

БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

УДК 620.186:541.64

**ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИОНОГЕННОГО
ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА С κ -КАРРАГИНАНОМ****Т. Е. Григорьев, Д. В. Колесов, Е. Е. Махаева, И. В. Яминский, А. Р. Хохлов***(кафедра физики полимеров и кристаллов)*

E-mail: timgrigo@polly.phys.msu.ru

Проведено исследование методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) локальных сеток κ -каррагинана, адсорбированных на поверхности в присутствии ионогенного поверхностно-активного вещества (ПАВ). Показано эффективное связывание ПАВ спиральной и нативной формами каррагинана.

Широкое распространение в генной инженерии получило использование электростатических комплексов ДНК с положительно заряженными лигандами — катионными полиэлектролитами и липосомами — для невирусного транспорта генов. Высокая эффективность передачи генной информации электростатическими комплексами ДНК определяет актуальность детального исследования механизмов образования, структуры и физико-химических свойств этих комплексов. Однако исследования в данной области осложняет трудоемкость получения значительных количеств высокоочищенных препаратов ДНК, необходимых для физических экспериментов. Одним из путей преодоления этой проблемы можно рассматривать моделирование поведения ДНК в присутствии лигандов некоторыми анионными полисахаридами, в частности ι - и κ -каррагинанами. Эти линейные сильно заряженные полимеры с регулярной первичной структурой способны образовывать двойные спирали в определенных условиях. Они воспроизводят три основные физические характеристики ДНК — отрицательный заряд, высокую плотность заряда и двуспиральную конформацию. Важной особенностью каррагинанов является способность образовывать гели. Спиральная конформация является необходимым условием гелеобразования каррагинанов [1]. При уменьшении температуры или увеличении концентрации соли происходит термообратимая ассоциация молекул каррагинана (образование двойных спиралей). Дальнейшая ассоциация спиралей приводит к образованию геля.

Взаимодействие каррагинанов с ПАВ в гелях исследовано методами малоуглового рассеяния рентгеновских [2–4] и нейтронных [5] лучей. Было установлено, что взаимодействие гелей каррагинана противоположно заряженного ПАВ ведет к коллапсу геля и формированию упорядоченной структуры в результате гидрофобных и электростатических

взаимодействий полимерная сетка — ПАВ. Более детальный анализ данных рассеяния показал, что молекулы полимера и ПАВ формируют стержневидные структуры («стержни»), стабилизированные бислоями ПАВ. При этом при увеличении концентрации ПАВ эти структуры образуют кристаллиты — полые цилиндры, включающие в себя 6–10 «стержней» [2].

В работе [6] авторы показали возможность наблюдения структурообразования каррагинана методом атомно-силовой микроскопии. Также было показано на примере гелей геллана [7], что структура исследованных двухмерных сеток воспроизводит трехмерные гели.

В работе [8] методом дифференциальной сканирующей калориметрии было обнаружено эффективное связывание ионов цетилтриметиламмония (CTA^+) молекулами κ -каррагинана. Было показано, что связывание CTA^+ с κ -каррагинаном вызывает появление новой упорядоченной структуры. Пик конформационного перехода от упорядоченной структуры к разупорядоченной наблюдался как в присутствии ионов K^+ , инициирующих гелеобразование, так и в бессолевом режиме.

Целью настоящей работы является исследование структурообразования κ -каррагинана в присутствии ионогенного ПАВ цетилтриметиламмония бромидом методом атомно-силовой микроскопии.

Экспериментальная часть

Водные растворы каррагинана прогревали в течение 20 мин на водяной бане при температуре примерно 90°C , охлаждали до комнатной температуры и смешивали с раствором лиганда в весовом соотношении 1:1 при постоянном перемешивании, затем выдерживали при комнатной температуре в течение 18 ч при постоянном перемешивании. Использо-

лась очищенная от ионов Ca^{2+} натриевая форма κ -каррагинана.

На поверхность сколотой слюды, модифицированной раствором 0.01 моль/л KCl, при помощи спинкоутера наносили рабочий раствор с определенной концентрацией κ -каррагинана и цетилтриметиламмония бромида. Затем образец высушивался на воздухе. Измерения проводились на воздухе в режиме прерывистого контакта на микроскопах ФемтоСкан (ООО НПП «Центр перспективных технологий»). Для сканирования использовались коммерческие кремниевые кантилеверы fpN11S с золотым отражающим слоем (ФГУП «НИИФП им. Ф. В. Лукина»).

