

## ПОКРЫТИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПОЛИМЕРНЫМИ ОБОЛОЧКАМИ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ НА ПОВЕРХНОСТИ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ

Киреев А.А.<sup>1</sup>, Колесников И.Е.<sup>1</sup>, Пышняк М.Г.<sup>1</sup>, Васильева А.А.<sup>1</sup>, Ольшин П.К.<sup>1</sup>,  
Окунев Е.И.<sup>1</sup>, Калинин А.А.<sup>1</sup>, Назаров И.А.<sup>1</sup>, Борисов Е.В.<sup>1</sup>, Панькин Д.В.<sup>1</sup>,  
Поволоцкая А.В.<sup>1</sup>, Поволоцкий А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия (198504, ул. Ульяновская, 5, Петродворец, г. Санкт-Петербург), alexey-kireev@bk.ru

Основным этапом для создания гибридных объектов является модификация поверхности люминесцентных наночастиц с последующей иммобилизацией белковых молекул, которая может быть осуществлена за счет химической или физической сорбции на поверхности или за счет ковалентного связывания с активными группами на поверхности. В работе исследована возможность покрытия люминесцентных наночастиц состава  $Y_3Al_5O_{12}:Nd^{3+}$  полимерной оболочкой (полиэтиленгликоль) с функциональными группами, позволяющими присоединение amino- и карбоксильных групп биомолекул к полимерному покрытию. Люминесцентные наночастицы покрывались полимерной оболочкой, а затем исследовались ИК-спектроскопией и спектроскопией комбинационного рассеяния света. Продемонстрировано, что в ИК-спектре и спектре комбинационного рассеяния света наночастиц, обработанных полимером, присутствуют характерные для полимера пики, которые отсутствуют в исходных наночастицах, что подтверждает наличие полимерной оболочки на поверхности наночастиц. Показана возможность получения достаточного слоя полимера на поверхности  $Y_3Al_5O_{12}:Nd^{3+}$  для детектирования его методами колебательной спектроскопии.

Ключевые слова: люминесцентные наночастицы, полиэтиленгликоль, белки

## COATING OF THE LUMINESCENT NANOPARTICLES WITH POLYMER SHELLS FOR IMMOBILIZATION ON THE SURFACE OF THE PROTEIN MOLECULES

Kireev A.A.<sup>1</sup>, Kolesnikov I.E.<sup>1</sup>, Pyshniak M.G.<sup>1</sup>, Vasileva A.A.<sup>1</sup>, Olshin P.K.<sup>1</sup>,  
Okunev E.I.<sup>1</sup>, Kalinichev A.A.<sup>1</sup>, Nazarov I.A.<sup>1</sup>, Borisov E.V.<sup>1</sup>, Pankin D.V.<sup>1</sup>,  
Povolotckaia A.V.<sup>1</sup>, Povolotskiy A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> St.Petersburg State University, St.Petersburg, Russia (198504, Ulianovskaya 5, Petrodvorets, St.Petersburg), alexey-kireev@bk.ru

The main point for hybrid objects synthesis is the modification of luminescent nanoparticles surface and further immobilization of protein molecules performed by chemical and physical sorption on the surface or by covalent bonding with active groups on the surface. The possibility of covering the luminescent nanoparticles composed of  $Y_3Al_5O_{12}:Nd^{3+}$  with polymer shell (polyethylene glycol) is studied in this paper. The polymer shell contains functional groups allowing to add amino- and carboxyl groups to the polymer coating. Luminescent nanoparticles were covered with polymer shell and then were investigated by IR-absorption spectroscopy and raman spectroscopy. It was demonstrated that IR-spectra and raman spectra of nanoparticles treated by polymer, contain characteristic peaks for polymer which are absent in initial nanoparticles. This fact confirms the presence of polymer shell on a surface of the nanoparticles. The ability for receiving the sufficient layer of polymer on the surface of  $Y_3Al_5O_{12}:Nd^{3+}$  for detecting this polymer by raman spectroscopy was shown.

