

УДК 35-14

М. С. Вагин<sup>1,2</sup>, А. С. Уницын<sup>1,2</sup>, А. К. Петров<sup>1</sup>, А. С. Козлов<sup>1</sup>,  
С. Б. Малышкин<sup>1</sup>, В. М. Попик<sup>3</sup>, Т. Н. Горячкова<sup>4</sup>, С. Е. Пельтек<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Институт химической кинетики и горения СО РАН  
ул. Институтская, 3, Новосибирск, 630090, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет  
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Россия

<sup>3</sup> Институт ядерной физики им. Г. И. Будкера СО РАН  
пр. Академика Лаврентьева, 11, Новосибирск, 630090, Россия

<sup>4</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН  
пр. Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090, Россия  
E-mail: vms@gorodok.net

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАСС БИОЛОГИЧЕСКИХ НАНООБЪЕКТОВ МЕТОДОМ ТЕРАГЕРЦОВОЙ ЛАЗЕРНОЙ АБЛЯЦИИ

Исследуется возможность определения масс биологических макромолекул методом терагерцовой мягкой абляции. Проведены исследования зависимости массы фрагментов ДНК фага  $\lambda$ -hind от их размера. При помощи диффузионного спектрометра аэрозолей определялся размер дисперсных продуктов терагерцовой лазерной абляции. Работа проведена с использованием излучения лазера на свободных электронах Сибирского центра фотохимических исследований.

*Ключевые слова:* абляция, терагерцовое излучение, биологические макромолекулы.

### Введение

В организме человека существует огромное количество самых разнообразных белков, строение и функции которых предстоит выяснить. Прежде всего необходимо иметь информацию об их размере и массе. Очевидно, что работа с биологическими объектами требует неразрушающих методов исследования. В этом смысле метод терагерцовой лазерной абляции [1; 2] представляется довольно перспективным. Этот метод при определении размеров частиц очень удобен, прост и точен, а одним из главных его преимуществ является то, что благодаря низкой энергии кванта, сравнимой с энергией водородных и Ван-дер-ваальсовых связей, он не разрушает структуру молекул исследуемого образца. Данное утверждение к настоящему моменту достоверно подтверждено большим количеством физических и биологических методов.

Простота, скорость и удобство измерения, а также неразрушающий характер воздействия – это преимущества данного метода. Учитывая это, метод терагерцовой лазерной абляции может удачно дополнить ряд традиционных методов диагностики, таких как MALDI-спектороскопия, электронная микроскопия и светорассеяние.

Для объектов одного типа (белки, ДНК и пр.) размеру можно сопоставить массу. В дальнейшем, имея множество градуировочных кривых для различных классов объектов, можно будет, измеряя размер какого-либо нового вещества, предсказать, какой массой он обладает.

### Экспериментальная часть

Для исследования возможности сопоставления размерам масс были проведены исследования фрагментов ДНК  $\lambda$ -hind. Исследовались четыре монодисперсные фрак-

ции этой ДНК с известными массами. Для эксперимента был взят коммерчески доступный препарат ДНК фага лямбда, гидролизованый рестриктазой HindIII (НПО «Сибэнзим»). Было проведено электрофоретическое разделение препарата в 1% агарозном геле, из которого далее были препаративно выделены отдельные фрагменты ДНК-гидролизата. Полученный водный раствор монодисперсных фракций наносился на металлическую подложку и помещался в кювету. Схема установки представлена на рис. 1. Проводилась абляция данных образцов под действием излучения лазера на свободных электронах с параметрами:  $\lambda = 128 \pm 2$  мкм, длительность импульса 50 пс, частота 5,6 МГц, мощность 20 Вт. Терагерцовая лазерная абляция – эффект пороговой по мощности. Плотность мощности излучения, необходимая для начала абляции, варьировалась с помощью перемещения образца по фокальной оси секторного зеркала. Также при необходимости размеры исходного пучка излучения регулировались с помощью задвижки. Эксперименты проводились в токе азота. Для предотвращения попадания в исследуемую газовую смесь постороннего аэрозоля в экспериментальной кювете создавалось несколько избыточное давление. Время экспозиции составляло от 3 до 15 с. В ходе эксперимента при необходимости исследуемый раствор наносился на подложку еще несколько раз. Образующие-

ся аэрозольные фрагменты ДНК аккумулировались в буферную емкость (25 л), после чего, подождя некоторое время до установления в емкости равномерной концентрации частиц, измерялись размеры с помощью диффузионного спектрометра аэрозолей (ДСА) [4].