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлена микрофотография локальных сеток κ -каррагинана, полученных из 0.05% раствора κ -каррагинана и 0.01 моль/л KCl. Ранее было показано [8], что при данной концентрации полисахарида и KCl наблюдается конформационный переход двойная спираль-слубок. На АСМ-сканах видны сетки, образованные самопересекающимися волокнами из молекул каррагинана. Высота волокон составляет от 0.3 до 1 нм, что указывает на наличие молекул как нативных (0.3–0.5 нм [6]), так и спиральных с характерной высотой 1–1.2 нм [6]. После добавления цетилтриметиламмония бромида (ЦТАБ) структура сеток изменилась (рис. 2). Количество сшивок увеличилось, спирали объединились в более толстые тяжи с высотой до 3 нм, характерной для агрегатов спиралей [6]. Также на поверхности наблюдается образование мицелл ЦТАБ: размер отдельно стоящих

мицелл 3–3.5 нм. Из полученных результатов следует, что для исследуемых систем наблюдается сосуществование отдельных мицелл ПАВ и их агрегатов с высотой до 8–10 нм. Для анализа влияния сетки каррагинана на размер мицелл ЦТАБ было проведено сравнительное АСМ исследование.

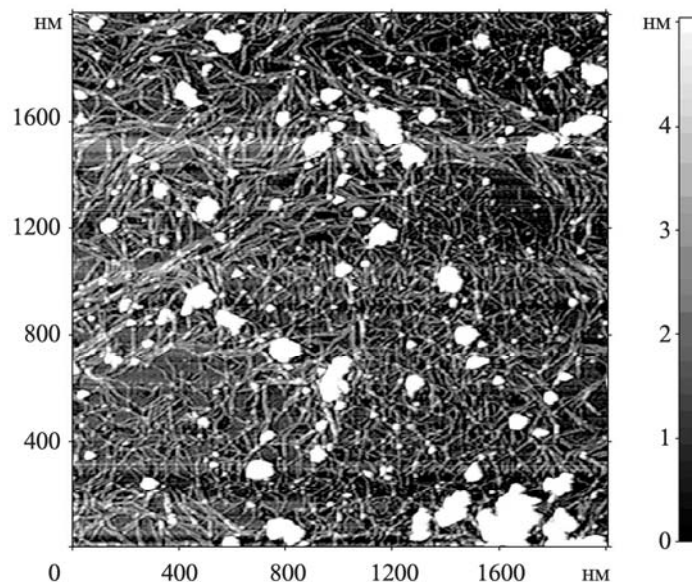


Рис. 2. Локальные сетки κ -каррагинана, адсорбированные на поверхности слюды в присутствии ЦТАБ. Концентрация каррагинана в поливном растворе $C_{\text{скаг}} = 0.05\%$, концентрация KCl $C_{\text{KCl}} = 0.01$ моль/л, концентрация цетилтриметиламмония бромида $C_{\text{СТАВ}} = 0.15$ моль/л

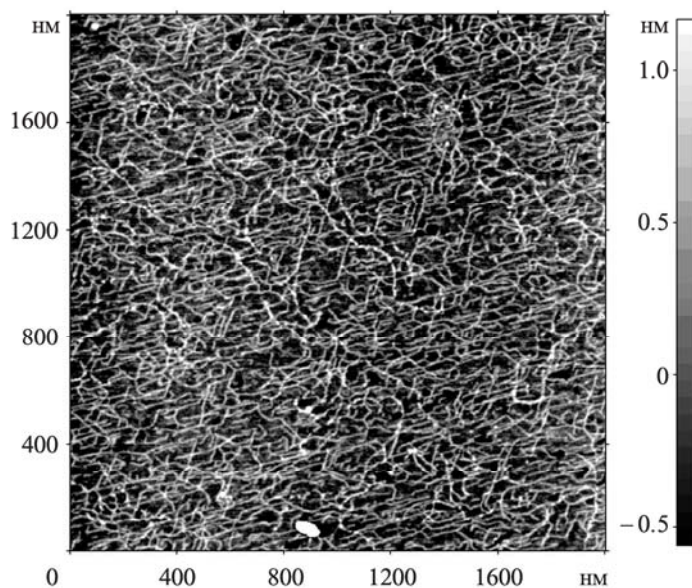


Рис. 1. Локальные сетки κ -каррагинана, адсорбированные на поверхности слюды. Концентрация каррагинана в поливном растворе $C_{\text{скаг}} = 0.05\%$, концентрация KCl $C_{\text{KCl}} = 0.01$ моль/л

