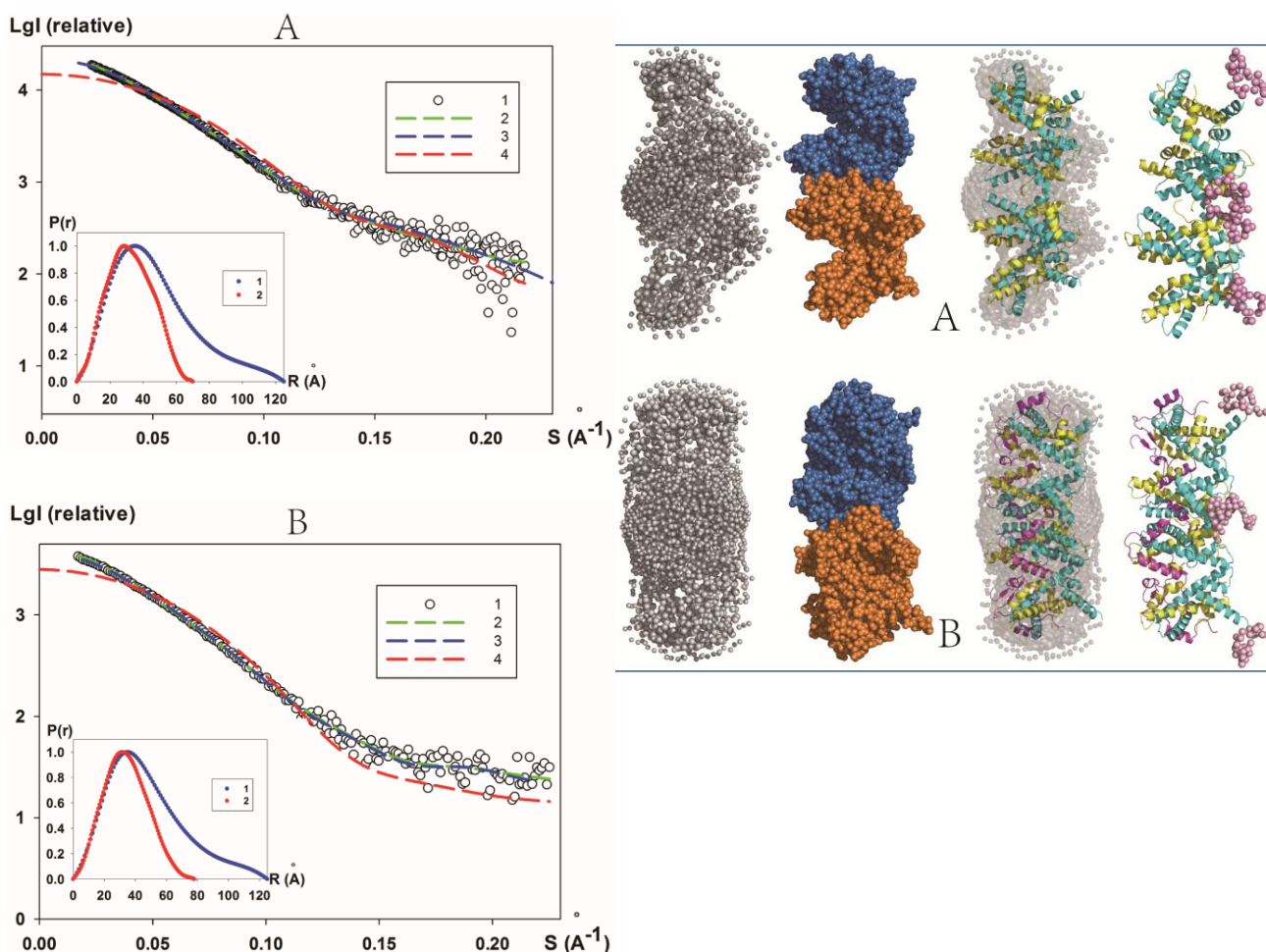


Рис. 6.30. Восстановление структур MHF комплекса и MHF-FANCM-F по данным МУРР. А: структура MHF комплекса; В: структура MHF-FANCM-F. **Слева:** кривые малоуглового рассеяния в растворе: 1 - экспериментальные данные; 2 - кривые рассеяния от моделей, восстановленных программой GASBOR; 3- кривые рассеяния от моделей, восстановленных программой CORAL; 4 - кривые рассеяния от кристаллографических структур. Вставки: функции распределения по расстояниям $p(r)$, рассчитанные GNOM: 1 - для белков в растворе; 2 - для кристаллографических структур. **Справа:** Восстановленные

структуры. Первая колонка: усредненные *ab initio* модели (программы DAMMIN и GASBOR). Вторая колонка: типичные модели, полученные программой SASREF. Третья колонка: наложение с помощью программы SUPCOMB *ab initio* моделей и структур, полученных методом молекулярной тектоники. Последняя колонка: окончательные структуры с восстановленными с помощью программы CORAL фрагментами, которые не могут быть закристаллизованы (показаны пурпурным цветом).

В результате структурного анализа по данным МУРР прежде всего было установлено, что структуры MHF и MHF-FANCM-F в растворе не соответствует их структурам в кристалле. Кривые рассеяния и функции распределения по расстояниям от белков в растворе значительно отличаются от таковых, рассчитанных из кристаллографических структур (Рис. 6.30, слева). Моделирование показало, что в растворе эти белки формируют гетеродимеры: $[(\text{MHF1-MHF2})_2]_2$ и $[(\text{MHF1-MHF2})_2\text{-FANCM-F}]_2$. Для MHF1 дополнительно была восстановлена структура С-концевого домена. Кроме того, нами было показано, что димеры соединены положительно заряженными интерфейсами и при этом С-терминалы MHF1 покрывают отрицательно заряженные области (Рис. 6.31), а комплекс из двух FA ядер работает вместе при репарации ДНК.

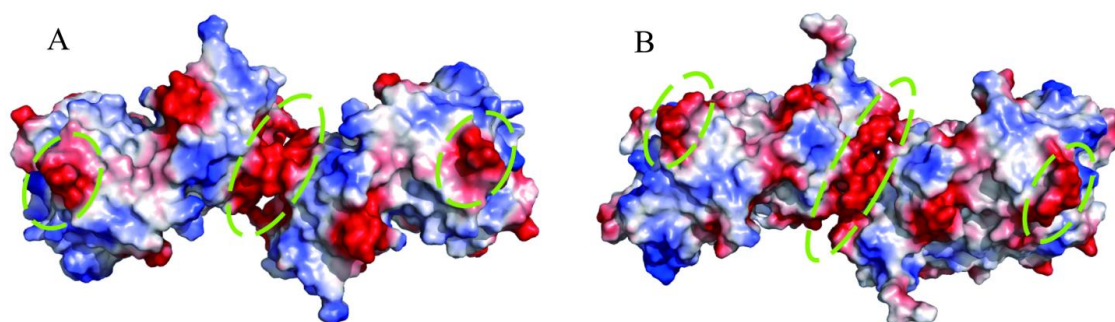


Рис. 6.31. Анализ электростатических поверхностей MHF (A) и MHF-FANCM-F (B). Синий цвет представляет положительно заряженные области, а

красный - отрицательно заряженные. Зелеными пунктирными линиями отмечены области расположения С-концевого домена MHF1.

Подобный детальный структурный анализ сложного белкового комплекса стал возможен только благодаря развитию современных методов обработки и интерпретации данных МУРР. Сочетание полученных в данной работе моделей с ранее опубликованными структурами высокого разрешения обеспечивают лучшее понимание механизма, в котором комплекс MHF-FANCM рекрутирует полное, то есть содержащее все 8 компонентов (FANCA, -B, -C, -E, -F, -G, -L, и -M) FA-ядро и прикрепляет его к хроматину, как это схематично показано на Рис. 6.32.

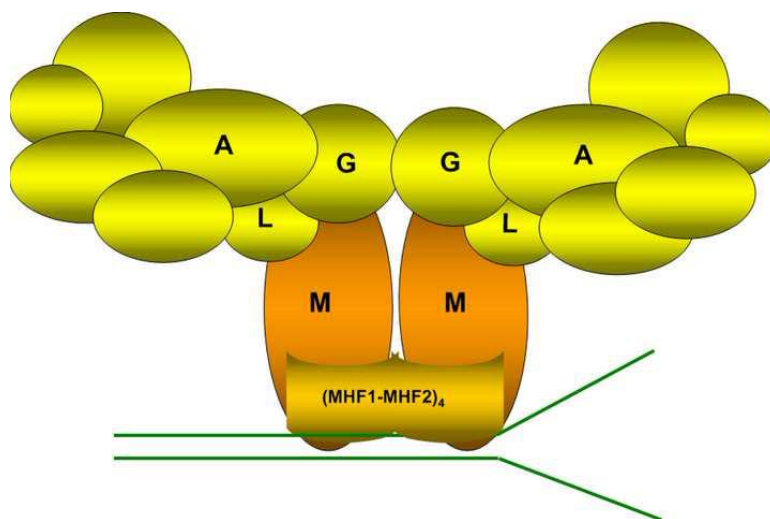


Рис. 6.32. Схема, показывающая функциональную роль MHF и FANCM в регулировании пути репарации ДНК при анемии Фанкони. MHF-FANCM комплекс плотно садится на репликативную вилку, тем самым существенно повышая ассоциацию FANCM с хроматином. В фазе репликации фосфорилированный FANCM рекрутирует полное FA ядро, обеспечивая ему "посадочную площадку" на репликативной вилке.

Таким образом, сочетание малоуглового рентгеновского рассеяния с кристаллографическими данными впервые позволили детально показать работу

клеточных ферментов по репликации ДНК при анемии Фанкони. Она начинается с процесса инициации, когда к репликативной точке присоединяются молекулы распознающих белков (MHF), которые обеспечивают последующее присоединение полного ферментного комплекса и таким образом запускают процесс репликации. Следует особо отметить, что все еще невозможна кристаллизация не только всего ферментного комплекса в целом, но даже отдельных его компонентов - так структура С-концевого домена MHF1 была восстановлена гибридными методами МУРР, а не с помощью кристаллографии. Однако, сочетание этих двух мощных структурных методов позволило впервые не только определить структуру MHF-FANCM комплекса в растворе, то есть в условиях наиболее приближенных к физиологическим, но и показать роль этого комплекса в репликативном процессе.

6.4. Заключение к Главе 6

В Главе 6 были представлены исследования, связанные со структурной нанодиагностикой биологических макромолекул и их комплексов. Причем исследовались не только физиологически значимые белки и их комплексы, но и биологический материал нанотехнологического направления - наноструктуры и наноконструкции на основе ДНК.

Здесь следует отметить, что помимо ДНК в качестве формирующих и стабилизирующих биологических и биосовместимых матриц широко используется целлюлоза. Нами был проведен цикл работ по структурным исследованиям бактериальной целлюлозы *Acetobacter Xylinum* и ее модификаций [A49 - A52]. Этот биополимер является стереополимером полиацетального типа со множеством функциональных гидроксильных групп и имеющим целый ряд таких особенностей, как сложную надмолекулярную структуру (наличие кристаллических и аморфных областей), различную степень упорядоченности аморфных областей и др. Интерес к исследованию бактериальной целлюлозы

Acetobacter Xylinum связан с возможностью использования ее композитов в медицинской практике в качестве раневого покрытия, несущего разнообразные лекарственные препараты, в том числе кластеры ионов серебра и селена, стабилизированные поливинилпирролидоном (ПВП). В результате комплексных структурных исследований методами малоуглового рентгеновского рассеяния, электронографии, электронной микроскопии и ЯМР-криопорометрии была выяснена зависимость от влажности распределения по размерам мезопор в целлюлозе и показано, что их структура практически не меняется при введении в гель-пленку целлюлозы поливинилпирролидона и наночастиц селена, стабилизированных в водном растворе ПВП. Изучение структурных особенностей в композите гель-пленка целлюлозы *Acetobacter Xylinum* с адсорбированными наночастицами серебра, стабилизированными N-поливинилпирролидоном, позволило определить распределения по размерам как неоднородностей в пористой структуре самой целлюлозной матрицы, так и распределение по размерам наночастиц серебра в композите. Было установлено, что размеры наночастиц в основном определяются размерами пор гель-пленки, а более крупные частицы располагаются на ее поверхности. Кроме того, методом дифракции электронов было установлено, что наночастицы серебра в композите имеют кристаллическую структуру. Полученные результаты необходимы для создания нанобиоматериалов, обладающих иммуностимулирующими, противовоспалительными и антиоксидантными свойствами.

В целом, 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 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. Так, для определения структуры матричного белка М1 вируса гриппа в растворе нам было необходимо восстановить структуру одной трети целого белка, его С-концевого фрагмента, который из-за своей гибкости и частичной разупорядоченности невозможно закристаллизовать. 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 [см., например, 276]. Именно поэтому МУРР приобретает все большую значимость для решения структурных задач в биологии. Особенно важно сочетание кристаллографии и МУРР. Примеры наших исследований, представленных выше в этом разделе, 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.

Сочетание малоуглового рассеяния и структурной кристаллографии позволило нам также решить структурные задачи, которые кратко описаны ниже, в результате чего были получены новые знания, имеющие определенное значение для понимания жизненно важных процессов в живой материи. Так для DrRRA (фермента, участвующего в ответе клетки на внешние воздействия - Response

Regulator) из *Deinococcus Radiodurans* было установлено, что N-домен (акцепторный домен) этого фермента блокирует присоединение ДНК к ДНК-распознающей спирали эффекторного домена (С-домена), в то время как при фосфорилировании акцепторного домена междоменный интерфейс меняет конформацию и разворачивается для обеспечения связывания с ДНК [A53].

Другой интересный объект - сигналосома COP9 представляет собой мультибелковый комплекс, состоящий из 8 субъединиц, и который присутствует у большинства многоклеточных организмов. COP9 участвует во множестве физиологических процессов, включая деградацию белков, ответ на повреждение ДНК и передачу сигналов в клетках. Нами методами кристаллографии, малоуглового рассеяния и биоинформатики исследовалась структура MPN домена CSN6 из *D. melanogaster* - одной из субъединиц COP9 сигналосомы и впервые была определена его структура в кристалле и в растворе. В результате было показано, что MPN домен обладает функцией межбелковых взаимодействий и не является металлопротеазой, особенностью которых в отличие от большинства других природных ферментов, расщепляющих белки, является содержание в их активном центре атома цинка [A54].

В бактериальных клетках защита от чужеродных полинуклеотидов (ДНК или РНК) обеспечивается системой, состоящей из метилтрансферазы и эндонуклеазы. Так, эти ферменты умеют узнавать в полинуклеотидах специфическую последовательность оснований (сайт). Эндонуклеазы расщепляют полинуклеотид в фиксированных точках внутри или вблизи такой последовательности, если она не метилирована парной ей метилтрансферазой. Метилтрансферазы метилируют по одному основанию в каждой цепи сайта и тем самым защищают полинуклеотид клетки от гидролиза соответствующей эндонуклеазой. А при попадании в клетку немодифицированного, чужеродного полинуклеотида сайт-специфические эндонуклеазы гидролизуют ее, избавляя клетку от чужеродного агента. Нами в работах [A55-A57] исследовались структуры RsmH - метилтрансферазы,

ответственной за метилирование C1402 в 16S rRNA (рибосомной РНК - рРНК), RsmE (m³U1498) - метилтрансферазы, - метилирующей U1498 в 16S рРНК, и RlmG (m²G1835), выполняющей метилирование в 23S рРНК. Все указанные выше ферменты были AdoMet-зависимыми метилтрансферазами, то есть S-Аденозил-L-метионин трансферазами, которые катализируют перенос активированной метильной группы от AdoMet к отдельным позициям в ДНК, РНК, белках и малых биомолекулах. Все названные выше трансферазы были экспрессированы из *Escherichia coli* и было проведено сравнительное изучение их структур в кристалле и в растворе. Для RsmH нами было выявлено, что в растворе фермент димеризуется и что именно этот статус белка *in vivo* является активной формой. Аналогично, для RsmE метилтрансферазы формирование гибкого димера оказалось существенным для связывания субстрата - соответствующего рРНК фрагмента. А для RlmG, которая состоит из двух гомологичных доменов: N-концевого домена (NTD), участвующего в распознавании и присоединении субстрата, и C-концевого домена (CTD), необходимого в AdoMet-присоединении и в каталитическом процессе, было показано, что связь NTD с рРНК координируется вторым доменом - CTD. Предложенная нами модель RlmG-AdoMet-рРНК комплекса предполагает, что RlmG может помещать соответствующий сайт рРНК в положительно заряженную ложбину между NTD и CTD, и затем основание G1835 выходит из пары Уотсона-Крика с C1905, оказываясь в активном сайте. В целом все три работы позволили по новому взглянуть на жизненно важные процессы метилирования рибосомной РНК и предложить более глубокое понимание функционирования AdoMet-зависимых метилтрансфераз.

