

**Санкт-Петербургский политехнический университет
Петра Великого
Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций**

На правах рукописи

Баранов Максим Александрович

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ САМООРГАНИЗАЦИИ В ТОНКИХ
ПЛЕНКАХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ**

Направление подготовки 03.06.01 Физика и астрономия

Код и наименование

Направленность 03.06.01_03 Радиофизика

Код и наименование

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

об основных результатах научно-квалификационной работы (диссертации)

Автор работы: Баранов М.А.

Научный руководитель: к.т.н., доцент,
Величко Е.Н.

Санкт-Петербург – 2021

Научно-квалификационная работа выполнена в Высшей школе прикладной физики и космических технологий Института электроники и телекоммуникаций федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»

Директор Высшей школы: – *Гельгор Александр Леонидович,*
к.т.н., доцент

Научный руководитель: – *Величко Елена Николаевна,*
к.т.н., доцент

Рецензент: – *Плешаков Иван Викторович*
Д. ф-м. н.,
Федеральное
государственное бюджетное
учреждение науки Физико-
технический институт им. А.Ф.
Иоффе Российской академии наук,
ведущий научный сотрудник

С научным докладом можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» и на сайте Электронной библиотеки СПбПУ по адресу: <http://elib.spbstu.ru>

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

В последнее время интерес многих исследователей нацелен на изучение свойств тонких пленок и процессов, протекающих в них. Особое внимание уделяется биомолекулярным пленкам, созданным из растворов биологических молекул, таких как белки, пептиды, аминокислоты. Тонкие пленки характеризуются процессами самоорганизации и сопровождаются возникновением упорядоченных диссипативных структур при дегидратации водных растворов биологических молекул.

Тонкие биомолекулярные пленки могут быть использованы в различных сферах науки и техники. Актуальным направлением исследований тонких биомолекулярных пленок является их использование в качестве материалов для разработки функциональных элементов биомолекулярной электроники. За последние несколько лет органическая электроника стала очень популярной из-за ее ценности во многих приложениях. Можно изменять физические и функциональные свойства тонких белковых и пептидных пленок и покрытий, по мере необходимости, в оптических и электронных устройствах, биотехнологиях и даже в пищевой упаковке. В этом контексте проводятся обширные исследования белковых, пептидных и других органических пленок. Новые научные данные позволят расширить перечень успешных применений. Научные результаты работы необходимы при разработке прототипов гибридных устройств электроники. Такими устройствами могут стать нелинейные преобразователи электрических и оптических сигналов, биологические сенсоры. Они будут основаны на физических свойствах как отдельных молекул белков, так и белковых пленок.

Еще одним перспективным направлением применения тонких биомолекулярных пленок является медицинская диагностика. В ней используется метод клиновидной дегидратации биологических жидкостей. Сегодня установлены корреляции качественного характера между различными, в том числе геометрическими параметрами структур в пленках биологических жидкостей человека и некоторыми типами патологических процессов, протекающих в организме человека.

Поводя итог, можно сказать, что биомолекулярные пленки представляют интерес как модели систем с протекающими внутри них процессами самоорганизации, которые определяются параметрами самой системы и влиянием внешних факторов. Поэтому для понимания физики процессов самоорганизации, протекающих в тонких биомолекулярных пленках, а также правильной интерпретации возникающих в результате данных процессов диссипативных структур, необходимо исследовать влияние различных внутренних и внешних факторов.

Цель и задачи исследования

Целью работы является установление особенностей процессов самоорганизации тонких биомолекулярных пленок, полученных из растворов с различными физико-химическими параметрами.

В качестве исследуемых систем в работе рассматриваются самоорганизованные тонкие биомолекулярные пленки, выполненные из водных растворов белка альбумина методом изотермического обезвоживания, а также биомолекулярные системы, состоящие из малого количества молекул.