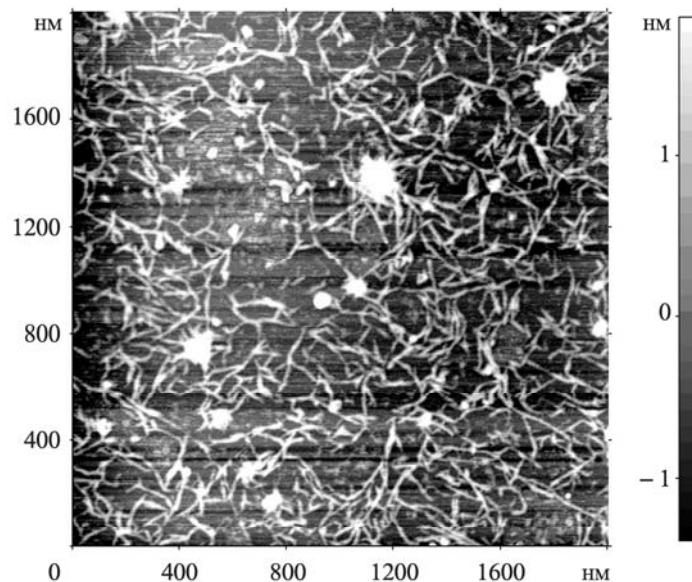


Рис. 3. Локальные сетки κ -каррагинана, адсорбированные на поверхности слюды в присутствии ЦТАБ в бессолевом растворе. Концентрация каррагинана в поливном растворе $C_{\text{скаг}} = 0.05\%$, концентрация KCl $C_{\text{KCl}} = 0$, концентрация цетилтриметиламмония бромида $C_{\text{СТАВ}} = 0.15$ моль/л

дование мицеллообразования ЦТАБ на поверхности слюды в присутствии и в отсутствие полисахарида. Размер мицелл ПАВ, адсорбированных из солевого раствора KCl в отсутствие полимера, составляет 3–3.5 нм, что совпадает с величиной мицелл в присутствии полимера. Однако агрегации мицелл без полисахарида не обнаружено.

В отсутствие ионов K^+ (вызывающих образование спиралей и гелеобразование) также наблюдалось структурообразование молекул полисахарида (рис. 3). Однако сетки становятся более редко сшитыми, а тяжи — более толстыми и короткими. Высота тяжей составляет от 0.9 до 3 нм, что указывает на наличие агрегатов спиралей каррагинана. На поверхности также присутствуют мицеллы ЦТАБ с характерной высотой 3–3.5 нм.

Таким образом, показано, что добавление ЦТАБ в раствор изменяет структуру сеток κ -каррагинана. Взаимодействие ПАВ с κ -каррагинаном ведет к стабилизации уже имеющихся спиралей, а также к образованию новой структуры. Формирование локальных сеток каррагинана в присутствии ПАВ происходит также и в отсутствие KCl, размеры агрегатов позволяют предположить спиральную структуру. При этом взаимодействие ПАВ с полисахаридом индуцирует агрегацию мицелл ПАВ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 06-03-32878).

Литература

1. Morris E.R., Rees D.A., Robinson G. // J. Mol. Biol. 1980. **138**, N 2. P. 349.
2. Shtykova E., Dembo A., Makhaeva E. et al. // Langmuir. 2000. **16**, N 12. P. 5284.
3. Shtykova E.V., Shtykova E.V. Jr., Volkov V.V. et al. // J. Appl. Cryst. 2003. **36**, N 1. P. 669.
4. Evmenenko G., Theunissen E., Reynaers H. // J. Polym. Sci., Polym. Phys. 2000. **38**, N 21. P. 2851.
5. Evmenenko G., Theunissen E., Mortensen K., Reynaers H. // Polymer 2001. **42**, N 7. P. 2907.
6. McIntire T.M., Brant D.A. // Int. J. Biol. Macromol. 1999. **26**, N 4. P. 303.
7. Morris V.J., Kirby A.R., Gunning A.P. // Progr. Colloid Polym. Sci. 1999. **114**, N 1. P. 102.
8. Григорьев Т.Е., Гринберг Н.В., Гринберг В.Я. и др. // Высокомолекулярные соединения. Сер. А. 2007. **49**, № 6. С. 969.

Поступила в редакцию
15.02.2008