Комплекс белков SHU, состоящих из Shu1, Shu2, Psy3 и Csm2, поддерживает геномную стабильность с помощью сочетания пост-репликативной репарации с гомологичной рекомбинацией при межцепочечных сшивках молекул ДНК. Структурные особенности суб-комплекса Psy3-Csm2 исследовались как в

кристалле (с разрешением 1.8 Å), так и в растворе с помощью МУРР [A58]. Оказалось, что Psy3 образует с Csm2 гетеродимер. Кроме того было показано, что Psy3 и Csm2 имеют практически то же строение, что и известный Rad51, который участвует в репарации разрывов двухцепочечной ДНК. В результате наших исследований было показано как SHU белковый комплекс связывается с двухцепочечной ДНК и была предложена структурная модель такого взаимодействия [A58].

Исследование структуры фермента Uch37, который активируется субъединицей Rpn13 19S регуляторной частицы протеасомы и участвует в протеосомной деградации белков, выявило его олигомеризацию в растворе. В работе [A59] нами было обнаружено, что Rpn13 препятствует такой олигомеризации и образует с Uch37 комплекс. При этом активность фермента Uch37 в комплексе оказалась в 12 раз выше, чем вне его. Нами было показано, что активация фермента происходит при образовании 1:1 стехиометрического комплекса с Rpn13, где активный центр Uch37 доступен убиквитину. Полученные в этой работе сведения проливают свет на некоторые аспекты протеосомной системы деградации белков. Последнее является важным, так как нарушения в работе этой системы приводят к различным заболеваниям.

И наконец, в серии работ было проведено сравнительное изучение структуры макро-иммуноглобулина (IgM) и ревматоидного иммуноглобулина M (IgM-RF), который относится к группе ревматоидных факторов, играющих важную роль в патогенезе ревматоидных артритов. Мы показали, что Fab-фрагменты IgM-RF по сравнению с таким же фрагментами IgM обладают значительно большей гибкостью в области специфических центров связывания антигена [A60 - A63]. Полученные нами данные проливают свет на особенности взаимодействия Fab-RF-областей в составе целой макромолекулы IgM с антигеном, т.е. с иммуноглобулином IgG собственного организма и устанавливают

взаимосвязь между структурой ревматоидного фактора и его патологической функцией.

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.

Заключение

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 и биологическими комплексами. Разработанные подходы и методики были использованы для построения моделей, отражающих взаимосвязь структуры и функциональных особенностей разнообразных супрамолекулярных синтетических и биологических ансамблей и нанокompозитов. Результаты проведенных исследований можно суммировать следующим образом:

С помощью компьютерного моделирования нами было впервые показано, что надежное восстановление трехмерных структур низкого разрешения по данным малоуглового рассеяния в случае полидисперсности, полиморфизма и взаимодействующих частиц возможно при определенных условиях, а именно:

- Форму тел разной степени сложности можно надежно восстановить либо по полной кривой малоуглового рассеяния при низкой степени полидисперсности порядка 1%, либо по укороченным кривым рассеяния, где область влияния полидисперсных примесей исключена. В этом случае адекватное восстановление формы рассеивающего тела возможно даже в присутствии 10% полидисперсных добавок.

- Влияние рассеяния крупными агрегатами можно практически полностью нивелировать использованием кривой рассеяния с отсеченным участком в области самых малых углов (области влияния рассеяния агрегатами) при общем содержании агрегатов не более 10 объемных процентов.
- Для агрегатов с размерами в 2 и 4 раза больше, чем исходное сферическое тело (условно димеры и тетрамеры), восстановить форму удастся по усеченной кривой при содержании не больше 5 объемных процентов агрегатов в образце.
- Показано, что критерием для определения участка кривой МУРР, по которому надежно восстанавливается форма тела, может служить прекращение изменения радиуса инерции R_g и максимального размера D_{max} при отсечении разного количества точек на кривой МУРР. График Гинье может служить визуальным критерием для определения участка кривой малоуглового рассеяния, по которому следует восстанавливать форму рассеивающего объекта.
- При наличии структурного полиморфизма можно адекватно восстанавливать усредненную форму рассеивающего объекта, если вклад его полиморфных составляющих в общее рассеяние не превышает 5 %.
- Сферическая форма при межчастичном взаимодействии надежно восстанавливается даже в тех случаях, когда частицы соприкасаются друг с другом. В то же время восстановление формы тел сложной и удлиненной формы в составе кластеров приводит к искажению формы исходного тела.

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

С помощью малоуглового рентгеновского рассеяния впервые было показано, что гидрогель/ПАВ комплексы и некоторые другие самоорганизованные полимерные матрицы представляют собой структурно организованные наносистемы и показано, что рост металлических частиц в них определяется условиями восстановления ионов металла, контролируется структурой полимерной сетки и ограничен размерами ее внутренних ячеек.

Совместное применение методов традиционного и аномального малоуглового рентгеновского рассеяния позволило провести подробный структурный анализ и построить профили электронной плотности многокомпонентных полимерных слоевых нанокомпозитов на основе полиоктадецилсилоксанов и показать, как с помощью интеркаляции функционализирующих агентов (октадецена или октадециламина) можно успешно использовать эти системы для контролируемого формирования в них наночастиц металлов.

Исследование структуры металлизированных мицеллярных систем диблок ($\text{PEO}_{45}\text{-b-P4VP}_{28}$) и триблок ($\text{P4VP}_{29}\text{-b-PEO}_{273}\text{-P4VP}_{29}$) сополимеров методом аномального малоуглового рассеяния позволило определить пространственную структуру этих нанокомпозитов с применением *ab initio* моделирования с разрешением порядка 1 нм и установить закономерности формирования в них наночастиц платины.

Были выявлены особенности формирования в среде сверхкритического CO_2 наночастиц серебра, платины и палладия в различных полимерных матрицах (поливинилпирролидона, хитозана и полиарилата), характер внутреннего строения заполненных металлом пор полимерных матриц, были определены формы индивидуальных наночастиц металла и распределение по размерам в изученных полимерных системах. Впервые была показана возможность на реальных образцах восстанавливать форму кластеров и форму наночастиц в составе этих кластеров.

Проведен подробный структурный анализ цетилпиридин хлорид-/каррагинановых комплексов и предложена новая, отличающаяся от общепринятых, модель пространственной организации комплекса в виде супер-спиральной полой структуры, содержащей внутри воду. На основании анализа литературы и собственных данных была высказана гипотеза, что образование спиралей может быть одним из универсальных путей самоорганизации заряженных полимеров.

Исследование структуры гибридных полимерных наночастиц, сформированных с помощью гидролитической конденсации двух силанов (ODMACl и TANED) в процессе самосборки с неионным ПАВ на основе полиэтиленгликоля с гидрофобным октадециловым хвостом (Brij), показало возможность создания в водных растворах разнообразных пространственных структур (2D гексагональной, ламеллярной, кубической или текстуро-подобной) в зависимости от молекулярной массы ПАВ с целью использования их в качестве матриц для формирования магнитных наночастиц.

Исследование морфологии наноструктур, сформированных на основе новых блок сополимеров: 1-цетил [2-(акрилоилокси) этил] диметил аммоний бромида (ADHA) и 2-гидроксиэтилакрилат (HEA) или N-изопропилакриламид (NIPAM) показало, что морфология блок сополимеров зависит от их концентрации в растворе и от длины и химической композиции блоков в их составе. В случае термочувствительного $pADHA-b-pNIPAM$ образуются два типа упорядоченных структур, характеристики которых определяются температурой. Для $pADHA-b-pNIPAM$ блок сополимеров наблюдался термозависимый структурный переход, то есть за разрушением упорядоченной структуры вблизи критической температуры в растворе следовало восстановление упорядочения при дальнейшем нагревании. Для всех изученных систем были разработаны пространственные структурные модели, позволяющие понять физическую и химическую природу происходящих процессов.

Структурные исследования монодисперсных нанокомпозитов на основе ферромагнитных наночастиц, стабилизированных различными биodeградируемыми полимерами, позволили определить условия их стабилизации в растворах в зависимости от состава, толщины и плотности полимерной оболочки.

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 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 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.

По результатам исследования тонких конформационных изменений в холестерических жидко-кристаллических дисперсиях, сформированных из двухцепочечных макромолекул ДНК в комплексе с солью гадолиния, были сняты противоречия между данными кругового дихроизма и малоуглового рассеяния, которые существовали в течение ряда лет. Структурное моделирование показало, что исчезновение характеристических брегговских пиков на кривых МУРР объясняется изменением упаковки молекул ДНК в частицах ХЖКД, в то время как спектры кругового дихроизма свидетельствовали об изменении спиральной закрутки ДНК в квазинематических слоях в жидко-кристаллической фазе при высоких концентрациях ионов гадолиния. Таким образом, совместное применение

МУРР и КД позволило провести взаимодополняющий анализ системы ХЖКД ДНК на двух различных структурных уровнях.

В результате изучения пространственной структуры жидкокристаллических дисперсий ХЖКД ДНК с внедренными наночастицами золота было показано, что связывание отрицательно заряженных наночастиц металла инициирует следующие процессы:

- Нарушение пространственной структуры холестерика ДНК;
- Образование протяженных линейных кластеров наночастиц золота, встроенных в структуру частиц ХЖКД в случае размера наночастиц порядка 2 нм, что приводит к формированию нанобиоматериала с новыми физико-химическими свойствами, отличающими его от стандартных нанобиоматериалов на основе двухцепочечных молекул ДНК;
- В случае отрицательно заряженных наночастиц золота с размерами порядка 15 нм, их взаимодействие с двухцепочечными молекулами ДНК в составе ХЖКД приводит к полному разрушению исходной квазинематической структуры с образованием разупорядоченных агрегатов ДНК-Аu. В этом случае определенная нами с помощью МУРР пространственная топография наночастиц Au и наличие у них выраженных граней может играть роль внешнего фактора, который подавляет процессы взаимного распознавания молекулами ДНК и формирования холестерической структуры в комплексе ХЖКД ДНК-Au.

Результаты изучения пространственной структуры методом малоуглового рентгеновского рассеяния жидкокристаллических дисперсий ХЖКД ДНК и их комплексов с редкоземельными металлами и золотом продемонстрировали потенциал МУРР в решении структурных задач и компьютерного моделирования

в случае биконтинуальных систем. Была показана принципиальная возможность формирования наноконструкций ДНК с особыми свойствами, которые могут найти разнообразные применения в биологии и медицине.

Метод малоуглового рассеяния был использован для структурной нанодиагностики биологических макромолекул и их комплексов в растворе, что дало возможность сделать следующие выводы

- В процессе комплексного исследования структуры матричного белка М1 вируса гриппа впервые получены результаты, детально показывающие структуру этого белка в кислом растворе, на основании которых был сделан вывод, что гибкость и частичная разупорядоченность С-домена М1 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.
- Мультифункциональность белка М1 отвечает за его способность быть посредником в многоступенчатом процессе клеточной инфекции и поэтому следует рассматривать белок М1 как ключевую молекулу-адаптер вируса гриппа.
- Нами также впервые было показано, что М1 может образовывать вирусо-подобные частицы в растворе или на липидном бислое без участия белков-партнеров.
- Задача исследования структуры белковых макромолекул в растворе в присутствии агрегатов или кластеров впервые была решена двумя способами на примере матричного белка М1 вируса гриппа: 1) с помощью компьютерного моделирования, в процессе которого были показаны подходы для решения этой проблемы; 2) был использован on-line метод очистки белка от ассоциатов с помощью хроматографии.

Идентичность полученных результатов дает возможность использовать только первый метод при недоступности on-line хроматографии в МУРР.

- Структурный анализ хеликазы RecQ из бактерии *Deinococcus Radiodurans* (DrRecQ) и ее комплексов с ДНК-субстратами показал, что 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.
- Малоугловые исследования в растворе структурных особенностей (MNF1-MNF2)₄ октамера, обеспечивающих образование комплекса MNF-FANCM с хроматином для восстановления ДНК при анемии Фанкони, показали, что MNF и MNF-FANCM-F в растворе формируют гетеродимеры [(MNF1-MNF2)₂]₂ и [(MNF1-MNF2)₂-FANCM-F]₂. Для MNF1 была восстановлена структура С-концевого домена и показано, что димеры соединены положительно заряженными интерфейсами, где С-терминалы MNF1 покрывают отрицательно заряженные области, а комплекс из двух FA ядер работает вместе при репарации ДНК. Нами было показано, что работа клеточных ферментов по репликации ДНК при анемии Фанкони начинается с процесса инициации, когда к репликативной точке присоединяются молекулы распознающих белков (MNF), которые обеспечивают последующее присоединение полного ферментного комплекса и таким образом запускается процесс репликации.

- Сочетание малоуглового рассеяния и структурной кристаллографии для ряда белков (DrRRA из *Deinococcus Radiodurans*, MPN домена CSN6 из *D. melanogaster* - одной из субъединиц COP9 сигнасомы; метилтрансфераз RsmH, RsmE и RlmG и некоторых других) позволило нам решить задачи по определению структуры этих белковых макромолекул в растворе, то есть в условиях приближенных к физиологическим. В результате были получены новые знания о строении и функции исследованных объектов, имеющие большое значение для понимания жизненно важных процессов в живой материи.
- Сравнительное изучение структуры макро-иммуноглобулина (IgM) и ревматоидного иммуноглобулина М (IgM-RF показало, что Fab-фрагменты IgM-RF по сравнению с таким же фрагментами IgM обладают значительно большей гибкостью в области специфических центров связывания антигена, что проливает свет на особенности взаимодействия Fab-RF-областей в составе целой макромолекулы IgM с антигеном, т.е. с иммуноглобулином IgG собственного организма и устанавливают взаимосвязь между структурой ревматоидного фактора и его патологической функцией.

В целом, решение обратных структурных задач, поставленных в данной работе, имеет большое научное значение и способствует пониманию взаимосвязи структуры и функции, разрабатываемых новых композиционных материалов, а также важно для ответа на фундаментальные вопросы строения вещества на надатомном уровне, в том числе для живой материи (белков, нуклеиновых кислот, биологических комплексов).

Основные выводы

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, мицелярных 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 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 нанокompозитов на основе ферромагнитных наночастиц, стабилизированных биodeградируемыми полимерами, позволили определить условия их стабилизации в водных растворах в зависимости от состава и толщины 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 нанокompозитов 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 сигналысомы; 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. Разработанные 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.

Цитируемая литература

1. P.Krishnamurti. Studies in X-ray diffraction. Part I: The structure of amorphous scattering. Part II: Colloidal solution and liquid mixtures. Particle size and molecular weight related to extent of small-angle scattering. // Indian J. Phys., 1930, 5, 473-500.
2. A.Guinier, G.Fournet. In: Small-angle scattering of X-rays. // John Wiley and Sons, New York, 1955, 269 p.
3. A.Guinier. Basic discussion of X-ray scattering at small angles by small discrete particles. //Ann. Phys. 1939, 12, 161-237.
4. O.Glatter, O.Kratky. In: Small-angle X-ray scattering. // Acad. Press., London, 1982, 515 p.
5. Д.И.Свергун, Л.А.Фейгин. В книге: Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние. // Москва, Наука, 1986, 279 с.
6. O.Glatter. A new method for the evaluation of small-angle scattering data. // J. Appl. Cryst. 1977, 10, 415-421.
7. М.Н.Koch, P.Vachette, D.I.Svergun. Small-angle scattering: a view on the properties, structures and structural changes of biological macromolecules in solution. // Q. Rev. Biophys. 2003, 36, 147-227.
8. Л.Ю.Могилевский, А.Т.Дембо, Д.И.Свергун, Л.А.Фейгин. Малоугловой рентгеновский дифрактометр с однокоординатным детектором. // Кристаллография, 1984, 20 (3), 587-591.
9. И.М.Тернов, В.В.Михайлин. В книге: Синхротронное излучение. Теория и эксперимент. // Москва, Энергоатомиздат, 1986, 296 с.
10. H.B.Stuhrmann. Anomalous small angle scattering. // Q Rev Biophys. 1981, 14(3), 433-460.
11. M.Cammarata, L.Eybert, F.Ewald, W.Reichenbach, M.Wulff, P.Anfinrud, F.Schotte, A.Plech, Q.Kong, M.Lorenc, B.Lindenau, J.Räbiger, S.Polachowski.