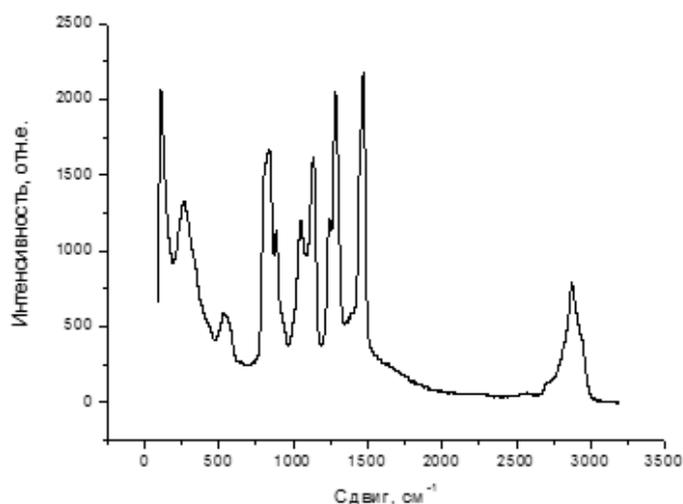
Keywords: luminescent nanoparticles, polyethylene glycol, proteins

Люминесцентные наночастицы перспективны для применения в медицине в качестве контрастных агентов. Основным этапом для создания нанобиогридных объектов является модификация поверхности люминесцентных наночастиц с последующей иммобилизацией белковых молекул, которая может быть реализована методами физической и/или химической сорбции на поверхности либо за счет ковалентного связывания с активными группами на

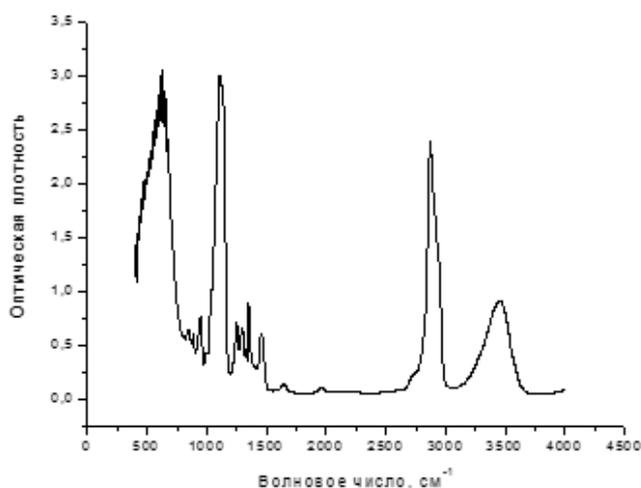
поверхности. Из химических реакций, сопровождающих формирование покрытий из водорастворимых пленкообразователей, наиболее важными и характерными являются реакции с участием функциональных групп, не способных к самоконденсации. В первую очередь это относится к реакциям карбоксильных, гидроксильных и аминогрупп. Эти реакции, изменяя структуру полярной группы, приводят к уменьшению гидрофильности полимера, что определяет возможность использования водорастворимых пленкообразователей для получения покрытий. Карбоксильные группы взаимодействуют с гидроксильными группами [1], с аминными группами, что используется в процессах поликонденсации, а также с бензольными кольцами, что приводит к перераспределению электронной плотности. Аминные группы взаимодействуют с карбоксильными группами, альдегидными (кетонными) группами. Поли-(2-алкилоксазолины) представляются весьма перспективными для биомедицинских приложений, поскольку поли-(N-ацилэтиленимины) являются нетоксичными биосовместимыми полимерами. Следует отметить, что изменение строения алкильной группы в поли-2-алкил-2-оксазолинах позволяет широко варьировать свойства полимера в растворе [3]. Гомополимеры и сополимеры поли-2-алкилоксазолинов в виде их комплексов с низкомолекулярными соединениями и ионами металлов предложены в качестве систем доставки лекарственных веществ [2], ДНК [4], а также материала для создания биосовместимых композиционных структур [5].

### **Экспериментальная часть**

Покрытие люминесцентных наночастиц полимерной оболочкой проводилось для стабилизированных нанокристаллических люминесцентных наночастиц состава  $Y_3Al_5O_{12}:Nd^{3+}$  (YAG:Nd). В качестве полимера для покрытия наночастиц использовался полиэтиленгликоль (PEG), обладающий функциональными группами, позволяющими присоединение amino- и карбоксильных групп биомолекул к полимерному покрытию. Для приготовления водных растворов наночастиц, покрытых полимерной оболочкой, коллоидный раствор люминесцентных наночастиц добавлялся к буферному раствору с заданной величиной pH среды, в котором было растворено заданное количество полимера. Из полученных коллоидных растворов наночастицы с полимерной оболочкой отделялись центрифугированием при 3000 об/мин в течение 5 мин. Затем полученные образцы исследовались методами спектроскопии комбинационного рассеяния света (КРС) и ИК-спектроскопии. На рисунке 1 приведен ИК-спектр и спектр комбинационного рассеяния света полиэтиленгликоля.