Для достижения указанных целей были поставлены следующие задачи:

1. Разработка метода изотермического обезвоживания растворов биологических молекул для создания и последующего исследования тонких биомолекулярных пленок.
2. Проведение физико-математического и молекулярного моделирования процессов самоорганизации в молекулярных кластерах.
3. Разработка алгоритмов цифровой обработки изображений для определения геометрических параметров диссипативных структур в пленках биомолекулярных жидкостей.
4. Разработка модели образования диссипативных структур в тонких пленках, полученных методом изотермального обезвоживания белковых растворов.
5. Разработка математических моделей многослойных систем, включающих пептидные тонкие пленки.

Научная новизна

1. Разработана методика изотермального обезвоживания растворов биологических молекул в объемах от 1 мл для создания структурированных тонких биомолекулярных пленок.

2. Разработан алгоритм цифровой обработки изображений, позволяющие вычислять геометрические параметры диссипативных структур в тонких белковых пленках, а также рассчитывать фрактальную размерность дендритных структур в тонких биомолекулярных пленках (программное свидетельство №2020617699, 10.07.2020 и программное свидетельство № 2020667561, 24.12.2020).

3. Разработаны теоретические модели молекулярных систем. Проведены расчеты свободных энергий данных систем, позволяющих оценить характер протекания процессов самоорганизации на молекулярном уровне.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты, полученные при выполнении работы, могут быть применены для исследования формирования тонких биомолекулярных пленок из водных растворов биологических молекул, а также для развития теории процессов самоорганизации, протекающих в биологических системах. Практическая ценность работы заключается в том, что полученные результаты могут быть применены при разработке биологических сенсоров и функциональных элементов биомолекулярной электроники.

Апробация работы

Результаты работы были представлены на следующих международных и всероссийских конференциях и школах-семинарах:

1. Российская молодежная конференция по физике и астрономии «Физика.СПб» (Санкт-Петербург, 2020 г.);

2. Международная школа-конференция «Saint-Petersburg OPEN» по Оптоэлектронике, Фотонике и Нанобиотехнологиям (Санкт-Петербург, 2017 и 2018 гг.);

3. Международная конференция «Laser Optics» (Санкт-Петербург, и 2020 гг.);
4. Международная конференция по оптике и биофотонике «Saratov fall meeting» (Саратов, 2017 и 2018 гг.);
5. Конгресс молодых ученых (Италия, 2018 г.);
6. V Международная конференция и молодёжная школа «Информационные технологии и нанотехнологии» (Самара, 2020 г.);
7. Международная конференция по применениям оптики и фотоники (Лиссабон, Португалия, 2019 г.);
8. IV Симпозиум по эффекту Казимира (Санкт-Петербург, 2019)
9. IEEE Международная конференция по электротехнике и фотонике (Санкт-Петербург, 2018, 2019 и 2020 гг.);
10. Международная конференция по энергетике, материалам и нанотехнологиям (Санкт-Петербург, 2019 г.);
11. Симпозиум по исследованиям в области электромагнетизма (Санкт-Петербург, 2017 г.);
12. Международная конференция по проводным/беспроводным передовым сетям и системам нового поколения (Санкт-Петербург, 2018, 2019 и 2020 гг.).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ВВЕДЕНИЕ	8
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	9
РЕЗУЛЬТАТЫ.....	11
ВЫВОДЫ	13
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	14

ВВЕДЕНИЕ

Экспериментальные исследования тонких пленок, полученных методом дегидратации жидких образцов представляет интерес для многих исследователей. Данные структуры находят свое применение во многих сферах деятельности, от пищевой промышленности до науки и техники. Тонкие пленки, выполненные из различных материалов, обладают рядом уникальных физических и химических свойств, что отличает их поведение от массивных твердых тел. Отдельной отраслью исследования тонких пленок является изучение свойств биомолекулярных, в частности белковых пленок, полученных методом изотермального обезвоживания. Данные объекты обладают малоизученным в настоящее время свойством самоорганизации. Интересно, что в данных пленках процессы самоорганизации протекают как на микроуровне, при агрегации и перестройке белковых молекул, так и макроуровне, образуя уникальные диссипативные структуры на поверхности тонких пленок. Изучение поведения сложных макромолекул, а также их взаимодействия с различными подложками при различных условиях обезвоживания на сегодня является малоизученной областью. Исследование различных состояний тонких белковых пленок, выполненных на различных поверхностях, а также моделирование процессов самоорганизации в них, поможет внедрить сложные белковые структуры в современные полупроводниковые устройства.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оптическая микроскопия и цифровая обработка изображений. Для экспериментов был использован белок альбумин (Human Albumin) фирмы Biotest Pharma GmbH (Драйайх, земля Гессен, Германия), на основе которого готовили водные растворы с исходной концентрацией 20%. Для исследований были созданы растворы с различной объемной концентрацией белка в растворе: 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4 и 5, 10, и 20%. Также были созданы водно-солевые растворы белка с различной концентрацией соли NaCl: 0,001, 0,01, 0,02, 0,078, 0,313, 0,9, 1,25, 2,5, 5, 6, 7, 8, 9 и 10%. Рабочие пробы объемами 1, 2, 3 и 4 мл помещались в стеклянные чашки Петри.