- Chopper system for time resolved experiments with synchrotron radiation. // *Rev Sci Instrum.* 2009, 80 (1), 015101-015110.
12. M.H.Koch, W.Bras. Synchrotron radiation studies of non-crystalline systems. // *Ann. Rep. Prog. Chem., Sect. C: Phys. Chem.* 2008, 104, 35–80.
 13. M.W.Roessle, R.Klaering, U.Ristau, B.J.D.Robrahn, T.Gehrmann, P.V.Konarev, A.Round, S.Fiedler, S.Hermes, D.I.Svergun. Upgrade of the small-angle X-ray scattering beamline X33 at the European Molecular Biology Laboratory, Hamburg. // *J. Appl. Cryst.*, 2007, 40, s190-s194.
 14. A.R.Round, D.Franke, S.Moritz, R.Huchler, M.Fritsche, D.Malthan, R.Klaering, D.I.Svergun, M.Roessle. Automated sample-changing robot for solution scattering experiments at the EMBL Hamburg SAXS station X33. // *J. Appl. Cryst.*, 2008, 41, 913-917.
 15. C.E.Blanchet, A.V.Zozulya, A.G.Kikhney, D.Franke, P.V.Konarev, W.Shang, R.Klaering, B.Robrahn, C.Herme, F.Cipriani, D.I.Svergun, M.Roessle. Instrumental setup for high throughput solution scattering at the X33 beamline of EMBL-Hamburg.// *J. Appl. Cryst.*, 2012, 45, 489-495.
 16. H.-G.Haubold, K.Gruenhagen, M.Wagener, H.Jungbluth, H.Heer, A.Pfeil, H.Rongen, G.Brandenburg, R.Moeller, J.Matzerath, P.Hiller, H.Halling. JUSIFA - A new user-dedicated ASAXS beamline for materials science. // *Rev. Sci. Instrum.*, 1989, 60, 1943-1946.
 17. H.B.Stuhrmann, G.Goerigk, B.Munk. Anomalous X-ray scattering. In: *Handbook on Synchrotron radiation*. Eds. Rubenstein, E. et al. // Amsterdam, Elsevier, 1994, 555 p.
 18. H.-G.Haubold, R.Gebhardt, G.Buth, G.Goerigk. In: *Resonant anomalous X-ray scattering*. Eds Materlik G. et al. // Oxford, Elsevier Science, 1994, 295 p.
 19. D.I.Svergun. Determination of the regularization parameter in indirect-transform methods using perceptual criteria. // *J. Appl. Crystallogr.*, 1992, 25, 495.

20. P.V.Konarev, V.V.Volkov, A.V.Sokolova, M.H.J.Koch, D.I.Svergun. PRIMUS: a Windows PC-based system for small-angle scattering data analysis. // J. Appl. Crystallogr., 2003, 36, 1277-1282.
21. M.V.Petoukhov, D.Franke, A.V.Shkumatov, G.Tria, A.G.Kikhney, M.Gajda, C.Gorba, H.T.D.Mertens, P.V. Konarev, D.I. Svergun. New developments in the ATSAS program package for small-angle scattering data analysis. // J. Appl. Cryst., 2012, 45, 342-350.
22. H.B.Stuhrmann. Interpretation of small-angle scattering functions of dilute solutions and gases. A representation of the structures related to a one-particle scattering function. // Acta Cryst., 1970, 26 (3), 297-306.
23. D.I.Svergun. Mathematical methods in small-angle scattering data analysis. // J. Appl. Crystallogr., 1991, 24, 485-492.
24. А.Ф.Никифоров, В.Б.Уваров. В книге: Основы теории специальных функций. // Москва, Наука, 1974. 521 с.
25. D.I.Svergun, Restoring low resolution structure of biological macromolecules from solution scattering using simulated annealing. // Biophys. J., 1999, 76, 2879-2886.
26. P.Chacón, F.Morán, J.F.Díaz, E.Pantos, J.M.Andreu. Low-resolution structures of proteins in solution retrieved from X-ray scattering with a genetic algorithm. // Biophys J., 1998, 74(6), 2760–2775.
27. D.Franke, D.I. Svergun. DAMMIF, a program for rapid ab-initio shape determination in small-angle scattering. // J. Appl. Cryst., 2009, 42, 342-346.
28. D.I.Svergun, M.V.Petoukhov, M.H.J.Koch. Determination of domain structure of proteins from x-ray solution scattering. // Biophys. J., 2001, 80, 2946-2953.
29. D.I.Svergun, K.H.Nierhaus. A map of protein-rRNA distribution in the 70S Escherichia coli ribosome. // J. Biol. Chem., 2000, 275, 14432-14439.
30. M.B.Kozin, D.I.Svergun. Automated matching of high- and low-resolution structural models. // J. Appl. Crystallogr., 2001, 34, 33-41.

31. V.V.Volkov, D.I.Svergun. Uniqueness of ab initio determination in small-angle scattering. // J. Appl. Cryst., 2003, 36, 860-864.
32. С.В.Амарантов. Восстановление формы наночастицы по решению прямой и обратной задач малоуглового рассеяния для единичного потенциала ограниченного в объёме тора. // ЖЭТФ, 2009, 135(4), 721-737.
33. D.I.Svergun, C.Barberato, M.H.J.Koch. CRY SOL - a Program to evaluate X-ray solution scattering of biological macromolecules from atomic coordinates. // J. Appl. Cryst., 1995, 28, 768-773.
34. A.R.Edmonds. In: Angular momentum in quantum mechanics. // Princeton, NJ, Princeton University Press, 1957, 146 p.
35. D.I.Svergun. Solution scattering from biopolymers: Advanced contrast variation data analysis. // Acta Crystallogr. A, 1994, 50, 391-402.
36. M.V.Petoukhov, D.I.Svergun. Global rigid body modelling of macromolecular complexes against small-angle scattering data. // Biophys. J., 2005, 89, 1237-1250.
37. H.D.Mertens, D.I.Svergun. Structural characterization of proteins and complexes using small-angle X-ray solution scattering. // J Struct Biol., 2010, 172(1), 128-141.
38. И.Сердюк, Н.Заккаи, Дж.Заккаи. В книге: Методы в молекулярной биофизике. Структура. Функция. Динамика. В 2 томах. // Изд. Книжный дом Университет (КДУ), 2009-2010, 1304 с.
39. M.Levitt. Growth of novel protein structural data. // PNAS, 2007, 104 (9) 3183-3188.
40. M.K.Boehm, J.M.Woof, M.A.Kerr, S.J.Perkins. The Fab and the Fc fragments of IgA1 exhibit a different arrangement from that in IgG: A study by X-ray and neutron solution scattering and homology modeling. // J Biol. Chem., 1999, 286, 1421-1447.
41. D.Chamberlain, C.G. Ullman, S.J.Perkins. Possible arrangement of the five domains in human complement factor I as determined by a combination of X-ray

- and neutron scattering and homology modeling. // *Biochemistry US*, 1998, 37, 13918-13929.
42. D.Schneidman-Duhovny, S.J.Kim, A.Sali. Integrative structural modeling with small-angle X-ray scattering profiles. // *BMC Struct. Biol.*, 2012, 12,17, doi: 10.1186/1472-6807-12-17.
 43. R.P.Rambo, J.A.Tainer. Bridging the solution divide: Comprehensive structural analysis of dynamic RNA, DNA, and protein assemblies by small-angle X-ray scattering. // *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2010, 20, 128-137.
 44. P.Bernado, E.Mylonas, M.V.Petoukhov, M.Blackledge, D.I.Svergun. Structural Characterization of flexible proteins using small-angle X-ray scattering. // *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129, 5656-5664.
 45. P.Bernado, D.I.Svergun. Structural analysis of intrinsically disordered proteins by small-angle X-ray scattering. // *Mol Biosyst.*, 2012, 8 (1),151-167.
 46. L.Potterton, S.McNicholas, E.Krissinel, J.Gruber, K.Cowtan, P.Emsley, G.N.Murshudov, S.Cohen, A.Perrakis, M.Noble. Development in the CCP4 molecular-graphics project. // *Acta Crystallogr. D*, 2004, 60, 2288-2294.
 47. P.V.Konarev, M.V.Petoukhov, D.I.Svergun. MASSHA - a graphic system for rigid body modelling of macromolecular complexes against solution scattering data. // *J Appl Cryst.*, 2001, 34, 527-532.
 48. I.Bertini, A.Giachetti, C.Luchinat, G.Parigi, M.V.Petoukhov, R.Pierattelli, E.Ravera, D.I.Svergun. Conformational space of flexible biological macromolecules from average data. // *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132, 13553–13558.
 49. C.Pons, M.D’Abramo, D.I.Svergun, M.Orozco, P.Bernador, J.Fernarndez-Recio. Structural characterization of protein-protein complexes by integrating computational docking with small-angle scattering data. // *J. Mol. Biol.*, 2010, 403, 217–230.

50. M.Boczkowska, G.Rebowski, M.V.Petoukhov, D.B.Hayes, D.I.Svergun, R.Dominguez. X-ray scattering study of activated Arp2/3 complex with bound actin-WCA. // *Structure*, 2008, 16, 695–704.
51. E.Gherardi, S.Sandin, M.V.Petoukhov, J.Finch, M.E. Youles, L.G.Ofverstedt, R.N.Miguel, T.L.Blundell, G.F.Vande Woude, U.Skoglund, D.I.Svergun. Structural basis of hepatocyte growth factor/scatter factor and MET signalling. // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2006, 103, 4046–4051.
52. H.H.Niemann, M.V.Petoukhov, M.Hartlein, M.Moulin, E.Gherardi, P.Timmins, D.W.Heinz, D.I.Svergun. X-ray and neutron small-angle scattering analysis of the complex formed by the Met receptor and the *Listeria monocytogenes* invasion protein InlB. // *J. Mol. Biol.*, 2008, 377, 489–500.
53. M.V.Petoukhov, T.P.Monie, F.H.Allain, S.Matthews, S.Curry, D.I.Svergun. Conformation of polypyrimidine tract binding protein in solution. // *Structure*, 2006, 14, 1021–1027.
54. P.V.Konarev, M.V.Petoukhov, V.V.Volkov, D.I.Svergun. ATSAS 2.1, a program package for small-angle scattering data analysis. // *J. Appl. Cryst.*, 2006, 39, 277–286.
55. C.L.Lawson, R.J. Hanson. In: *Solving Least Squares Problems*. // Englewood Cliffs, Prentice-Hall Inc., 1974, 340 p.
56. Б.К.Вайнштейн. В книге: Дифракция рентгеновских лучей на цепных молекулах. // Москва, АН СССР, 1963, 372 с.
57. A.Tardieu. In: *Neutron and synchrotron radiation for condensed matter studies. Applications to Soft Condensed Matter and Biology*, vol III (Les editions de Physique (France), // Berlin, Springer, 1994, p. 145–160.
58. Y.Liu, W.-R.Chen, S.-H.Chen. Cluster formation in two-Yukawa fluids. // *J. Chem. Phys.*, 2005, 122, 044507, doi: 10.1063/1.1830433.
59. D.I.Svergun. Small-angle scattering studies of macromolecular solutions. // *J. Appl. Cryst.*, 2007, 40, s10-s17.

60. A.Shukla, E.Mylonas, E.Di Cola, S.Finet, P.Timmins, T.Narayanan, D.I.Svergun. Absence of equilibrium cluster phase in concentrated lysozyme solutions. // PNAS, 2008, 105 (13), 5075-5080.
61. D.I.Svergun, M.H.J.Koch. Small-angle scattering studies of biological macromolecules in solution. // Rep. Prog. Phys., ,2003, 66(10), 1735-1782.
62. N.Pinotsis, S.D.Chatziefthimiou, F.Berkemeier, F.Beuron, I.M.Mavridis, P.V.Konarev, D.I.Svergun, E.Morris, M.Rief, M.Wilmanns. Superhelical architecture of the myosin filament-linking protein myomesin with unusual elastic properties. // PLoS Biol., 2012, doi: 10.1371/journal.pbio.1001261.
63. N.Pinotsis, S.Lange, J.C.Perriard, D.I.Svergun, M.Wilmanns. Molecular basis of the C-terminal tail-to-tail assembly of the sarcomeric filament protein myomesin. // EMBO J., 2008, 27(1), 253-264.
64. C.E.Blanchet, D.I.Svergun. Small-angle X-ray scattering on biological macromolecules and nanocomposites in solution. // Annu. Rev. Phys. Chem., 2013, 64, 37-54
65. T.Madl, F.Gabel, M.Sattler. NMR and small-angle scattering-based structural analysis of protein complexes in solution. // J. Struct. Biol., 2011, 173, 472-482.
66. C.M.Jeffries, Y.Lu, R.M.Hynson, J.Taylor, M.Ballesteros, A.Kwan, J.Trewhella. Human cardiac myosin binding protein C: Structural flexibility within an extended modular architecture. // J. Mol. Biol., 2011, 414, 735-748.
67. J.Bordas, E.M.Mandelkow, E.Mandelkow. Stages of tubulin assembly and disassembly studied by time-resolved synchrotron X-ray scattering. // J. Mol. Biol., 1983, 164, 80-135.
68. M.H.J.Koch. The structure of chromatin and its condensation mechanism. // J. Appl. Cryst., 1989, 25, 155-165.
69. J.G. de la Torre, S.Navarro, M.C.L.Martinez. Hydrodynamic properties of a double-helical model for DNA. // Biophys. J., 1994, 66, 1573-1579.

70. S.J.Perkins, R.D.Nan, K.Y.Li, S.Khan, Y.Abe. Analytical ultracentrifugation combined with X-ray and neutron scattering: Experiment and modelling. // *Methods*, 2011, 54, 181-199.
71. J.Lebowitz, M.S.Lewis, P.Schuck. Modern analytical ultracentrifugation in protein science: A tutorial review. // *Protein Sci.*, 2002, 11, 2067-2079.
72. D.Scott, S.E.Harding, A.Rowe, Z.Aziz, J.Behlke. In: *Analytical ultracentrifugation: techniques and methods*. // Royal Society of Chemistry, 2005, 586 p.
73. T.M.Bergfors. In: *Protein crystallization*. // La Jolla, CA, International University Line, 2009, 500 p.
74. А.И.Гусев. В книге: *Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии*. // Москва, Физматлит, 2009, 416 с., ISBN 5-9221-0582-5
75. Ч.Пул, Ф.Оуэнс. В книге: *Нанотехнологии*. // Москва, Техносфера, 2005, 336 с.
76. E.Roduner. Size matters: why nanomaterials are different. // *Chem. Soc. Rev.*, 2006, 35, 583-592.
77. H.S.Taylor. Paul Sabatier. // *Journal of the American Chemical Society*, 1944, 66 (10), 1615–1617.
78. N.Taniguchi. On the Basic Concept of “Nano-Technology”. // *Proc. Intl. Conf. Prod. Eng.*, Tokyo. Part II. - Japan Society of Precision Engineering, 1974, 18-23.
79. K.E.Drexler. In: *Engines of creation. The coming era of nanotechnology*. // Anchor Books, New York, 1986, 299 p.
80. Дж.В.Стид, Дж.Л.Этвуд. В книге: *Супрамолекулярная химия*. // Москва, Академкнига, 2007, 896 с.
81. А.С.Спирин. Биосинтез белков, мир РНК и происхождение жизни // *Вестник РАН*, 2001, 4, 320-328.
82. М.Л.Кербер. В книге: *Полимерные композиционные материалы. Структура. Свойства. Технологии*. // СПб., Профессия, 2008, 460 с.

83. А.А.Берлин, С.А.Вольфсон, В.Г.Ошмян, Н.С.Ениколопян. В книге: Принципы создания композиционных материалов. // Москва, Химия, 1990, 238 с.
84. V.Mittol (Ed.). In: Optimization of polymer nanocomposites properties. // WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, Weinheim, 2010, 440 p.
85. J.H.Koo (Ed.). In: Polymer nanocomposites. Processing, characterization, and applications. // McGraw-Hill Companies, Inc., 2006, 272 p.
86. Ю-В.Май, Ж.-Ж.Ю (Ред.). В книге: Полимерные нанокомпозиты. // Москва, Техносфера, 2011, 688 с.
87. G.Schmid (Ed.). In: Clusters and colloids: From theory to application. // Wiley-VCH, Weinheim, 2008, 555 p. ISBN: 3-527-29043-5.
88. Z.Tang, P.Sheng. In: Nano science and technology: novel structures and phenomena. // New York, Taylor and Francis, 2003, 272 p.
89. I.Chorkendorff, J.W.Niemantsverdriet. In: Concepts of modern catalysis and kinetics. // Wiley-VCH, Weinheim, 2007, 477 p. ISBN: 3-527-31672-4.
90. M.Vinoba, M.Bhagiyalakshmi, S.K.Jeong, S.C.Nam, Y.Yoon. Carbonic anhydrase immobilized on encapsulated magnetic nanoparticles for CO₂ sequestration. // Chem. Eur. J., 2012, 18, (38), 12028-12034.
91. E.Menéndez, M.O.Liedke, J.Fassbender, T.Gemming, A.Weber, L.J.Heyderman, K.V.Rao, S.C.Deevi, S.Suriñach, M.D.Baró, J.Sort, J.Nogués. Direct magnetic patterning due to the generation of ferromagnetism by selective ion irradiation of paramagnetic FeAl alloys. // Small, 2009; 5 (2), 229 - 234.
92. T.Ghoshal, R.Senthamaraikannan, M.T.Shaw, P.Carolan, J.D.Holmes, S.Roy, M.A.Morris. Size and space controlled hexagonal arrays of superparamagnetic iron oxide nanodots: magnetic studies and application. // Scientific Reports, 2013, 3, Article number 2772, doi: 10.1038/srep02772.