### Результаты эксперимента и их обсуждение

При сопоставлении измеренного диффузионного размера частиц каждой фракции с их массой выяснилось, что каждой индивидуальной фракции соответствует только один размер, что говорит о том, что образец не разрушался в ходе эксперимента.

С увеличением массы увеличивался и размер. Если представить исследуемые частицы шариками с постоянной плотностью, их объем должен меняться линейно с возрастанием массы. На рис. 2 представлена зависимость объема частиц от массы с линейной аппроксимацией. Объем соответствует объему сферы с таким же коэффициентом диффузии, как у фрагментов ДНК. Фрагменты вполне могут иметь форму, близкую к шару, так как ДНК склонна сворачиваться (третичная структура ДНК). Отклонение экспериментальных данных от линейной аппроксимации говорит о более сложной зависимости объема от массы.

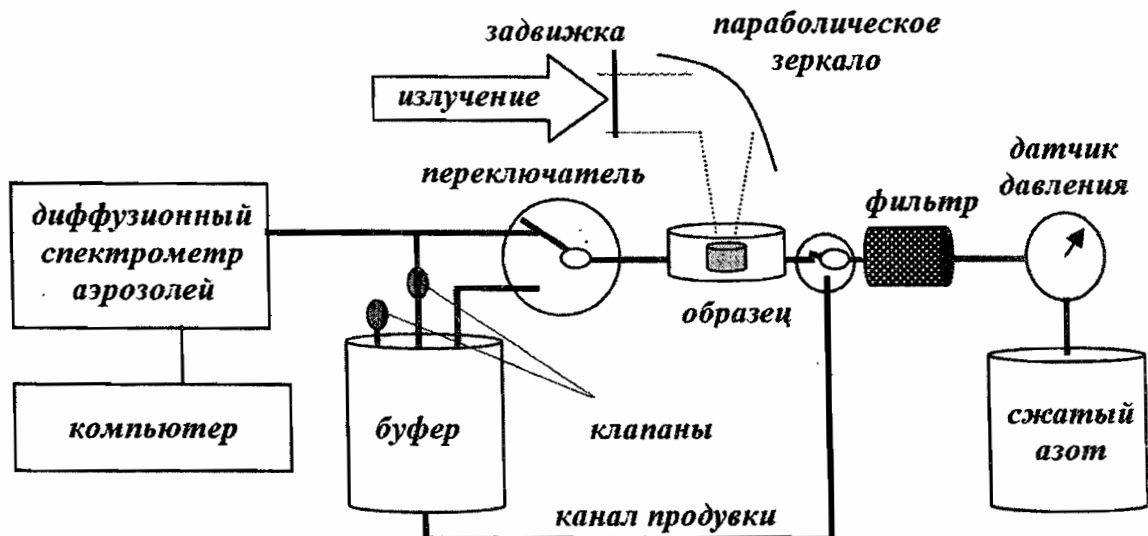


Рис. 1. Схема экспериментальной установки

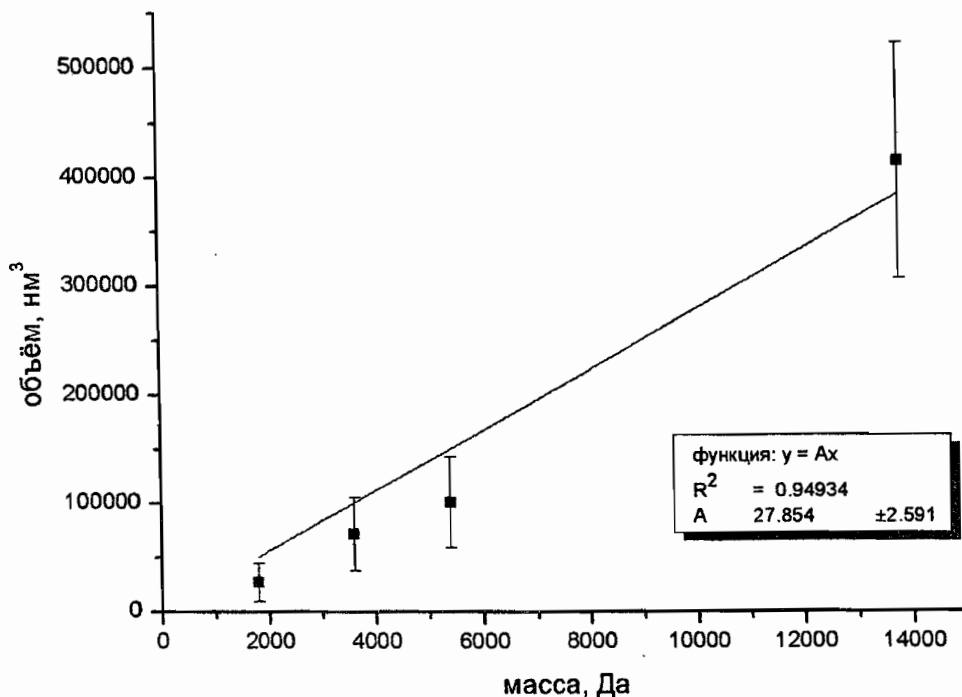


Рис. 2. Соотношение объема и массы четырех индивидуальных фракций ДНК  $\lambda$ -hind с линейной аппроксимацией. По оси абсцисс масса фрагментов в Дальтонах, по оси ординат средний объем аэрозольных продуктов абляции препарата ДНК

### Заключение

В результате проведенного экспериментального исследования было установлено, что частицам определенной массы соответствует определенный размер. Исходя из этого можно судить о массе, зная размер частиц одной природы, что подтверждает возможность использования метода терагерцовой лазерной абляции для определения масс биологических макромолекул.

Данный метод дает быстрые и информативные результаты, что делает его перспективным методом для изучения биологических нанообъектов.