На рис. 1 представлена схема эксперимента.

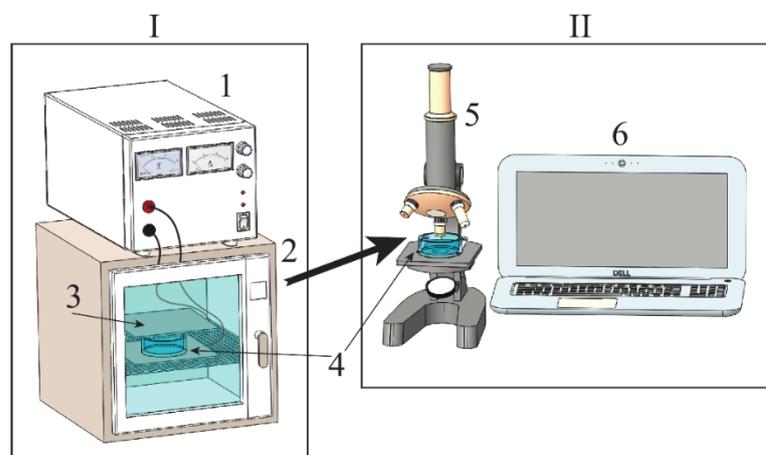


Рис. 1. Схематическое изображение экспериментальной установки для исследования пространственной структуры белковой пленки при ее дегидратации в электрическом поле: 1 - генератор электрического поля; 2 - термостат; 3 - неподвижные пластины конденсатора; 4 - чашка Петри с образцом; 5 - микроскоп и камера; 6 - компьютер.

Для обработки изображений полученных пленок из водных и водно-солевых растворов белка альбумина были разработаны алгоритмы цифровой обработки изображений при помощи высокоуровневого языка программирования Python с пакетом технического зрения OpenCV.

Молекулярное моделирование. Также были проведены численные расчеты свободой энергии молекулярного кластера системы белок-вода. Была использована программа Visual Molecular Dynamics (VMD) для создания моделей молекулярных систем. Каждая из них представляла собой систему из четырех молекул белка альбумина (код 1VM0 в соответствии с базой данных Protein Data Bank). Эти

молекулы были расположены на минимальном расстоянии 3 Å между отдельными участками молекул. Исследования проводились как в вакууме, так и в водном кубическом объеме (модель воды TIP3). Расстояние от границ молекул до края куба принималось равным 12 Å. Для нейтрализации электрического заряда системы в сольватный куб добавляли ионы Na⁺ и Cl⁻. Исследования свободной энергии проводились при различных концентрациях воды в сольватационном кубе.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В данной главе приводятся результаты экспериментальных исследований и теоретических расчетов. Показано, что образование структур в тонких биомолекулярных пленках зависит от параметров проведения дегидратации растворов белков. В результате высыхания образцов в чашках Петри образовывались прозрачные пленки белка. В некоторых пленках, в зависимости от их состава и условий эксперимента, формировались различные по виду, форме и размеру структуры. При этом структуры обнаруживались не по всей площади чашки Петри, а лишь в отдельных ее частях (рис. 2). В центре чашки Петри (область 3), в пленке белка формировалось небольшое пятно, содержащее трещины.