93. F.Qiu, R.Mhanna, L.Zhang, Y.Ding, S.Fujita, B.J.Nelson. Artificial bacterial flagella functionalized with temperature-sensitive liposomes for controlled release. // *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2014, 196, 676-681.
94. H.J.Chung, C.M.Castro, H.Im, H.Lee, R.Weissleder. A magneto-DNA nanoparticle system for rapid detection and phenotyping of bacteria. // *Nature Nanotechnology*, 2013, 8, 369–375.
95. B.Özkale, E.Pellicer, A.M.Zeeshan, J.F.López-Barberá, J.Nogués, J.Sort, B.J.Nelson, S.Pané. One-pot electrosynthesis of multi-layered magnetic metallopolymer nanocomposites. // *Nanoscale*, 2014, 6 (9), 4683-90.
96. O.Ergeneman, C.Peters, M.R.Gullo, L.J.Descombes, S.S.Gervasoni, B.Özkale, P.P.Fatio, V.V.J.Cadarso, M.Mastrangeli, S.Pané, J.Brugger, C.Hierold, B.J.Nelson. Inkjet printed superparamagnetic polymer composite hemispheres with programmed magnetic anisotropy. // *Nanoscale*, 2014, 6 (8), 10
97. S.Schuerle, S.Erni, M.Flink, B.E.Kratochvil, B.J.Nelson. Three-dimensional magnetic manipulation of micro- and nanostructures for applications in life sciences. // *IEEE Transactions on Magnetism*, 2013, 49 (1), 321-330.
98. S.Fusco, G.Chatzipirpiridis, K.Sivaraman, O.Ergeneman, B.J.Nelson, S.Pané. Chitosan electrodeposition for microrobotics drug delivery. // *Advanced Healthcare Materials*, 2013, 2 (7), 1037–1044.
99. J.Pokki, O.Ergeneman, K.Sivaraman, B.Özkale, A.M.Zeeshan, T.Lühmann, B.J.Nelson, S.Pané. Electroplated porous polypyrrole nanostructures patterned by colloidal lithography for drug-delivery applications. // *Nanoscale*, 2012, 4 (10), 3083-3088.
100. W.Andrae, U. Haefeli, R.Hergt, R.Misri. 4 Application of magnetic particles in medicine and biology. In: *Handbook of Magnetism and advanced magnetic materials*. // John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK, 2007, 2536-2568.

101. V.Salgueirino-Maceira, M.A.Correa-Duarte. Increasing the complexity of magnetic core/shell structured nanocomposites for biological applications. // *Advanced Materials*, 2007, 19, 4131-4144.
102. M.N.O'Brien, M.R.Jones, K.A.Brown, C.A.Mirkin. Universal noble metal nanoparticle seeds realized through iterative reductive growth and oxidative dissolution reactions. // *JACS*, 2014, 136 (21), 7603–7606.
103. M.Nowostawska, S.A.Corr, S.J.Byrne, J.Conroy, Y.Volkov, Y.K.Gun'ko. Porphyrin-magnetite nanoconjugates for biological imaging. // *J. Nanobiotechnology*, 2011, 9 (13), doi: 10.1186/1477-3155-9-13.
104. D.Jańczewski,Y.Zhang, G.K.Das, D.K.Yi, P.Padmanabhan, K.K.Bhakoo, T.TTan, S.T.Selvan. Bimodal magnetic-fluorescent probes for bioimaging. // *Microsc. Res. Tech.*, 2011, 74 (7), 563-576.
105. S.Jiang, K.Y.Win, S.Liu, C.P.Teng, Y.Zheng, M.Y.Han. Surface-functionalized nanoparticles for biosensing and imaging-guided therapeutics. // *Nanoscale*, 2013, 5(8), 3127-3148.
106. N.Erathodiyil, J.Y.Ying. Functionalization of inorganic nanoparticles for bioimaging applications. // *Acc. Chem. Res.*, 2011, 44 (10), 925-935.
107. A.G.Gupta, M.Gupta. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. // *Biomaterials*, 2005, 26, 3995-4021.
108. J.Xie, S.Peng, N.Brower, N.Pourmand, S.X.Wang, S.Sun. One-pot synthesis of monodisperse iron oxide nanoparticles for potential biomedical applications. // *Pure and Applied Chemistry*, 2006, 78, (5), 1003-1014.
109. M.Lattuada, T.A.Hatton. Functionalization of monodisperse magnetic nanoparticles. // *Langmuir* 2007, 23, (4), 2158-2168.
110. L.M.Bronstein, X.Huang, J.Retrum, A.Schmucker, M.Pink, B.D.Stein, B.Dragnea. Influence of iron oleate complex structure on iron oxide nanoparticle formation. // *Chem. Mater.* 2007, 19, (15), 3624-3632.

111. S.Wan, J.Huang, M.Guo, H.Zhang, Y.Cao, H.Yan, K.Liu. Biocompatible superparamagnetic iron oxide nanoparticle dispersions stabilized with poly(ethylene glycol)-oligo(aspartic acid) hybrids. // J. Biomed. Mater. Res. 2007, 80A, (4), 946-954.
112. G.Han, P.Ghosh, V.M.Rotello. Functionalized gold nanoparticles for drug delivery. // Nanomedicine 2007, 2, (1), 113-123.
113. R.G.Chaudhuri, S.Paria. Core/shell nanoparticles: classes, properties, synthesis mechanisms, characterization, and applications. // Chemical Reviews 2012. 112 (4), 2373–2433.
114. С.П.Губин, Г.Ю.Юрков, Н.А.Катаева. Микрогранулы и наночастицы на их поверхности. // Неорганические материалы, 2005, 41 (10), 1159-1175.
115. S.P.Gubin, G.Yu.Yurkov, I.D.Kosobudsky. Nanomaterials based on metal-containing nanoparticles in polyethylene and other carbon-chain polymers. // Int. J. Mater. Prod. Tech., 2005, 23 (1-2), 2-25.
116. L.Nicolais, G.Carotenuto. In: Metal-polymer nanocomposites. // New York, Wiley Interscience, 2005, 300 p.
117. G.B.Sergeev, M.A.Petrukhina. Encapsulation of small metal particles in solid organic matrices. // Prog. Solid. St. Chem., 1996, 24, 183-211.
118. G.Y.Yurkov, A.S.Fionov, A.V.Kozinkin, Y.A.Koksharov, Y.A.Ovtchenkov, D.A.Pankratov, O.V.Popkov, V.G.Vlasenko, Y.A.Kozinkin, M.I.Biryukova, V.V.Kolesov, S.V.Kondrashov, N.A.Taratanov, V.M.Bouznik. Synthesis and physicochemical properties of composites for electromagnetic shielding applications: a polymeric matrix impregnated with iron- or cobalt-containing nanoparticles. // J. Nanophoton, 2012, 6 (1), doi:10.1117/1.JNP.6.061717
119. L.Nicolais, G.Carotenuto. In: Nanocomposites: In situ synthesis of polymer-embedded nanostructures. // John Wiley & Sons, Science, 2013, 246 p.

120. P.Xu, X.Han, B.Zhang, Y.Du, H.-L.Wang. Multifunctional polymer–metal nanocomposites via direct chemical reduction by conjugated polymers. // Chem. Soc. Rev., 2014, 43, 1349-1360.
121. M.Michaelis, A.Henglein. Reduction of palladium (II) in aqueous solution: stabilization and reactions of an intermediate cluster and palladium colloid formation. // J. Phys. Chem., 1992, 96 (11), 4719-4724.
122. N.Toshima, K.Kashihashi, T.Yonezawa, H.Hirai. Colloidal dispersions of palladium-platinum bimetallic clusters protected by polymers. Preparation and application to catalysis. // Chem Lett., 1989, 18 (10), 1769-1772.
123. L.M.Bronstein, E.S.Mirzoeva, M.V.Seregina, P.M.Valetsky, S.P.Solodovnikov, R.A.Register. Nanodispersed metal particles in polymeric matrixes // ACS Symp.Ser., 1996, 622 (Nanotechnology), 102-115.
124. A.L.Stepanov, S.N.Abdullin, L.B.Kbaibullin. Optical properties of polymer layers with silver particles. // J. Non-Cryst. Solids, 1998, 223 (3), 250-253.
125. Н.И.Никонорова, С.В.Стаханова, А.Л.Волынский, Н.Ф.Бакеев. Влияние полимерной матрицы на реакцию восстановления и характеристики металлической фазы никеля. // Высокомолек. соед., 1997, 39 (8), 1311-1317.
126. M.Breulmann, H.Coelfen, H.P.Hentze, M.Antonietti, D.Walsh, S.Mann. Elastic magnets. Template-controlled mineralization of iron oxide colloids in a sponge-like gel matrix. // Adv. Mater. (Weinheim, Ger.), 1998, 10 (3), 237-241.
127. S.Foerster, M.Antonietti. Amphiphilic block copolymers in structure-controlled nanomaterial hybrids. // Adv.Mater. (Weinheim, Ger.), 1998, 10 (3), 195-217.
128. P.-G. de Gennes. In: Scaling concepts in polymer physics. // Cornell University Press, Ithaca, NY, 1979, 324 p.
129. A.R.Khokhlov, A.Yu.Grosberg, V.S.Pande. In: Statistical physics of macromolecules (polymers and complex materials). // American Institute of Physics, NY, 1994, 400 p.

130. Э.Ферми. В книге: Молекулы и кристаллы. // Москва, Изд-во иностр. л-ры, 1947, 262 с.
131. Д.Хартри. В книге: Расчёты атомных структур. // Москва, Изд-во иностр. л-ры, 1960, 272 с.
132. A.R.Khokhlov, E.Yu.Kramarenko, E.E.Makhaeva, S.G.Starodubtsev. Collapse of polyelectrolyte networks induced by their interaction with oppositely charged surfactants. Theory. // Macromol.Chem. Theory Simul., 1992, 1, 105-118.
133. В.В.Василевкая, Е.Ю.Крамаренко, А.Р.Хохлов. Теория коллапса полиэлектролитных сеток в растворах ионогенных поверхностно-активных веществ. // Высокомогл. Соед. Сер. А, 1991, 33 (5), 1062-1069.
134. А.Р.Хохлов, Е.Е.Дормидонтова. Самоорганизация в ион-содержащих полимерных системах. // Успехи физ. Наук, 1997, 167, 113-128.
135. A.R.Khokhlov, E.Yu.Kramarenko. Weakly Charged Polyelectrolytes: Collapse induced by extra ionization. // Macromolecules, 1996, 29, 681-685.
136. W.Essafi, F.Lafuma, Ç.Williams. Effect of solvent quality on the behavior of highly charged polyelectrolytes. // J. Phys. II, 1995, 5, 1269-1275.
137. T.Tanaka. Collapse of gels and the critical endpoint. // Phys. Rev. Lett., 1978, 40, 820-823.
138. Ю.В.Хандурина, А.Т.Дембо, В.Б.Рогачева, А.Б.Зезин, В.А.Кабанов. Структура поликомплексов, образованным сетчатым полиакрилатомнатрия и катионным мицеллообразующим поверхностно-активным веществом. // Высокомолек. Соед., 1994, 36 (2), 235-240.
139. H.Okuzaki, Y.Osada, H.Okazaki, Y.Osada. Ordered-aggregate formation by surfactant-charged gel interaction. // Macromolecules, 1995, 28, (1), 380-382.
140. A.V.Mironov, S.G.Starodubtsev, A.R.Khokhlov, A.T.Dembo, A.N.Yakunin. Ordered nonstoichiometric polymer gel-surfactant complexes in aqueous medium with high ionic strength. // Macromolecules, 1998, 31, 7698-7705.

141. A.T.Dembo, A.N.Yakunin, V.S.Zaitsev, A.V.Mironov, S.G.Starodoubtsev, A.R.Khokhlov, B.Chu. Regular microstructures in gel-surfactant complexes: Influence of water content and comparison with the surfactant structure in water. // J. Polym. Sci.: Polym. Physics, 1996, 34, 2893- 2898.
142. F.J.Yeh, E.L.Sokolov, A.R.Khokhlov, B.Chu. Nanoscale supramolecular structures in the gels of poly (diallyldimethylammonium chloride) interacting with sodium dodecyl-sulfate. // J. Amer. Chem. Soc., 1996, v (8), 6615-6618.
143. F.J.Yeh, E.L.Sokolov, T.Walter, B.Chu. Structure studies of poly (diallyldimethylammonium chloride-co-acrylamide) gels/sodium dodecyl-sulfate complex. // Langmuir, 1998, 14 (16), 4350-4358.
144. S.Q.Zhou, C.Burger, F.J.Yeh, B.Chu. Charge-density effect of polyelectrolyte chains on the nanostructures of polyelectrolyte-surfactant complexes. // Macromolecules, 1998, 31 (23), 8157-8163.
145. E.L.Sokolov, F.J.Yeh, A.R.Khokhlov, V.Y.Grinberg, B.Chu. Nanostructure formation in polyelectrolyte-surfactant complexes. // J. Phys. Chem. B, 1998, 102 (37), 7091-7098.
146. S.Q.Zhou, F.J.Yeh, C.Burger, B.Chu. Formation and transition of highly ordered structures of polyelectrolyte-surfactant complexes. // J. Phys. Chem. B, 1999, 103 (12), 2107-2112.
147. L.M.Bronstein, Q.A.Platonova, A.N.Yakunin, I.M.Yanovskaya, P.M.Valetsy, A.T.Dembo, E.E.Makhaeva, A.V.Mironov, A.R.Khokhlov. Complexes of polyelectrolyte gels with oppositely charged surfactants: Interaction with metal ions and metal nanoparticle formation. // Langmuir, 1998, 14, 252-259.
148. L.M.Bronstein, O.A.Platonova, A.N.Yakunin, I.M.Yanovskaya, P.M.Valetsy, A.T.Dembo, E.S.Obolonkova, E.E.Makhaeva, A.V.Mironov, A.R.Khokhlov. Metal colloid formation in the complexes of polyelectrolyte gels with oppositely charged surfactants. // Colloids Surf. A., 1999, 147 (1-2), 221-231.
149. A.C.Balazs, T.Emrick, T.P.Russel. Nanoparticle polymer composites: where two

small worlds meet. // Science, 2006, 314, 1107-1110.

150. H.Saito, S.Okamura, K.Ishizu. Introduction of colloidal silver into a poly(2-vinyl pyridine) microdomain of microphase separated poly(styrene-b-2-vinyl pyridine) film. //Polymer, 1992, 33 (5), 1099-1101.
151. Y.N.C.Chan, R.R.Schrock, R.E.Cohen, Synthesis of silver and gold nanoclusters within microphase-separated diblock copolymers. // Chem. Mater., 1992, 4, 24-27.
152. M.Antonietti, E.Wenz, L.M.Bronstein, M.S.Seregina. Synthesis and characterization of noble metal colloids in block copolymer micelles. // Adv. Mater., 1995, 7, 1000-1005.
153. I.W.Hamley. In: Block copolymers in solution: fundamentals and applications. // John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, 2005, 300 p. ISBN: 978-0-470-01557-5.
154. Y.Kang, T.A.Taton. Controlling shell thickness in core-shell gold nanoparticles via surface-templated adsorption of block copolymer surfactants. // Macromolecules, 2005, 38, (14), 6115-6121.
155. Q.Zhang, S.Gupta, T.Emrick, T.P.Russell. Surface-functionalized CdSe nanorods for assembly in diblock copolymer templates. // J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, (12), 3898-3899.
156. R.J.Hickey, A.S.Haynes, J.M.Kikkawa, S.-J.Park. Controlling the self-assembly structure of magnetic nanoparticles and amphiphilic block-copolymers: from micelles to vesicles. // J. Am. Chem. Soc., 2011, 133 (5), 1517–1525.
157. J.He, Y.Liu, T.Babu, Z.Wei, Z.Nie. Self-assembly of inorganic nanoparticle vesicles and tubules driven by tethered linear block copolymers. // Journal of the American Chemical Society, 2012, 134 (28), pp 11342–11345.
158. L.M.Bronstein, D.M.Chernyshov, P.M.Valetsy, E.A.Wilder, R.J.Spontak. Metal nanoparticles grown in the nanostructured matrix of poly (octadecylsiloxane). // Langmuir, 2000, 16 (22), 8221–8225.
159. L.M.Bronstein, C.Linton, R.Karlinsey, B.Stein, D.I.Svergun, J.W.Zwanziger, R.J. Spontak. Synthesis of metal-loaded poly (aminoethyl) (aminopropyl)

- silsesquioxane colloids and their self-organization into dendrites. // Nano Letters, 2002, 2(8), 873-876.
160. A.Heilmann. Polymer films with embedded metal nanoparticles. // Springer Verlag, 2002, 216 p.
 161. G.V.Ramesh, S.Porel, T.P.Radhakrishnan. Polymer thin films embedded with in situ grown metal nanoparticles. // Chem Soc Rev. 2009, 38(9), 2646-2656.
 162. S.H.Sun, C.B.Murray, D.Weller, L.Folks, A.Moser. Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices. // Science. 2000, 287 (5460), 1989-1992.
 163. G.I.Frolov. Film carriers for super-high-density magnetic storage. // Tech. Phys. 2001, 46, (12), 1537-1544.
 164. W.J.M.Mulder, G.J.Strijkers, G.A.F. van Tilborg, A.W.Griffioen, K.Nicolay. Lipid-based nanoparticles for contrast-enhanced MRI and molecular imaging. // NMR Biomed. 2006, 19, 142-164.
 165. S.Laurent, S.Boutry, I.Mahieu, L.Vander Elst, R.N.Muller. Iron oxide based MR contrast agents: from chemistry to cell labeling. // Current Medicinal Chemistry 2009, 16, (35), 4712-4727.
 166. W.Andrae, U.Haefeli, R.Hergt, R.Misri. Application of magnetic particles in medicine and biology. In: Handbook of magnetism and advanced magnetic materials. // John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK, 2007, 2536-2568.
 167. Y.R.Chemla, H.L.Crossman, Y.Poon, R.McDermott, R.Stevens, M.D.Alper, J.Clarke. Ultrasensitive magnetic biosensor for homogeneous immunoassay. // Proc. Nat. Acad. Sci., 2000, 97, (26), 14268-14272.
 168. N.Pamme, C.Wilhelm. Continuous sorting of magnetic cells via on-chip free-flow magnetophoresis. // Lab on a chip, 2006, 6, (8), 974-980.
 169. S.P.Foy, R.L.Manthe, S.T.Foy, S.Dimitrijevic, N.Krishnamurthy, V.A.N.A.A.Labhasetwar. Optical imaging and magnetic field targeting of magnetic nanoparticles in tumors. // ACS Nano, 2010, 4 (9), 5217–5224.