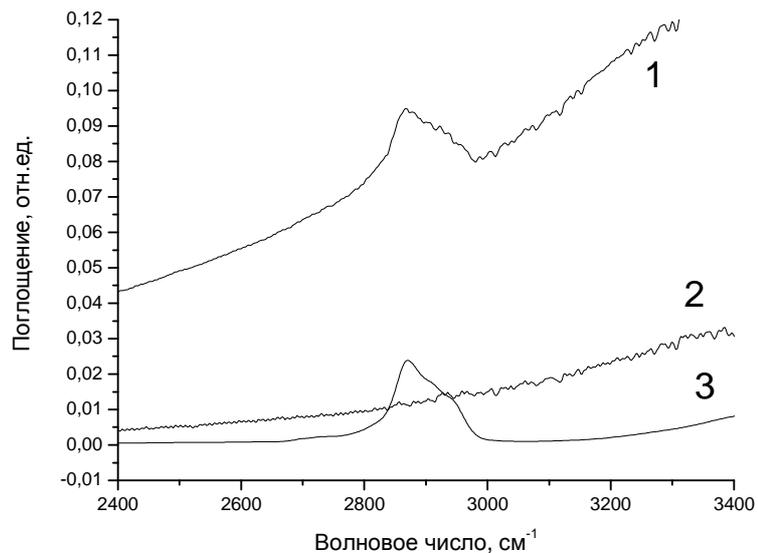
(а)



(б)

Рис. 1. ИК-спектр (а) и спектр КРС (б) полиэтиленгликоля

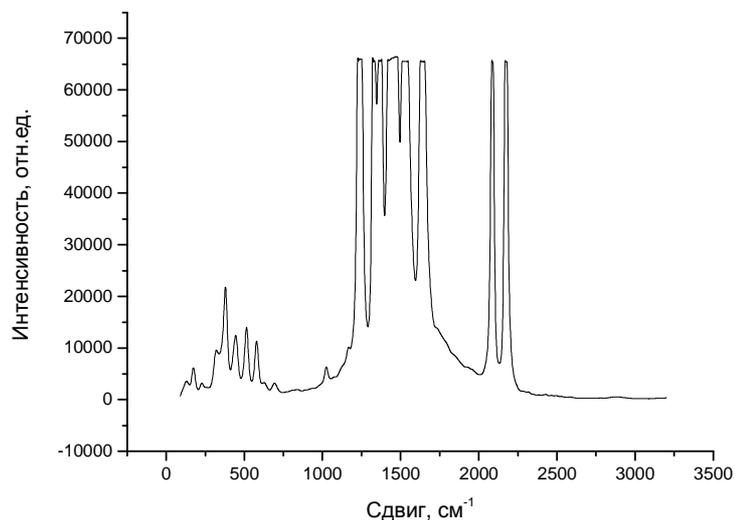
На спектре полиэтиленгликоля, представленном на рисунке 1 (а), можно выделить несколько характеристических полос, которые могут быть использованы для идентификации наличия данного полимера. Это полоса в области  $3450\text{ см}^{-1}$ , обусловленная наличием ОН-групп, полоса в области  $2870\text{ см}^{-1}$  ( $-\text{CH}_2-$ ); интенсивная полоса в области  $1116\text{ см}^{-1}$ , вызванная наличием эфирной группы  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ . На рисунке 1 (б) приведен спектр комбинационного рассеяния полиэтиленгликоля. В данном случае наблюдается корреляция в спектрах комбинационного рассеяния и ИК поглощения, однако происходит сильное перераспределение интенсивностей. На рисунке 2 приведены фрагменты спектров чистого полимера, наночастиц (1), исходных и прошедших обработку полимером.



*Рис. 2. Фрагменты ИК-спектров поглощения: PEG (кривая 3); исходных наночастиц YAG:Nd (кривая 2); наночастиц, обработанных PEG (кривая 1)*