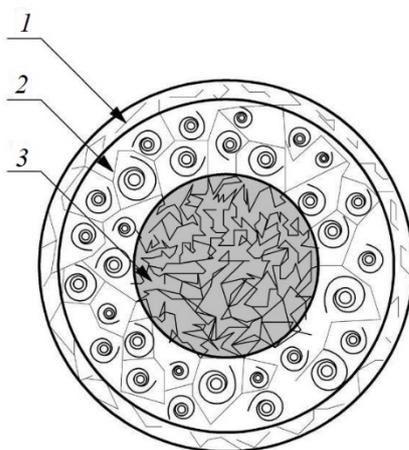


Рис. 2. Схематическое изображение чашки Петри с высушенным образцом яичного альбумина. Показаны различные области пленки: 1 – край чашки с солевым остатком; 2 – область со спиральными структурами и трещинами; 3 – центральная область с трещинами

Ближе к краю чашки (область 2), в этой пленке образовывалось кольцо из спиральных структур, расположенных на полигональных фрагментах пленки, разделенных трещинами. В этом кольце фрагменты пленки имели меньшую суммарную площадь, чем в центральной области. У края чашки Петри (область 1) наблюдались полусферические трещины с продолговатыми ветвеобразными структурами. Причиной такой локализации являлся вынос коллоидной фазы (частиц) на периферию в процессе испарения воды.

Установлено, что тип структур, образующихся в тонких белковых пленках, в целом зависит от наличия солей в исходном растворе. На рис. 3 продемонстрированы различные типы структур: спирали и дендриты.

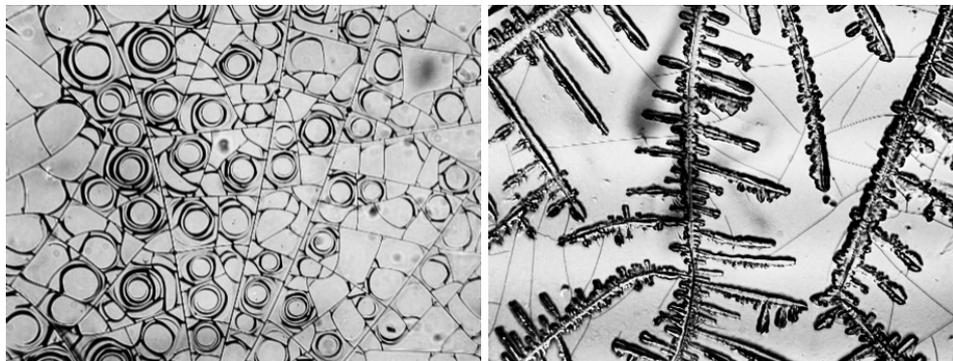


Рис. 3. Примеры типичных структур, наблюдаемых в биомолекулярных пленках: домены спиральной структуры или клетки (слева); домены или клетки дендритного кластера (справа)

ВЫВОДЫ

Результаты экспериментов и компьютерного моделирования свободной энергии белковых молекул в воде и воде-соли показали, что свойства дегидратированных пленок можно менять, задавая концентрацию белка или солей в исходном растворе или изменяя его рН.

Установлено, что на формирование структур оказывают существенное влияние внешние факторы, такие как температура дегидратации и величина напряженности внешнего электрического поля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработан метод изотермального обезвоживания растворов биологических молекул для создания структурированных биомолекулярных пленок;
2. Установлено, что в результате изотермального обезвоживания на характер адгезии пленок влияет материал подложки и параметры проведения дегидратации.
3. Установлены особенности образования диссипативных структур с характерными размерами 100–200 мкм в тонких белковых пленках в зависимости от условий проведения дегидратации (концентрация белка, исходный объем раствора, рН раствора и величина внешнего электрического поля).
4. Предложена модель сферических полостей в тонких белковых пленках, учитывающая движение пузырьков газа в жидкой пленке.
5. Методами молекулярного моделирования определены энергии и времена релаксации молекулярных кластеров, установлен характер изменения электрического поля на границе кластеров; показано, что релаксация происходит с медленными апериодическими колебаниями и соответствует релаксации диссипативной динамической системы с низкой электропроводностью.