170. O.Veiseh, J.W.Gunn, M.Zhang. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. // *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2010, 62, (3), 284-304.
171. M.Chanana, Z.Mao, D.Wang. Using polymers to make up magnetic nanoparticles for biomedicine. // *Journal of Biomedical Nanotechnology* 2009, 5 (6), 652-668.
172. P.S.Williams, F.Carpino, M.Zborowski. Magnetic nanoparticle drug carriers and their study by quadrupole magnetic field-flow fractionation. // *Molecular Pharmaceutics*, 2009, 6 (5), 1290-1306.
173. F.J.Boehm, A.Chen. Medical applications of hyperthermia based on magnetic nanoparticles. // *Recent Patents on Biomedical Engineering*, 2009, 2 (2), 110-120.
174. C.C.Berry. Progress in functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. // *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2009, 42 (22), 224003/1-224003/9.
175. J.N.Anker, T.Mefford (Eds). In: *Biomedical applications of magnetic particles*. // CRC Press, 2014, 456 p. ISBN: 978-1439839683.
176. G.Schmid (Ed.) In: *Nanoparticles from theory to application*. // Wiley-VCH, 2010, 533 p. ISBN: 978-3-527-32589-4,
177. M.Latorre, C.Rinaldi. Applications of magnetic nanoparticles in medicine: magnetic fluid hyperthermia. // *P. R. Health Sci. J.*, 2009, 28(3), 227-238.
178. M.Lin, J.Huang, M.Sha. Recent advances in nanosized Mn-Zn ferrite magnetic fluid hyperthermia for cancer treatment. // *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2014,14(1), 792-802.
179. B.Kozissnik, A.C.Bohorquez, J.Dobson, C.Rinaldi. Magnetic fluid hyperthermia: advances, challenges, and opportunity. // *Int. J. Hyperthermia*, 2013, 29(8), 706-714.
180. J.E.Kim, J.Y.Shin, M.H.Cho. Magnetic nanoparticles: an update of application for drug delivery and possible toxic effects. // *Arch. Toxicol.*, 2012, 86(5), 685-700.

181. M.Kumagai, Y.Imai, T.Nakamura, Y.Yamasaki, M.Sekino, S.Ueno, K.Hanaoka, K.Kikuchi, T.Nagano, E.Kaneko, K.Shimokado, K.Kataoka. Iron hydroxide nanoparticles coated with poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer as novel magnetic resonance contrast agents for in vivo cancer imaging. // Coll. Surf. B, 2007, 56 (1-2), 174-181.
182. S.Wan, J.Huang, M.Guo, H.Zhang, Y.Cao, H.Yan, K.Liu. Biocompatible superparamagnetic iron oxide nanoparticle dispersions stabilized with poly(ethylene glycol)-oligo(aspartic acid) hybrids. // J. Biomed. Mater. Res., 2007, 80A (4), 946-954.
183. Y.Kang, T.A.Taton. Controlling shell thickness in core-shell gold nanoparticles via surface-templated adsorption of block copolymer surfactants. // Macromolecules, 2005, 38 (14), 6115-6121.
184. H.A.Gussin, I.D.Tomlinson, D.M.Little, M.R.Warnement, H.Qian, S.J.Rosenthal, D.R.Pepperberg. Binding of muscimol-conjugated quantum dots to GABAC receptors. // J. Am. Chem. Soc., 2006, 128 (49), 15701-15713.
185. Q.Zhang, S.Gupta, T.Emrick, T.P.Russell. Surface-functionalized CdSe nanorods for assembly in diblock copolymer templates. // J. Am. Chem. Soc., 2006, 128 (12), 3898-3899.
186. G.Han, P.Ghosh, V.M.Rotello. Functionalized gold nanoparticles for drug delivery. // Nanomedicine, 2007, 2 (1), 113-123.
187. M.J.Hostetler, A.C.Templeton, R.W.Murray. Dynamics of place-exchange reactions on monolayer-protected gold cluster molecules. // Langmuir, 1999, 15 (11), 3782-3789.
188. N.Nitin, L.E.W.LaConte, O.Zurkiya, X.Hu, G.Bao. Functionalization and peptide-based delivery of magnetic nanoparticles as an intracellular MRI contrast agent. // J. Biol. Inorg. Chem., 2004, 9 (6), 706-712.

189. B.Dubertret, P.Skourides, D.J.Norris, V.Noireaux, A.H.Brivanlou, A.Libchaber. In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. // Science, 2002, 298 (5599), 1759-1762.
190. Y.T.Lim, K.Y.Lee, K.Lee, B.H.Chung. Immobilization of histidine-tagged proteins by magnetic nanoparticles encapsulated with nitrilotriacetic acid (NTA)-phospholipids micelle. // Biochem. Biophys. Res. Comm., 2006, 344 (3), 926-930.
191. D.Hellstern, K.Schulze, B.Schopf, A.Petri-Fink, B.Steitz, S.Kamau, M.Hilbe, S.Koch-Schneidemann, L.Vaughan, M.Hottiger, M.Nofmann, H.Hofmann, B. von Rechenberg. Systemic distribution and elimination of plain and with Cy3.5 functionalized poly(vinyl alcohol) coated superparamagnetic maghemite nanoparticles after intraarticular injection in sheep in vivo. // J. Nanosci. Nanotech., 2006, 6 (9/10), 3261-3268.
192. K.Briley-Saebo, A.Bjornerud, D.Grant, H.Ahlstrom, T.Berg, G.M.Kindberg. Hepatic cellular distribution and degradation of iron oxide nanoparticles following single intravenous injection in rats: implications for magnetic resonance imaging. // Cell & Tissue Res., 2004, 316 (3), 315-323.
193. S.Sun, H.Zeng. Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles. // J. Am. Chem. Soc., 2002, 124 (28), 8204-8205.
194. M.Lattuada, T.A.Hatton. Functionalization of monodisperse magnetic nanoparticles. // Langmuir, 2007, 23 (4), 2158-2168.
195. S.Sun, H.Zeng, D.B.Robinson, S.Raoux, P.M.Rice, S.X.Wang, G.Li. Monodisperse MFe_2O_4 ($M = Fe, Co, Mn$) nanoparticles. // J. Am. Chem. Soc., 2004, 126 (1), 273-279.
196. Y.Li, Y.Wu, C.Luo, F.Yang, L.Qin, T.Fu, G.Wei, X.Kang, D.Wu. Preparation and characterization of narrow-dispersed magnetic colloidal nanoparticle cluster/silica microspheres with controlled sizes, high saturation magnetization and MRI enhancement effect. // J. Mater. Chem. B, 2013, 1 (36), 4644-4654.

197. K.Hayashi, M.Nakamura, W.Sakamoto, T.Yogo, H.Miki, S.Ozaki, M.Abe, T.Matsumoto, K.Ishimura. Superparamagnetic nanoparticle clusters for cancer theranostics combining magnetic resonance imaging and hyperthermia treatment. // *Theranostics*, 2013, 3 (6), 366-376.
198. R.J.Hickey, X.Meng, P.Zhang, S.-J.Park. Low-dimensional nanoparticle clustering in polymer micelles and their transverse relaxivity rates. // *ACS Nano*, 2013, 7,(7), 5824-5833.
199. N.Pothayee, S.Balasubramaniam, N.Pothayee, N.Jain, N.Hu, Y.Lin, R.M.Davis, N.Sriranganathan, A.P.Koretsky, J.S.Riffle. Magnetic nanoclusters with hydrophilic spacing for dual drug delivery and sensitive magnetic resonance imaging. // *J. Mater. Chem. B*, 2013, 1 (8), 1142-1149.
200. C.Zhang, X.Xie, S.Liang, M.Li, Y.Lui, H. Gu. Mono-dispersed high magnetic resonance sensitive magnetite nanocluster probe for detection of nascent tumors by magnetic resonance molecular imaging. // *Nanomedicine*, 2012, 8 (6), 996-1006.
201. J.Pearce, A.Giustini, R.Stigliano, P.J.Hoopes. Magnetic heating of nanoparticles: the importance of particle clustering to achieve therapeutic temperatures. // *J. Nanotech. Eng. Med.*, 2013, 4 (1), 011005/1-011005/14.
202. G.Garnweitner, M.Neiderberger. Nonaqueous and surfactant-free synthesis routes to metal oxide nanoparticles. // *J. Am. Ceram. Soc.*, 2006, 89 (6), 1801-1808.
203. M.Neiderberger. Nonaqueous Sol-gel routes to metal oxide nanoparticles. // *Acc. Chem. Res.*, 2007, 40, 793-800.
204. M.Neiderberger, G.Garnweitner. Organic reaction pathways in the nonaqueous synthesis of metal oxide nanoparticles. // *Chem. Eur. J.*, 2006, 12, 7282-7302.
205. M.A.Willard, L.K.Kurihara, E.E.Carpenter, S.Calvin, V.G.Harris. Chemically prepared magnetic nanoparticles. // *Int. Mater. Rev.*, 2004, 49 (3-4), 125-170.
206. J.Park, K.An, Y.Hwang, J.-G.Park, H.-J.Noh, J.-Y.Kim, J.-H.Park, N.-M.Hwang, T.Hyeon. Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals. // *Nature Mater.*, 2004, 3 (12), 891-895.

207. N.R.Jana, Y.Chen, X.Peng. Size- and shape-controlled magnetic (Cr, Mn, Fe, Co, Ni) oxide nanocrystals via a simple and general approach. // Chem. Mater., 2004, 16 (20), 3931-3935.
208. D.I.Svergun, M.H.J.Koch, P.A.Timmins, R.P.May. In: Small-angle X-ray and neutron scattering from solutions of biological macromolecules. // International Union of Crystallography monographs on crystallography, 19, Oxford University Press, 368 p. ISBN: 978-0-19-963953-3.
209. D.A.Hajduk, S.M.Gruner, P.Rangarajan, R.A.Register, L.J.Fetters, C.Honeker, R.J.Ibalak, E.L.Thomas. Observation of reversible thermotropic order-order transition in a di-block copolymer. // Macromolecules, 1994, 27, 490 -501.
210. S.Ludwigs, A.Böker, V.Abetz, A.H.E.Müller, G.Krausch. Phase behavior of linear polystyrene-b-poly(2-vinylpyridine)-b-poly(tert-butyl methacrylate) triblock copolymers. // Polymer, 2003, 44, 6815-6823.
211. A.I.Cooper. Polymer synthesis and processing using supercritical carbon dioxide. // J. Mater. Chem., 2000, 10, 207-234.
212. S.G.Kazarian S.G. Polymer processing with supercritical fluids. // Polymer Science, C, 2000, 42 (1), 78-101.
213. E.J.Beckman. Supercritical and near-critical CO₂ in green chemical synthesis and processing. // J. Supercrit. Fluids, 2004, 28, 121-191.
214. M.A.McHugh, V.J.Krukonis. In: Supercritical fluid extraction: principles and practice. // Butterworth–Heinemann: Boston, MA, 1994, 512 p.
215. J.L.Kendall, D.A.Canelas, J.L.Young, J.M.DeSimone. Polymerizations in supercritical carbon dioxide. // Chem. Rev., 1999, 99, 543-563.
216. А.О.Рыбалтовский, А.А.Аксенов, В.И.Герасимова, Ю.С.Заворотский, В.К.Попов, В.В.Зосимов, В.Н.Баграташвили. Спектроскопия β-дикетонатов серебра и европия в растворах этанола и сверхкритического диоксида углерода. // Сверхкритические флюиды: Теория и практика, 2008, 3 (2), 74 - 81.

217. А.О.Рыбалтовский, А.А.Аксенов В.И.Герасимова, В.В.Зосимов, В.К.Попов, А.Б.Соловьева, П.С.Тимашев, В.Н.Баграташвили. Синтез наночастиц серебра в матрице сшитого олигоуретанметакрилата. // Сверхкритические флюиды: Теория и практика, 2008, 3 (1), 50 - 57.
218. D.A.Rees. In: Polysaccharides shapes. // Chapman and Hall, London, Outline studies in biology, 1977, 84 p. ISBN 10: 0412130300.
219. G.Evmenenko, E.Theunissen, H.Reynaers. Structural investigations of carrageenan–surfactant systems by synchrotron X-ray scattering. // J.Polym. Sci. B, Polym. Phys., 2000, 38, 2851-2859.
220. I.M.Yermak, Y.S.Khotimchenko. Chemical properties, biological activities and applications of carrageenans from red algae // Recent Advances in Marinetchnology, 2003, 9, 207-255.
221. P.W.Schmidt. Small-angle scattering studies of disordered, porous and fractal systems. // J. Appl. Crystallogr., 1991. 24, 414-435.
222. B.Chu, D.Wu, J.H.Phillips. Fractal geometry in branched epoxy polymer kinetics. // Macromolecules, 1987, 20 (10), 2642-2644.
223. M.Muthukumar, H.H.Winter. Fractal dimension of a cross-linking polymer at the gel point. // Macromolecules, 1986, 19 (6), 1284-1285.
224. W.Wu, B.J.Bauer, W.Su. Network structure in epoxies: 6.The growth process investigated by neutron scattering. // Polymer, 1989, 30 (8), 1384-1388.
225. M.J.S.Dewar, E.F.Zoebisch, E.F.Healy, J.J.Stewart. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. // J. Am. Chem. Soc., 1985, 107, 3902-3909.
226. K.Murata, M.Aoki, T.Suzuki, T.Harada, H.Kawabata, T.Komori, F.Ohseto, K.Ueda, S.Shinkai. Thermal and light control of the sol-gel phase-transition in cholesterol-based organic gels - novel helical aggregation models as detected by circular-dichroism and electron-microscopic observation. // J. Am. Chem. Soc., 1994, 116, 6664-6676.

227. Y.Ono, K.Nakashima, M.Sano, J.Hojo, S.Shinkai. Organogels are useful as a template for the preparation of novel helical silica fibers. // J. Mater. Chem., 2001, 11, 2412-2419.
228. D.Slootmaekers, M.Mandel, H.Reynaers. Dynamic light scattering by κ - and λ -carrageenan solutions. // Int. J. Biol. Macromol., 1991, 13, 17-25.
229. D.Slootmaekers, J.A.P.P. van Dijk, F.A.Varkevisser, C.J.Bloys van Treslong, H.Reynaers. Molecular characterization of κ - and λ -carrageenan by gel permeation chromatography, light scattering, sedimentation analysis and osmometry. // Biophys. Chem., 1991, 41, 51-59.
230. S.Janaswamy, R.Chandrasekaran. Three dimensional structure of the sodium salt of iota-carrageenan. // Carbohydr Res., 2001, 335, 181-194.
231. L.M.Bronstein, C.Linton, R.Karlinsey, B.Stein, G.I.Timofeeva, D.I.Svergun, P.V.Konarev, M.Kozin, J.Tomaszewski, U.Werner-Zwanziger, J.W.Zwanziger. Functional polymer colloids with ordered interior. // Langmuir, 2004, 20, 1100-1110.
232. X.Li, H.Kunieda. Solubilization of micellar cubic phases and their structural relationships in anionic–cationic surfactant–dodecane–water systems. // Langmuir, 2000, 16, 10092-10100.
233. J.Merta, M.Torkkeli, T.Ikonen, R.Serimaa, P.Stenius. Structure of cationic starch (CS)/anionic surfactant complexes studied by small-angle X-ray scattering (SAXS). // Macromolecules, 2001, 34, 2937-2946.
234. P.Garstecki, R.Holyst. Scattering patterns of self-assembled cubic phases. 2. Analysis of the experimental spectra. // Langmuir, 2002, 18, 2519-2528.
235. M.Rappolt, A.Hickel, F.Bringezu, K.Lohner. Mechanism of the lamellar/inverse hexagonal phase transition examined by high resolution X-ray diffraction. // Biophys. J., 2003, 84, 3111-3122.

