

## Нанобиотехнологии и медицина (студенты, аспиранты, молодые ученые).

### Задача 12\* «Все о ГЭКЭР» (повышенной сложности).

После открытия эффекта гигантского комбинационного рассеяния (ГКР, англ. Surface-enhanced Raman scattering) и быстрого развития спектроскопии ГКР многие исследователи стали говорить о том, что в ближайшем будущем станет возможным изучение одиночных молекул в составе живых клеток. Тем не менее, применение спектроскопии ГКР для исследования изолированных макромолекул или молекул в составе живых клеток усложнено рядом особенностей метода ГКР, а именно:

1. Коэффициент усиления сигнала КР от исследуемых молекул не всегда повторяется от эксперимента к эксперименту при использовании коллоидных растворов, приготовленных по одному способу, но в разное время;
2. Коллоидные растворы золота или серебра, приготовленные различными способами, могут по-разному усиливать полосы спектра КР исследуемых молекул, в результате чего получаемые спектры ГКР одних и тех же молекул отличаются друг от друга.
3. Спектр ГКР молекулы, попадающей между несколькими наночастицами (так называемая “горячая точка” - hot spot) отличается от спектра ГКР той же самой молекулы, находящейся на поверхности только одной частицы;
4. Изменение ориентации молекулы относительно наночастицы может привести к изменению спектра ГКР.

Вопрос:

1. Чем объясняются перечисленные выше особенности спектроскопии ГКР (**по 2 балла** за правильный ответ на каждый пункт)?
2. Какие наночастицы по размерам и форме будут давать наибольшее усиление КР молекул и почему (**2 балла**)?
3. Как проверить, что приготовленные наночастицы будут усиливать сигнал КР исследуемых молекул при известной длине волны возбуждения (**1 балл**)?
4. Какие наночастицы, по Вашему мнению, лучше использовать при работе с живыми клетками? (**1 балл**)
5. Представьте, что исследуемые Вами клетки поглотили наночастицы и Вы зарегистрировали отличающиеся спектры ГКР от разных участков клетки. Опишите анализ полученных спектров ГКР. Как Вы докажете, что наблюдаемые отличия в спектрах ГКР связаны со свойствами клетки, а не являются артефактами, вызванными различной агрегацией наночастиц в разных участках клетки или разной ориентацией молекул относительно наночастиц (**3 балла**)?

Известно, что методическими ограничениями спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) в клеточной биологии, биофизике и биохимии являются низкие концентрации исследуемых молекул и/или клеток, а также возможное повреждающее действие лазера на объект. Таким образом, важной задачей становится использование методов, позволяющих исследовать свойства молекул, изолированных или находящихся в клетках, при низких концентрациях и неповреждающих мощностях лазеров. Вы задумали использовать SERS в биологическом эксперименте.

1. Укажите, какими характеристиками (элементарный состав, размер, форма, покрытие и т.д.) должны обладать наночастицы благородных металлов для того, чтобы можно было зарегистрировать сигнал SERS от основных компонентов живой клетки (белков, липидов, углеводов и нуклеиновых кислот). При каких условиях можно получить максимальное усиление сигнала КР? (**3 балла**)
2. Вы получили коллоидный раствор наночастиц серебра или золота. Непосредственное добавление коллоидного раствора к клеткам или раствору исследуемых ферментов приведет к существенному изменению ионного состава

- среды и как следствие, вызовет изменение функционального состояния клеток и ферментов. Как можно избежать негативного действия коллоидного раствора на исследуемый объект без уменьшения усиления сигнала КР? (2 балла)
3. Вы получили нужные наночастицы и приступаете к исследованию. Ваш объект – культура клеток, обладающих активным эндоцитозом. Первая задача: на живых интактных клетках с применением полученных наночастиц исследовать конформацию и свойства порфирин-содержащих белков дыхательной цепи митохондрий в присутствии и отсутствии блокаторов дыхательной цепи. В Вашем распоряжении – КР-микроскоп с конфокальной системой и с характеристиками по Вашему выбору. Детально опишите постановку, условия и ход эксперимента, а также трактовку полученных результатов. (2 балла) Как определить, что при исследовании клетки остались живыми и их свойства не изменились? (1 балл) Вторая задача – с использованием оптимальных наночастиц наиболее широко охарактеризовать все процессы в клетках, индуцированные неким внешним воздействием. Опишите для обеих задач, какие наночастицы следует использовать. (2 балла)
4. Какие еще типы биосенсоров, содержащих наночастицы, можно сделать (2 балла)?

#### **Методические замечания:**

1. Задача решается в рамках базовых знаний и здравого смысла
2. Вопросы можно задать в специальном разделе форума <http://www.nanometer.ru/forum/viewforum.php?f=19> или найти ответ самостоятельно (в том числе изучив доступные Вам Лекции на сайте Олимпиады <http://www.nanometer.ru/lectures.html?UP=156195> )
3. Решение оформляется и отсылается только в электронном виде, как описано в инструкциях к работе с задачами и решениями заочного теоретического тура, приведенных в разделе «Олимпиада» [http://www.nanometer.ru/olymp2\\_o4.html](http://www.nanometer.ru/olymp2_o4.html)
4. Подписывать решения не надо, Ваша фамилия, имя и отчество будут зашифрованы при проверке, идентификация для системы проверки производится по логину и паролю, который Вы вводите при входе на сайт Олимпиады [www.nanometer.ru](http://www.nanometer.ru) в качестве участника (этот пароль Вы задавали при регистрации и заполнении анкеты участника).