Планируется дальнейшее широкое проведение подобных исследований различных биомолекул.

### Список литературы

1. Петров А. К., Козлов А. С., Тарабан М. Б., Горячковская Т. Н., Мальшикин С. Б., Попик В. М., Пельтек С. Е. Мягкая абляция

биологических объектов под воздействием субмиллиметрового излучения лазера на свободных электронах // Докл. академии наук. 2005. Т. 404, № 5. С. 1–3.

2. Petrov A. K., Kozlov A. S. et al. Nondestructive Transfer of Complex Molecular Systems of Various Origin into Aerosol Phase by Means of Submillimeter Irradiation of Free Electron Laser (FEL) of the Siberian Center for Photochemical Research // Nuclear Inst. and Methods in Physics Research. 2007. Vol. 575. P. 68.

3. Gavrilov N. G. et al. Status of the Novosibirsk High-Power Terahertz FEL // Nuclear Inst. and Methods in Physics Research. 2007. Vol. A575. P. 54–57.

4. Ankilov A. N. et al. Particle Size Dependent Response Of Aerosol Counters // Atmospheric Research. 2002. Vol. 62. No. 3–4. P. 209–237.

M. S. Vagin, A. S. Unitsyn, A. K. Petrov, A. S. Kozlov, S. B. Malyshkin,  
V. M. Popik, T. N. Goryachkovskaya, S. E. Peltek

**THE RESEARCH POSSIBILITY OF DEFINITION MASS BIOLOGICAL NANOOBJECTS  
USING TERAHERTZ LASER ABLATION METHOD**

Possibility of mass definition using terahertz laser ablation method for biological nanoobjects is researched. Diffusion spectrometer of aerosols was applied for measuring the size of dispersed products of terahertz laser ablation. Dependence of molecular mass from the aerosol particle size was obtained for fragments of DNA  $\lambda$ -hind. This work was carried out using THz radiation of free electron laser of Siberian center of photochemical researches.

*Keywords:* ablation, terahertz radiation, biological nanoobjects.