236. M.A.Hillmyer, F.S.Bates. Influence of crystallinity on the morphology of poly(ethylene oxide) containing diblock copolymers. // *Macromol. Symp.*, 1997, 117, 121-130.
237. MSI Cerius2, Version 3.5. Molecular simulation Inc.: San Diego, USA, 1997.
238. Z.B.Shifrina, M.S.Rajadurai, N.V.Firsova, L.M.Bronstein, X.Huang, A.L.Rusanov, K.Mueller. Poly(phenylene-pyridyl) Dendrimers: synthesis and templating of metal nanoparticles. // *Macromolecules*, 2005, 38, 9920.
239. N.V.Kuchkina, D.G.Morgan, B.D.Stein, L.N.Puntus, A.M.Sergeev, A.S.Peregudov, L.M.Bronstein, Z.B.Shifrina. Polyphenylenepyridyl dendrimers as stabilizing and controlling agents for CdS nanoparticle formation. // *Nanoscale*, 2012, 4 (7), 2378 - 2386.
240. L.M.Bronstein, Z.B.Shifrina. Dendrimers as encapsulating, stabilizing, or directing agents for inorganic nanoparticles. // *Chem. Rev.*, 2011, 111(9), 5301-5344.
241. D.A.Jacques, J.M.Guss, D.I.Svergun, J.Trewhella. Publication guidelines for structural modelling of small-angle scattering data from biomolecules in solution. // *Acta Crystallographica Section D*, 2012, 68(6), 620-626.
242. Ю.М.Евдокимов, В.И.Салянов, Е.И.Кац, С.Г.Скуридин. Структурная нанотехнология нуклеиновых кислот: жидкокристаллический подход. // *Биофизика*, 2013, 6, 987-1004.
243. Yu.M.Yevdokimov, V.V.Sythev. Nanotechnology and nucleic acids. // *Open Nanosci. J.*, 2007, 1, 19-31.
244. Yu.M.Yevdokimov, V.V.Sythev. Principles of the design of nanostructures with nucleic acid molecules as building blocks. // *Russ. Chem. Rev.*, 2008, 77, 193-204.
245. H.Hakkinen. In: *Gold nanoparticles for physics, chemistry and biology*. // Imperial College Press, London, 2012, 233-272.
246. K.C.Grabar, P.C.Smith, M.D.Musick, J.A.Davis, D.G.Walter, M.A.Jackson, A.P.Guthrie, M.J.Natan. Kinetic control of interparticle spacing in Au colloid-

- based surfaces: rational nanometer-scale architecture. // J. Am. Chem. Soc., 1996, 118 (5), 1148-1153.
247. Ю.М.Евдокимов, В.И.Салянов, Е.И.Кац, С.Г.Скуридин. Кластеры из наночастиц золота в квазинематических слоях частиц жидкокристаллических дисперсий двухцепочечных нуклеиновых кислот. // Acta Naturae, 2012, 4 (15), 80-91.
248. Yu.M.Yevdokimov, V.I.Salyanov, S.V.Semenov, S.G.Skuridin. In: DNA liquid-crystalline dispersions and nanoconstructions. // Boca Raton-London-New York, CRC Press, 2011, 304 p.
249. R.Lamb, V.Krug. In: Orthomyxoviridae: the viruses and their replication. // Fundamental virology, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa, 2001, 725-770.
250. D.Nayak, R.Balogun, H.Yamada, Z.Zhou, S.Barman. Influenza virus morphogenesis and budding. // Virus Res., 2009, 143, 147-161.
251. J.S.Rossman, R.A.Lamb. Influenza virus assembly and budding. // Virology, 2005, 411, 229-236.
252. V.Radyukhin. The concept of transmembrane asymmetry of lateral domains in biomembranes and influenza virus envelope fine structure. // Mol. Biol. (Rus), 2009, 43, 533-542.
253. V.Lee. Architecture of a nascent viral fusion pore. // The EMBO J., 2010, 29, 1299-1311.
254. S.Boulo, H.Akarsu, R.Ruigrock, F.Baudin. Nuclear traffic of influenza virus proteins and ribonucleoprotein complexes. // Virus Res., 2007, 12, 12-21.
255. R.Ruigrok, A.Barge, P.Durrer, J.Brunner, K.Ma, G.Whittaker. Membrane interaction of influenza virus M1 protein. // Virology, 2000, 267, 289-298.
256. L.Calder, S.Wasilewski, J.Berriman, J.Rosenthal. Structural organization of a filamentous influenza A virus. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010, 107, 10685-10690.

257. B.Sha, M.Luo. Structure of a bifunctional membrane-RNA binding protein, influenza virus matrix protein M1. // *Nat. Struct. Biol.*, 1997, 4, 239-244.
258. S.Arzt, F.Baudin, A.Barge, P.Timmins, W.Burmeister, R.Ruigrok. Combined results from solution studies on intact influenza virus M1 protein and from a new crystal form of its N-terminal domain show that M1 is an elongated monomer. // *Virology*, 2001, 297, 439-444.
259. O.Zhirnov. Isolation of matrix protein M1 from influenza viruses by acid-dependent extraction with nonionic detergent. // *Virology*, 1992, 186, 324-330.
260. A.Shishkov, E.Bogacheva, N.Fedorova, A.Ksenofontov, S.Badun, V.Radyukhin, E.Lukashina, M.Serebryakova, A.Dolgov, A.Chulichkov, E.Dobrov, L.Baratova. (2011) Spatial structure peculiarities of influenza A virus matrix M1 protein in an acidic solution that simulates the internal lysosomal medium. // *FEBS J.* 2011, 278, 4905–4916.
261. M.V.Petoukhov, D.I.Svergun. Analysis of X-ray and neutron scattering from biomacromolecular solutions. // *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2007, 17, 562-571.
262. D.I.Svergun. Small-angle X-ray and neutron scattering as a tool for structural systems biology. // *Biol. Chem.*, 2010, 391, 737-743.
263. M.A.Graewert, D.I.Svergun DI. Impact and progress in small and wide angle X-ray scattering (SAXS and WAXS). // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2013, 23 (5), 748-754.
264. A.Harris, F.Forouhar, S.Qiu, B.Sha, M.Luo. The crystal structure of the influenza matrix protein M1 at neutral pH: M1-M1 protein interfaces can rotate in the oligomeric structures of M1. // *Virology*, 2001, 289, 34-44.
265. K.S.Makarova, L.Aravind, Y.I.Wolf, R.L.Tatusov, K.W.Minton, E.V.Koonin, M.J.Daly, Genome of the extremely radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics. // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2001, 65, 44-79.

266. C.Z.Bachrati, I.D.Hickson. RecQ helicases: suppressors of tumorigenesis and premature aging. // *Biochem. J.*, 2003, 374, 577–606.
267. P.Killoran, J.L.Keck. Structure and function of the regulatory C-terminal HRDC domain from *Deinococcus radiodurans* RecQ. // *Nucleic acids research*, 2008, 36(9), 3139-3149.
268. M.P.Killoran, J.L.Keck. Three HRDC domains differentially modulate *Deinococcus radiodurans* RecQ DNA helicase biochemical activity. // *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281 (18), 12849-12857.
269. D.A.Bernstein, M.C.Zittel, J.L.Keck. High-resolution structure of the *E. coli* RecQ helicase catalytic core. // *The EMBO Journal*, 2003, 22 (19), 4910-4921.
270. W.Wang, Emergence of a DNA-damage response network consisting of Fanconi anaemia and BRCA proteins. // *Nat. Rev. Genet.*, 2007, 8, 735–748.
271. L.H.Thompson, J.M.Hinz. Cellular and molecular consequences of defective Fanconi anemia proteins in replication-coupled DNA repair: mechanistic insights. // *Mutation Res.*, 2009, 668, 54-72.
272. A.R.Meetei, A.L.Medhurst, Chen Ling, Yutong Xue, Thiyam Ramsing Singh, Patrick Bier, Jurgen Steltenpool, Stacie Stone, I.Dokal, C.G.Mathew, M.Hoatlin, H.Joenje, J.P. de Winter, W.Wang. A human ortholog of archaeal DNA repair protein Hef is defective in Fanconi anemia complementation group M. // *Nat. Genet.*, 2005, 37, 958-963.
273. K.Gari, C.Decaillet, A.Z.Stasiak, A.Stasiak, A.Constantinou. The Fanconi anemia protein FANCM can promote branch migration of Holliday junctions and replication forks. // *Mol. Cell.*, 2008, 29, 141-148.
274. K.Gari, C.Decaillet, M.Delannoy, L.Wu, A.Constantinou. Remodeling of DNA replication structures by the branch point translocase FANCM. // *Proc. Natl Acad. Sci.*, 2008, 105, 16107-16112.

275. Y.Tao, C.Jin, X.Li, S.Qi, L.Chu, L.Niu, X.Yao, M.Teng. The structure of the FANCM–MHF complex reveals physical features for functional assembly. // Nat. Communications, 2012, 3, Article number 782, doi: 10.1038/ncomms1779.
276. D.E.Tronrud, J.P.Allen. Reinterpretation of the electron density at the site of the eighth bacteriochlorophyll in the FMO protein from *Pelodictyon phaeum*. // Photosynth. Res., 2012, 112, 71-74.

Публикации по теме диссертации

Статьи:

- A1. 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.
- A2. 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.
- A3. Э.В.Штыкова. Малоугловое рассеяние, нано, грипп, etc..., // Природа, 2013, 11, 28-36.
- A4. 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.
- A5. D.I.Svergun, M.B.Kozin, P.V.Konarev, E.V.Shtykova, V.V.Volkov, D.M.Chernyshov, P.M.Valetsky, 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.
- A6. Э.В.Штыкова. Восстановление структуры низкого разрешения полидисперсных и полиморфных нанообъектов по данным малоуглового рассеяния (компьютерное моделирование). // Российские нанотехнологии, 2015, 10, (5-6), 60-70.
- A7. D.I.Svergun, E.V.Shtykova, A.T.Dembo, L.M.Bronstein, O.A.Platonova, A.N.Yakunin, P.M.Valetsky, A.R.Khokhlov. Size distributions of metal nanoparticles in polyelectrolyte gels. // J. Chem. Phys., 1998, 109 (24), 11109 - 11116.

- A8. 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.Valetsky, A.R.Khokhlov. Small-angle X-ray scattering study of platinum-containing hydrogel/surfactant complexes. // J.Phys.Chem. B, 2000, 104, (22), 5242-5250.
- A9. 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.
- A10. S.G.Starodoubtsev, E.V.Saenko, A.R.Khokhlov, V.V.Volkov, K.A.Dembo, V.V.Klechkovskaya, E.V.Shtykova, I. S. Zanaevskina. Poly (acrylamide) gels with embedded magnetic nanoparticles. // Microelectronic Engineering, 2003, 69(2-4), 324-329.
- A11. 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, 7845-7851.
- A12. 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.
- A13. S.G.Starodoubtsev, T.V.Laptinskaya, A.S.Yesakova, A.R.Khokhlov, E.V.Shtykova, K.A.Dembo, V.V.Volkov. Comb-like poly (4-vinylpyridinium) 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.

- A14. A.Priola, A. Di Gianni, R.Bongiovanni, S.G.Starodubtsev, S.S.Abramchuck, S.N.Polyakov, V.V.Volkov, E.V.Shtykova, K.A.Dembo. Effect of the swelling degree on the formation of magnetite nanoparticles in hydrogels. // European Polymer Journal, 2010, 46, 2105–2111.
- A15. 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.
- A16. 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.
- A17. 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.
- A18. 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.
- A19. 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.
- A20. 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 CO₂: малолугловое рентгеновское рассеяние и моделирование. // Российские нанотехнологии, 2009, 4, (9-10), 64-71.

- A21. 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.
- A22. Э.Е.Саид-Галиев, А.И.Гамзазаде, Т.Е.Григорьев, А.Р.Хохлов, Н.П.Бакулева, И. Глютова, 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.
- A23. 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 металло-парового синтеза. // Журнал физической химии, 2012, 86 (10), 1706–1713.
- A24. 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 CO₂ на микропористом полиэтилене. // Высокомолекулярные соединения, Серия А, 2006, 48, (8), 1431–1447.
- A25. 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.
- A26. 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 ι - and κ -carrageenan/surfactant complexes. // J. Appl. Crystallography, 2003, 36, 669-673.
- A27. 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.
- A28. 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.
- A29. 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.
- A30. 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.
- A31. 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.
- A32. 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.

- A33. 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.
- A34. 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.
- A35. В.И. Салянов, 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.
- A36. Ю.М.Евдокимов, В.И.Салянов, 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.
- A37. 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.
- A38. 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.
- A39. 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.
- A40. 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.
- A41. Ю.М.Евдокимов, Э.В.Штыкова, С.Г.Скуридин, В.И.Салянов. Линейные кластеры из наночастиц золота в квазинематических слоях частиц жидкокристаллических дисперсий ДНК. // Биофизика, 2013, 58(2), 210-220.
- A42. С.Г.Скуридин, В.И.Салянов, 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.
- A43. 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.
- A44. 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.
- A45. 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.
- A46. 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.
- A47. 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., 2013, 288, 32414-32423.
- A48. W.Wang, Q.Guo, E.V.Shtykova, G.Liu, J.Xu, M.Teng, P.Liu, Y.Dong. Structural peculiarities of the (MHF1-MHF2)₄ 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.
- A49. 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).
- A50. 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.
- A51. 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 гель-пленке бактериальной целлюлозы методами малоуглового рентгеновского рассеяния, электронной дифракции и электронной микроскопии. // Кристаллография, 2009, 54, (2), 197-201.
- A52. 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 ^1H криопорометрии и малоуглового рентгеновского рассеяния. // Кристаллография, 2010, 55, (2), 344 – 349.
- A53. 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.
- A54. 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.
- A55. 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.
- A56. 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.
- A57. 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 (m²G1835) from Escherichia coli. // RNA, 2012, 18 (8), doi:10.1261/rna.033407.112.
- A58. 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.
- A59. 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.

- A60. 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 IgMRF in solution by small-angle X-ray scattering. // *Mendeleev Commun.*, 2012, 22, 159-161.
- A61. 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.
- A62. 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.
- A63. 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.

Тезисы докладов

- T1. E.V.Shtykova, D.I.Svergun, A.T.Dembo, L.M.Bronstein, P.M.Valetsky, A.R.Khokhlov. Size distributions of metal nanoparticles in complexes of polyelectrolyte gels with oppositely charged surfactants. // *Self-Assembly of Amphiphilic Systems*, Dresden, 1998, Sept. 13 -16, C14.
- T2. Д.И.Свергун, Э.В.Штыкова, А.Т.Дембо, Л.М.Бронштейн, О.А.Платонова, А.Н.Якунин, П.М.Валецкий, А.Р.Хохлов. Распределение по размерам металлических наночастиц в полиэлектролитных гелях. // *Национальная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений*,

Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-99), Москва, 1999, 23-27 мая, Материалы конференции, с. 394.

- T3. Э.В.Штыкова, А.Т.Дембо, Е.Е.Махаева, А.Р.Хохлов. Малоугловое исследование комплексов ι - и κ -каррагенанов с поверхностно-активными веществами. // II Национальная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-99), Москва, 1999, 23-27 мая, Материалы конференции, с. 322.
- T4. E.Shtykova, A.Dembo, E.Makhaeva, A.Khokhlov, G.Evmenenko, H.Reynaers. SAXS Study of ι -Carrageenan Complexes. // XIth International Conference on Small-Angle Scattering, BNL, New York, 1999, p.216.
- T5. L.M.Bronstein, D.M.Chernyshov, P.M.Valetsky, E.V.Shtykova, M.B.Kozin, G.Goerigk, D.I.Svergun, Metal nanoparticle formation in self-assembled polymer system. // 2000 Spring National ACS Meeting, San Francisco, March 26-31, 2000, p.180.
- T6. 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. // XI International Conference on Magnetic Resonance in Chemistry and Biology, Zvenigorod, Russia, April 20-27, 2001, p.94.
- T7. Э.В.Штыкова, Д.И.Свергун, Е.В.Штыкова, В.В.Волков, П.В.Конарев, А.Т.Дембо, Е.Е.Махаева, А.Р.Хохлов, Г.А.Евмененко, Х.Райнерс. Сравнительное малоугловое рентгеновское исследование структуры комплексов κ - и ι -каррагинанов с ПАВ. // III Национальная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2001), Москва, 2001, 21-25 мая, Материалы конференции, с. 180.