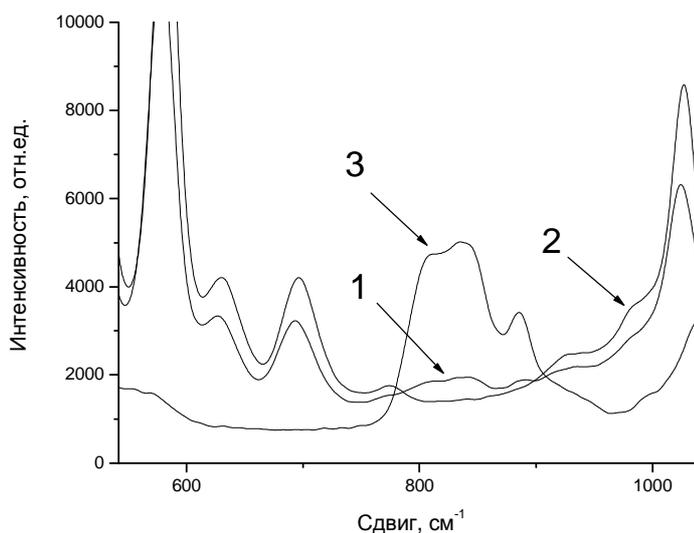
Как видно из рисунка 2, в спектре наночастиц, обработанных полимером, присутствует характерная для полимера полоса, которая отсутствует в исходных наночастицах, что подтверждает наличие полимерной оболочки на поверхности наночастиц.

На рисунке 3 приведен спектр КРС наночастиц алюмоиттриевого граната, допированного ионами неодима и обработанного полимером PEG.



*Рис. 3. Спектр КРС наночастиц YAG:Nd, обработанных PEG*

На рисунке 4 для сравнения приведены спектры КРС чистого PEG, наночастиц YAG:Nd, исходных и прошедших обработку полимером. Спектры приведены в увеличенном масштабе в области волновых чисел, характерных для полиэтиленгликоля.



*Рис. 4. Спектры КРС: PEG (кривая 3); исходных наночастиц YAG:Nd (кривая 2); наночастиц, обработанных PEG (кривая 1)*

На рисунке 4 видно, что в спектре наночастиц, обработанных полимером, присутствует характерная для полимера полоса, которая отсутствует в исходных наночастицах, что подтверждает наличие полимерной оболочки на поверхности наночастиц.

#### **Вывод**

Проведенное исследование позволяет сделать выводы, что люминесцентные наночастицы покрываются слоем полимера PEG, достаточным для детектирования его методами колебательной спектроскопии (ИК поглощение, комбинационное рассеяние). Таким образом, данное исследование экспериментально показало возможность покрытия создаваемых наночастиц полимерными оболочками с функциональными группами, позволяющими присоединение аминокислотных групп биомолекул к полимерному покрытию.

Экспериментальные исследования проведены в ресурсных центрах СПбГУ «Оптические и лазерные методы исследования вещества» и «Междисциплинарном Ресурсном Центре по направлению “Нанотехнологии”»

*Работа поддержана грантом РФФИ № мол\_а 14-02-31031 и Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (программа УМНИК) №3576ГУ1/2014.*

#### **Список литературы**

- 1 Домброу, Б. А. Полиуретаны / Б. А. Домброу. – М.: Государственное научно-техническое издательство химической литературы, 1951. – 154 с.
- 2 Activated polyoxazolines and compositions comprising the same / J. M. Harris, M. D. Bentley, K. Yoon, Z. Fang, F. M. Veronese // patent USA № 7943141. – 17.03.2011

3. Hoogenboom, R. Tuning the LCST of poly(2-oxazolines) by varying composition and molecular weight: alternatives to poly(N-isopropylacrylamide)? / R. Hoogenboom, H. M. L. Thijs, M. Jochems, B. M. van Lankvelt, M. Fijten, U. S. Schubert // Chem. Commun. – 2008. – Vol. 44. – P. 5758–5760.

4 Hsiue, G. H. Nonviral gene carriers based on diblock copolymers of poly(2-ethyl-2-oxazoline) and linear polyethylenimine / G. H. Hsiue, H. Z. Chiang, C. H. Wang, T. M. Juang // Bioconj. Chem. – 2006. – Vol. 17. – P. 781–786.

5 Sauer, M. Ion-carrier controlled precipitation of calcium phosphate in giant ABA triblock copolymer vesicles / M. Sauer, T. Haefele, A. Graff, C. Nardin, W. Meier. // Chem. Commun. – 2001. – Vol. 23. – P. 2452–2453.

**Рецензенты:**

Соколов И.А., д.х.н., профессор, заведующий кафедрой «Общая и неорганическая химия» института Metallургии, машиностроения и транспорта Санкт-Петербургского политехнического университета имени Петра Великого, г. Санкт Петербург;

Михайлов М.Д., д.х.н., профессор, заместитель генерального директора по науке ОАО «Научно-исследовательский и технологический институт Оптического материаловедения Всероссийского научного центра “ГОИ им. С.И. Вавилова”» (ОАО «НИТИОМ ВНИЦ «ГОИ им. С.И. Вавилова») , г. Санкт Петербург.