- T8. E.V.Shtykova, D.I.Svergun, E.V.Shtykova, Jr., V.V.Volkov, P.V.Konarev, A.T.Dembo, E.E.Makhaeva, A.R.Khokhlov. Comparative small-angle X-ray study and modelling of κ - and ι -carrageenan/surfactant complexes. // The Third International Conference "Chemistry of Highly-Organized Substances and Scientific Principles of Nanotechnology", St-Peterburg, 26-28 June, 2001, p.452-453.
- T9. V.V.Volkov, R.L.Kayshina, V.A.Lapuk, A.L.Tolstikhina, R.V.Gaynutdinov, E.V.Shtykova, D.I.Svergun Determination of low resolution structure of human immunoglobulin M and rheumatoid factor IgM-RF in solution. // International Workshop "Scanning probe microscopy - 2002", Nizhny Novgorod, March 3-6, 2002, p.220-222.
- T10. 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 ι - and κ -carrageenan/surfactant complexes. // XII International Conference on Small-Angle Scattering, SAS-2002, August 25-29, 2002, Venice, Italy, Conference book, p.59.
- T11. V.V.Volkov, R.L.Kajushina, V.A.Lapuk, E.V.Shtykova, E.Yu.Varlamova, D.I.Svergun. Low resolution structure of immunoglobulins IgG1, IgM and rheumatoid factor IgM-RF from solution from X-ray scattering data. // XII International Conference on Small-Angle Scattering, SAS-2002, August 25-29, 2002, Venice, Italy, Conference book, p.28.
- T12. E.V.Saenko, S.G.Starodubtsev, A.R.Khokhlov, V.V.Volkov, K.A.Dembo, V.V.Klechkovskaja, E.V.Shtykova, Poly (acrylamide) gels with embedded magnetite nanoparticles. // Nano and Giga Challenges in Microelectronics Research and Opportunities in Russia, Symposium and Summer School, Moscow, Russia, September 10-13, 2002, p. 239.

- Т13. Э.В.Штыкова, В.В.Волков, К.А.Дембо, Е.В.Саенко, С.Г.Стародубцев, А.Р.Хохлов. Изучение структуры полиакриламидного геля с наночастицами магнетита методом малоуглового рентгеновского рассеяния. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2003), Москва, 2003, 17-22 ноября, Материалы конференции, с. 326.
- Т14. Э.В.Штыкова, Е.В.Штыкова, В.В.Волков, П.В.Конарев, А.Т.Дембо, Е.Е.Махаева, И.А.Ронова, А.Р.Хохлов, Д.И.Свергун. Полые спиральные наноструктуры в каррагинан/ПАВ комплексах, выявленные с помощью малоуглового рентгеновского рассеяния. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2003), Москва, 2003, 17-22 ноября, Материалы конференции, с. 308.
- Т15. С.М.Веркашанский, В.В.Волков, Э.В.Штыкова, Д.И.Свергун. Анализ результатов компьютерного моделирования и *ab initio* восстановления формы полимерных наночастиц в каррагинан/ПАВ комплексах по данным малоуглового рентгеновского рассеяния. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2003), Москва, 2003, 17-22 ноября, Материалы конференции, с. 321.
- Т16. Э.В.Штыкова, Д.И.Свергун, Л.М.Бронштейн, Д.М.Чернышов, П.М.Валецкий. Структура металлических коллоидов в слоевых полимерных наносистемах по данным аномального рентгеновского малоуглового рассеяния. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2003), Москва, 2003, 17-22 ноября, Материалы конференции, с. 354.

- T17. В.В.Волков, Р.Л.Каюшина, В.А.Лапук, Э.В.Штыкова, Е.Ю.Варламова, Д.И.Свергун. Исследование структуры иммуноглобулинов IgM, IgG, ревматоидного фактора и их фрагментов в растворе методом малоуглового рентгеновского рассеяния. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2003), Москва, 2003, 17-22 ноября, Материалы конференции, с. 338.
- T18. V.V.Klechkovskaya, V.V.Volkov, E.V.Shtykova, L.A.Feigin. Structure characterization of nanoscale organic-inorganic composites, partially ordered and disordered systems. // I France-Russia Seminar “New Achievements in Materials Science”, Nancy France, 27-29 October, 2004, Book of Abstracts, p. 156-159.
- T19. E.Said-Galiyev, L.Nikitin, A.Khokhlov, E.Stykova, V.Volkov, C.Dembo, O.Lebedeva, A.Aliev. Structure and morphology of metal-polymeric nanocomposites of noble metals made by means of critical technology. // 2-nd International Conference “Supercritical Fluid Technology: innovation potential of Russia”, Rostov-na-Donu, Russia, 2005, p.86-88.
- T20. E.V.Shtykova, D.I.Svergun, L.M.Bronstein, V.Zhirov, Y.A.Kabachii, P.M.Valetsky, O.I.Kiseleva, S.N.Polyakov, A.R.Khokhlov. Structural characterization and modeling of metallated diblock and triblock poly (ethylene oxide)-block-poly(4-vinylpyridine) copolymers using a combination of anomalous small angle X-ray scattering and different diffraction methods. // European Polymer Congress, Moscow, Russia, June 27 – July 1, 2005, Book of Abstracts, p. 97.
- T21. E.V.Shtykova, V.V.Volkov, H.Wang, T.Fujisawa, J.-Y.Wang. Autoxidized phospholipid nanoparticles in hexane studied by synchrotron small-sngle X-ray scattering. // European Polymer Congress, Moscow, Russia, June 27 – July 1, 2005, Book of Abstracts, p.149.

- T22. L.Bronstein, P.Valetsy, E.Shtykova, D.Svergun. Self-assembled amphiphilic polysilsesquioxane gels in polar solvents: interaction with functional modifiers and metal compounds. // European Polymer Congress, Moscow, Russia, June 27 – July 1, 2005, Book of Abstracts, p.99.
- T23. L.M.Bronstein, E.V.Shtykova, R.J.Spontak, D.I.Svergun. Platinum nanoparticles generated in self-assembled polyoctadecylsiloxane functionalized with long-chain modifiers. // The 230th ACS National Meeting, in Washington, DC, Aug 28-Sept 1, Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 2005, 230, p. 319.
- T24. Э.В.Штыкова, Л.М.Бронштейн, Д.И.Свергун. Аномальное малоугловое рассеяние в исследовании структуры металлизированных диблок и триблок сополимеров. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2005), Москва, 2005, 14-18 ноября, Материалы конференции, с.74.
- T25. Э.В.Штыкова, В.В.Волков, С.В.Амарантов, H.Wang, T.Fujisawa, J.-Y. Wang. Исследование наночастиц фосфолипидов в гексане методом малоуглового рентгеновского рассеяния. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2005), Москва, 2005, 14-18 ноября, Материалы конференции, с.88
- T26. В.В.Волков, В.А.Лапук, М.В.Занавескин, А.Л.Толстихина, Э.В.Штыкова, Д.И.Свергун. Исследование формы фрагментов Fab, Fab-RF, Fc и Fc-RF молекул иммуноглобулина М и ревматоидного фактора методом малоуглового рентгеновского рассеяния от раствора и атомно-силовой микроскопии. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2005), Москва, 2005, 14-18 ноября, Материалы конференции, с.108.

- T27. Д.И.Свергун, Э.В.Штыкова, П.В.Конарев, Л.М.Бронштейн. Гибридные полимерные наночастицы: исследование квазикристаллической структуры. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2005), Москва, 2005, 14-18 ноября, Материалы конференции, с.131.
- T28. E.Said-Galiyev, L.Nikitin, E.Shtykova, V.Volkov, C.Dembo, O.Lebedeva, A.Khokhlov. The structure and morphology of metal-polymer nanocomposites made in supercritical carbon dioxide. // 10th European meeting on Supercritical Fluids. December 12-14, 2005, Colmar, France, Abstracts, p.3.
- T29. E.V.Shtykova, V.V.Volkov, V.V.Klechkovskaya. Self-assembled polymer matrices as media for metal nanoparticles formation: anomalous scattering and electron diffraction study. // II France-Russia Seminar “New Achievements in Materials Science”, Russia, Moscow, 10-12 November, 2005, Book of Abstracts, p. 67-69.
- T30. V.V.Volkov, V.A.Lapuk, E.V.Shtykova, K.A.Dembo, V.P.Timofeev, R.H.Ziganshin, A.V.Sokolova. Investigation of isolated Fab fragments of immunoglobulin IgM and rheumatoid factor by SAXS, ESR, and mass spectrometry. // XIII International Conference on Small-angle Scattering (SAS2006), Japan, Kyoto, July 9 – 13, 2006, Book of Abstract, p. 48.
- T31. E.V.Shtykova, L.M.Bronstein, D.I.Svergun. Formation of metal nanoparticles in self-organized polymer matrices: conventional and anomalous SAXS study. // XIII International Conference on Small-angle Scattering (SAS2006), Japan, Kyoto, July 9 – 13, 2006, Book of Abstract, p. 236.
- T32. E.V.Shtykova, L.M.Bronstein, D.I.Svergun. Structural models of diblock and triblock copolymers in bulk containing Pt nanoparticles revealed by ASAXS study. // Международная конференция «Electron Microscopy and Multiscale Modeling» (EMMM 2007), Москва, сентябрь 3 – 7, 2007, Book of Abstract, p.

78.

- T33. E.V.Shtykova, L.M.Bronstein, D.I.Svergun. Structural Models of iron oxide nanoparticles covered with PEGylated phospholipids in aqueous solutions: SAXS investigation. // Международная конференция «Electron Microscopy and Multiscale Modeling» (EMMM 2007), Москва, сентябрь 3 – 7, 2007, Book of Abstract, p. 77.
- T34. V.V.Volkov, V.A.Lapuk, K.A.Dembo, A.V.Sokolova, E.V.Shtykova, S.V.Amarantov, E.Yu.Varlamova. Determination of shape of Fab and Fc5 fragments separated from immunoglobulin IgM and rheumatoid factor from SAXS solution data by computer modelling. // Международная конференция «Electron Microscopy and Multiscale Modeling» (EMMM 2007), Москва, сентябрь 3 – 7, 2007, Book of Abstract, p. 96.
- T35. Э.В.Штыкова, В.В.Волков, Л.М.Бронштейн, Д.И.Свергун. Малоугловое рентгеновское рассеяние в исследовании наноструктурированных материалов. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2007), Москва, 2007, 12-17 ноября, Материалы конференции, с. 222.
- T36. В.В.Волков, В.А.С.Лапук, К.А.Дембо, Н.Д.Степина, Э.В.Штыкова, М.Л.Занавескин, С.В.Амарантов, А.В.Соколова, Е.Ю.Варламова. Комплексное сравнительное исследование фрагментов структур иммуноглобулина М и ревматоидного фактора методами малоуглового рентгеновского рассеяния, ЭПР и масс-спектропии. // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РСНЭ-2007), Москва, 2007, 12-17 ноября, Материалы конференции, с. 409.
- T37. В.А.Лапук, В.В.Волков, К.А.Дембо. Э.В.Штыкова, С.В.Амарантов, Р.В.Гайнутдинов, М.Л.Занавескин, Е.Ю.Варламова Применение

малоуглового рентгеновского рассеяния для уточнения процесса фрагментации моноклональных IgM и ревматоидного IgM (IgM-RF) «горячим трипсином». // Международная конференция по применению Рентгеновского, Синхротронного излучений, Нейтронов и Электронов для исследования материалов (РЧЭ-2007), Москва, 2007, 12-17 ноября, Материалы конференции, с. 127.

- T38. E.V.Shtykova, V.V.Volkov, L.M.Bronstein, D.I.Svergun. Polymer matrices as templates for metal nanoparticles. // 7th International Conference on X-ray Investigations of Polymer Structure (XIPS'2007), 5 – 7 December, 2007, Krakow, Poland, Book of Abstracts, p. 16.
- T39. V.V.Volkov, V.V.Klechkovskaya, P.M.Valetski, N.A.Arkharova, E.V.Shtykova, A.S.Kotosonov, Yu.A.Kabachij, S.Yu.Kochev, K.A.Dembo, S.V.Amarantov. Structural characterization of nanodisperse metal-carbon catalysts by X-ray small-angle scattering, electron diffraction, and electron microscopy. // III International Conference on Colloid Chemistry and Physicochemical Mechanics (ICCCPCM'08), 2008, Moscow, June 24-28, Book of Abstract, FP17.
- T40. T.A.Babushkina, T.P.Klimova, A.K.Khripunov, E.V.Shtykova, K.A.Dembo, V.V.Volkov, V.V.Klechkovskaya. Interactions in the cellulose acetobacter xylinum – water system: X-ray small-angle scattering and pulsed nuclear magnetic resonance porometry study. // 6th International Symposium “Molecular Order and Mobility in Polymer Systems”, St.Peterburg, 2008, June 2-6, Book of Abstracts, p. 222.
- T41. L.M.Bronstein, X.Huang, J.C.Dyke, A.L.Schmucker, C.Dufort, E.V.Shtykova, D.I.Svergun, B.Dragnea. Well-defined hybrid magnetic nanoparticles by self-assembly. // 235th ACS National Meeting, New Orleans, LA, United States, 2008, April 6-10, Abstracts of Papers, PMSE-070.
- T42. Э.В.Штыкова, Л.М.Бронштейн, Д.И.Свергун. Магнитные наночастицы в мицеллах блок-сополимеров: малоугловое рентгеновское рассеяние. // XIII

Национальная конференция по росту кристаллов (НКРК-2008), Москва, 2008, 17- 21 ноября. Тезисы докладов, с. 420.

- Т43. Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, В.В.Волков, Ю.М.Евдокимов. Исследование комплексов гадолиния с линейной и жидкокристаллическими формами ДНК методом малоуглового рентгеновского рассеяния. // XIII Национальная конференция по росту кристаллов (НКРК-2008), Москва, 2008, 17- 21 ноября. Тезисы докладов, с. 488.
- Т44. E.V.Shtykova, P.V.Konarev, L.M.Bronstein, D.I.Svergun. Conventional and anomalous SAXS studies of polymer matrices containing metal nanoparticles. // IUCr2008 satellite meeting on X-ray and neutron techniques for nano-structural research, Spring-8, Hyogo, Japan, 2008, August 21-23, p. 8.
- Т45. V.V.Volkov, S.V.Amarantov, E.V.Shtykova, D.I.Svergun. Uniqueness and consistency of particle shape determination from small-angle scattering data: computer modeling. // XXI Congress of the International Union of Crystallography (IUCr2008), Osaka, Japan, August 23-31, 2008, Book of Abstracts & Acta Crys., A64, C226-227.
- Т46. E.V.Shtykova, P.V.Konarev, L.M.Bronstein, D.I.Svergun. Synchrotron SAXS reveals structural organization of iron oxide nanoparticles in aqueous solutions. // XXI Congress of the International Union of Crystallography (IUCr2008), Osaka, Japan, August 23-31, 2008, Book of Abstracts & Acta Crys., A64, C459-460.
- Т47. Э.Е.Саид-Галиев, А.Ю.Николаев, М.И.Бузин, Э.В.Штыкова, В.М.Бузник, А.Р.Хохлов. Модификация политетрафторэтилена марки «Форум» и полиэтилентерефталата в сверхкритическом диоксиде углерода. // III Международная научно-техническая конференция. «Достижения текстильной химии – в производство".г. Иваново. 2008. Сборник докладов, с. 45.
- Т48. Э.Е.Саид-Галиев, А.И.Гамзаде, А.П.Краснов, М.О.Галлямов, А.Ю.Николаев, А.Р.Хохлов, Э.В.Штыкова. Синтез наночастиц металлов в

полимерных матрицах в среде сверхкритического диоксида углерода и исследование структуры нанометаллополимерных композитов. // Сборник. Аннотации докладов Современная химическая физика. XX Симпозиум, г.Туапсе, 15-26 сентября, 2008, с.26

- T49. E.V.Shtykova, P.V.Konarev, L.M.Bronstein, D.I.Svergun. Structure of metal-containing nanocomposites revealed by SAXS. // XIV International Conference on Small-angle Scattering (SAS2009). UK, Oxford, September 13-18, 2009, Book of Abstract, p. 118.
- T50. V.V.Volkov, E.V.Shtykova, Yu.M.Yevdokimov. Structural modeling of DNA-gadolinium complexes from SAXS data. // XIV International Conference on Small-angle Scattering (SAS2009). UK, Oxford, September 13-18, 2009, Book of Abstract, p. 356.
- T51. E.V.Shtykova, V.V.Volkov, K.A.Dembo, E.E.Said-Galiev. Ab Initio modelling and structural analysis of polymeric matrices containing noble metal nanoparticles formed in supercritical CO₂. // XIV International Conference on Small-angle Scattering (SAS2009). UK, Oxford, September 13-18, 2009, Book of Abstract, p. 243.
- T52. E.V.Shtykova, V.V.Volkov, K.A.Dembo, S.G.Starodubtsev. Complexes of comb-like poly(4-vinylpyridinium) salts with surfactants: small-angle X-ray scattering study. // XIV International Conference on Small-angle Scattering (SAS2009). UK, Oxford, September 13-18, 2009, Book of Abstract, p. 243-244.
- T53. L.M.Bronstein, X.Huang, J.C.Dyke, S.M.Hall, J.E.Atkinson, B.Dragnea, E.V.Shtykova, D.I.Svergun. Nanoparticle formation by decomposition of iron oleates: Myth or reality? // 238th ACS National Meeting, Washington, DC, United States, August 16-20, 2009, INOR-117.
- T54. E.Said-Galiev, A.Krasnov, A.Nikolaev, V.Mit., A.Naumkin, O.Afonicheva, A.Khokhlov, E.Shtykova. Supercritical carbon dioxide in elaboration of nanoporous material for medical tribology. // 9th International Symposium on

Supercritical Fluids Arcachon (France) 18-20 May 2009, P108. C.67.

- T55. 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. Синтез по сверхкритической нанотехнологии Ag- и Cu-хитозановых композитов и исследование их антимикробных свойств. // Международная научно-практическая конференция «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» г. Суздаль, 15-18 сентября, 2009, с. 48.
- T56. А.Ю.Николаев, Э.Е.Саид-Галиев, А.П.Краснов, В.А.Мить, О.В.Афоничева, А.С.Наумкин, А.Р.Хохлов, Э.В.Штыкова. Сверхкритический диоксид углерода в разработке нанопористого материала для медицинской трибологии. // Международная научно-практическая конференция «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» г. Суздаль, 15-18 сентября, 2009, с. 94.
- T57. Э.Е.Саид-Галиев, А.П.Краснов, В.А.Мить, О.В.Афоничева, А.Ю.Николаев, А.Р.Хохлов, В. Наумкин, И.О.Волков, Э.В.Штыкова. Сверхкритический диоксид углерода и проблемы медицинской трибологии. // XX I Симпозиум «Современная химическая физика», г. Туапсе, 25 сентября - 6 октября, 2009, с.251.
- T58. E.Said-Galiev, A.Gamzazade, M.Gallyamov, T.Grigoriev, A.Khokhlov, N.Bakuleva, I.Lyutova, V.Volkov, E.Shtykova, C.Dembo. Antimicrobial properties of Ag- and Cu-chitosan nanocomposites synthesized in supercritical carbon dioxide. // International Conference on Supercritical Fluid "Supergreen 2009". Sakura Hall, Tohoku University, Sendai, Japan, October 15-17, 2009, P1-239.
- T59. Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, В.В.Волков, Э.Е.Саид-Галиев. Формирование наночастиц благородных металлов в полимерных матрицах в среде сверхкритического CO₂: малоугловое рассеяние и моделирование. // Конференция "Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и

- Электроны для исследования наносистем и материалов". Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2009), Москва, 16-21 ноября, 2009.
- T60. Э.В.Штыкова, П.В.Конарев, Л.М.Бронштейн, Д.И.Свергун. Исследование структуры метал-содержащих нанокompозитов методом малоуглового рентгеновского рассеяния. // Конференция "Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов". Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2009), Москва, 16-21 ноября, 2009.
- T61. В.В.Волков, Э.В.Штыкова, Ю.М.Евдокимов. Моделирование структурной организации комплексов ДНК с гадолинием по данным рентгеновского малоуглового рассеяния. // Конференция "Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов". Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2009), Москва, 16-21 ноября, 2009.
- T62. В.А.Лапук, В.В.Волков, К.А.Дембо, Э.В.Штыкова, Е.Ю.Варламова, В.П.Тимофеев. Моделирование структуры молекул иммуноглобулинов в растворе по данным рентгеновского малоуглового рассеяния и спектроскопии. // Конференция "Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов". Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2009), Москва, 16-21 ноября, 2009.
- T63. С.Г.Стародубцев, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо, В.В.Волков. Комплексы солей гребнеобразного поли(4-винилпиридина) с поверхносто-активными веществами: малоугловое рентгеновское рассеяние. // Конференция "Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов". Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2009), Москва, 16-21 ноября, 2009.
- T64. E.V.Shtykova. Structure of ferromagnetic fluids revealed by SAXS. // Workshop

“Structural aspects of biocompatible ferrofluids: stabilization, properties control and application”, GKSS Research Centre, Geesthacht, Germany, 28 - 29 January, 2010, p. 14.

- T65. С.Г.Стародубцев, Е.К.Лаврентьева, В.В.Волков, Э.В.Штыкова, К.А.Дембо. Гидрогели с включенными мультислоями поликатионов и темпантированного монтмориллонита. // Пятая Всероссийская каргинская конференция Полимеры – 2010, Москва, 21-25 июня, 2010.
- T66. А.П.Краснов, Э.Е.Саид-Галиев, А.В.Наумкин, В.А.Мить, О.В.Афоничева, А.Ю.Николаев, И.О.Волков, Э.В.Штыкова, В.В.Волков, Н.С.Гаврюшенко, А.Р.Хохлов. Модификация в среде сверхкритического диоксида углерода биосовместимого сверхвысокомолекулярного полиэтилена и пути использования в медицинской трибологии. // Пятая Всероссийская каргинская конференция Полимеры – 2010, Москва, 21-25 июня, 2010.
- T67. Л.М.Бронштейн, З.Б.Шифрина, Ю.А.Кабачий, С.С.Кочев, П.М.Валецкий, Ш.Хуанг, Э.Баджин, Б.Драгния, Э.В.Штыкова, Д.И.Свергун. Магнитные наночастицы с функциональными полимерными оболочками: принципы самосборки при формировании наночастиц и наноматериалов. // Пятая Всероссийская каргинская конференция Полимеры – 2010, Москва, 21-25 июня, 2010.
- T68. 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. Сверхкритический диоксид углерода в создании эффективных антимикробных препаратов на базе хитозана. Материалы Пятой Всероссийской Каргинской Конференции "Полимеры-2010", Москва, 21 - 25 июня 2010.
- T69. Э.Е.Саид-Галиев, А.Ю.Николаев, С.С.Абрамчук, А.Р.Хохлов, А.Ю.Васильков, В.Л.Подшибихин, А.В.Наумкин, И.О.Волков, Э.В.Штыкова. Моно - и биметаллические катализаторы Pt/Al_2O_3 , Au/Al_2O_3 и $Au-Pt/Al_2O_3$, полученные сочетанием флюидной технологии и металлопарового синтеза. //

Материалы XXII Симпозиума «Современная химическая физика», Туапсе, 24 сентября - 5 октября, 2010, с.82.

- T70. 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. Роль размера и заряда частицы металла, строения полимерной матрицы и свойств реакционной среды в антимикробной активности Ag- и Cu- нано металлохитозанов, синтезированных в сверхкритическом диоксиде углерода. // Материалы XXII Симпозиума «Современная химическая физика», Туапсе, 24 сентября - 5 октября, 2010, с.82.
- T71. E.V.Shtykova, P.V.Konarev, L.M.Bronstein, D.I.Svergun. SAXS studies of iron oxide nanoparticles in solution. // 12th International Conference of Magnetic Fluids (ICMF12), Sendai, Japan, 2010, p 106.
- T72. В.В.Волков, Э.В.Штыкова. Современные структурные методы в нанотехнологии и образовании: малоугловое рассеяние и моделирование. // Всероссийская научная школа для молодежи «Образование в сфере нанотехнологий: современные подходы и перспективы. Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», 4-9 октября, 2010, с. 68.
- T73. В.В.Волков, Э.В.Штыкова. Исследование структуры наносистем методом малоуглового рентгеновского рассеяния, Школа молодых ученых по физике наноструктурированных и кристаллических материалов. Нижегородский Государственный Университет им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, 21-23 октября, 2010.
- T74. L.M.Bronstein, A.G.Malyutin, Z.B.Shifrina, E.M.Gunn, J.C.Dyke, S.H.Gage, B.D.Stein, B.Dragnea, E.V.Shtykova, D.I.Svergun. Functionalized magnetic nanoparticles as building blocks of novel materials. // The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2010), Honolulu, Hawaii, USA, December 15-20, 2010, 09-MATL, 629.

- T75. E.V.Shtykova, P.V.Konarev, L.M.Bronstein, D.I.Svergun. Monodisperse magnetic nanoparticles and their stabilization in solution by hydrophilic shells: SAXS study and modeling. // The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2010), Honolulu, Hawaii, USA, December 15-20, 2010, 09-MATL, 235.
- T76. E.V.Shtykova. Virus matrix protein M1: SAXS data analysis and modeling. // XXII IUCr Congress (IUCr2011), Madrid, Spain, 22-30 August, 2011, MS26.P03 (C400).
- T77. Д.Б.Трушина, Э.В.Штыкова, Т.В.Букреева. Особенности формирования и модификации наноструктурированных частиц карбоната кальция для создания фотоэлектрических элементов и систем доставки лекарств. // Материалы 5-ой Международной научной конференции Физико-химические основы формирования и модификации микро- и наноструктур (ФММН'2011), Харьков, Украина, 12-14 октября, 2011, т.2, с. 465-470.
- T78. Э.Е.Саид-Галиев, А.Ю.Николаев, А.Р.Хохлов, Э.В.Штыкова, В.В.Волков, К.А.Дембо. Связь структурной организации металлокомпозитов, полученных с участием сверхкритического диоксида углерода, со свойствами флюида и матрицы. // VIII Национальная конференция Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов. Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2011), Москва, 14-18 ноября, 2011, с. 36.
- T79. С.Г.Скуридин, Ю.М.Евдокимов, В.В.Волков, К.А.Дембо, Э.В.Штыкова. Изучение структурных характеристик холестерических жидко-кристаллических дисперсий ДНК с инкорпорированными наночастицами золота методом малоуглового рентгеновского рассеяния. // VIII Национальная конференция Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов. Нано-

Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2011), Москва, 14-18 ноября, 2011, с. 79.

- Т80. З.Б.Шифрина, Э.В.Штыкова, Л.М.Бронштейн, Д.И.Свергун. Структурные исследования жесткоцепных ароматических дендримеров, содержащих квантовые точки CdS, методом малоуглового рентгеновского рассеяния. // VIII Национальная конференция Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов. Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2011), Москва, 14-18 ноября, 2011, с. 90.
- Т81. Э.В.Штыкова, Л.А.Баратова, В.В.Волков, К.А.Дембо, Д.И.Свергун. Матриксный белок вируса гриппа М1: малоугловое рентгеновское рассеяние и моделирование. // VIII Национальная конференция Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов. Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2011), Москва, 14-18 ноября, 2011, с. 92.
- Т82. Д.Б.Трушина, Э.В.Штыкова, В.В.Артемов, Т.В.Букреева. Формирование и исследованиеструктуры частиц ядро-оболочка CaCO_3/Ag . // VIII Национальная конференция Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов. Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2011), Москва, 14-18 ноября, 2011, с. 218.
- Т83. В.А.Лапук, В.В.Волков, Э.В.Штыкова, А.И.Торопова, К.А.Дембо, Е.Ю.Варламова, В.П.Тимофеев. Моделирование формы молекул ревматоидного фактора человекапо данным малоуглового рентгеновского рассеяния. // VIII Национальная конференция Рентгеновское, Синхротронное излучения, Нейтроны и Электроны для исследования наносистем и материалов. Нано-Био-Инфо-Когнитивные технологии (РСНЭ-НБИК 2011), Москва, 14-18 ноября, 2011, с. 400.

- T84. Э.В. Штыкова, Л.А.Баратова, Д.И.Свергун. Матриксный белок вируса гриппа М1: Малоугловое рентгеновское рассеяние и моделирование. // V Троицкая конференция «Медицинская физика и инновации в медицине (ТКМФ-5). Троицк, 4-8 июня, 2012.
- T85. Э.В.Штыкова. Малоугловое рентгеновское рассеяние: структурная нанодиагностика. // XXIV Конференция «Современная химическая физика», 20 сентября - 1 октября 2012 г., г. Туапсе., Россия, 2012.
- T86. A.G.Malyutin, G.J.Gumina, E.V.Shtykova, P.V.Konarev, D.I.Svergun, B.Dragnea, L.M.Bronstein. Magnetic core-shell virus-like nanoparticles as promising MRI contrast agents and agents for hyperthermia treatment. // 244th National Fall Meeting of the American-Chemical-Society (ACS). США, Филадельфия, 19-23 августа, 2012.
- T87. E.Shtykova, L.Baratova, N.Fedorova, V.Volkov, V.Radyukhin, A.Ksenofontov, A.Shishkov, A.Dolgov, L.Shilova, A.Indenbom, O.Batishchev, V.Brevnov, S.Nizamov, V.Mirsky, D.Svergun. Solution structure of virus matrix protein M1 revealed by SAXS. // 15th International Small-Angle Scattering Conference SAS2012, Sydney, Australia, 18 – 23 November, 2012, Oral B2.4.
- T88. E.Shtykova, S.Skuridin, Yu.Evdokimov. Clusterization of Au-nanoparticles embedded in cholesteric liquid-crystalline dispersion formed by double stranded DNA. // 15th International Small-Angle Scattering Conference SAS2012, Sydney, Australia, 18 – 23 November, 2012, PS1. p.118.
- T89. E.Shtykova, L.Bronstein, D.Svergun. Small-angle X-ray scattering study of novel diblock copolymers in solution: morphology and structural transition. //15th International Small-Angle Scattering Conference SAS2012, Sydney, Australia, 18 – 23 November, 2012, PS1. p.116.
- T90. E.Shtykova, L.Bronstein, D.Svergun. Visualization of three-dimensional morphology of dendrimer/CdS nanocomposites by SAXS. // 15th International

Small-Angle Scattering Conference SAS2012, Sydney, Australia, 18 – 23 November, 2012, PS1. p.117.

- T91. W.Wang, H.Zhang, Y.Wei, Z.-Q.Gao, Y.Dong, E.Shtykova. Solution SAXS identifies crystal structure of the MPN domain from the COP9 signalosome subunit CSN6. // 15th International Small-Angle Scattering Conference SAS2012, Sydney, Australia, 18 – 23 November, 2012, PS2. P026.
- T92. W.Wang, Y.Lui, Z.-Q.Gao, Y.Dong, E.Shtykova. Solution structure of the response regulator DrRRA from *Deinococcus Radiodurans* revealed by SAXS. // 15th International Small-Angle Scattering Conference SAS2012, Sydney, Australia, 18 – 23 November, 2012, PS2. P027.
- T93. W.Wang, H. Zhang, Y.Wei, Y.Dong, E.Shtykova. Difference between crystal and solution structures of methyltransferase RsmH Revealed by SAXS. // 15th International Small-Angle Scattering Conference SAS2012, Sydney, Australia, 18 – 23 November, 2012, PS2. P028.
- T94. E.V.Shtykova, V.V.Volkov, D.I.Svergun. Shape determination of polydisperse and polymorphic objects in SAXS: possibilities and limitations. // 11th International Conference Biology and Synchrotron Radiation 2013 (BSR2013), Hamburg, Germany, 8-11 September, 2013, p. 152.
- T95. E.Shtykova, V.Volkov, V.Remenschikov, Yu.Vladimirov. Probing a complex of cytochrome C and cardiolipin by SAXS in solution and in precipitate. // 11th International Conference Biology and Synchrotron Radiation 2013 (BSR2013), Hamburg, Germany, 8-11 September, 2013, p. 153.
- T96. E.V.Shtykova, L.A.Dadinova, D.A.Bokova, N.V.Fedorowa, V.A.Radyukhin, A.L.Ksenofontov, D.I.Svergun. Structure and self-assembly of virus matrix protein M1 at different conditions in solution: SAXS study and modeling. // 11th International Conference Biology and Synchrotron Radiation 2013 (BSR2013), Hamburg, Germany, 8-11 September, 2013, p. 151.
- T97. E.V.Shtykova. Structure and self-assembly of influenza A virus proteins at

different conditions in solution. // Moscow BioSCAT workshop, A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow State University, 19-20 June, 2014.

- T98. D.I.Chekrygina, V.V.Volkov, E.V.Shtykova. Shape reconstruction of nanoparticles in clusters using SAXS data. // 12th International School and Symposium on Synchrotron Radiation in Natural Science (ISSRNS 2014), Warsaw, Poland, 15 - 20 June, 2014, Synchrotron Radiation in Natural Science, Bulletin of the Polish Synchrotron Radiation Society, 13 (1-2), p. 68, ISSN 1644-7190.