

УДК 621.315.592

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА С БЫЧЬИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ

В. И. Красовский, И. А. Наговицын, Г. К. Чудинова,
В. В. Савранский, В. А. Караванский

Исследовано взаимодействие наноразмерных частиц золота и бычьего сывороточного альбумина (БСА) в водных растворах. Показано образование ассоциатов наночастица-БСА, что выражается в bathochromном смещении на 5–6 нм полосы поверхностного плазмонного резонанса (ППР) в спектре поглощения. Результаты аппроксимированы с помощью модели Друде для металлических сфер, рассчитаны толщина диэлектрической (белковой) оболочки наночастицы, ее диэлектрическая проницаемость (показатель преломления).

В литературе последних лет постулируется необходимость уделять особое внимание проблемам воздействия наночастиц на здоровье человека, определению их физиологического действия и их токсичности, однако количество работ, посвященных этим вопросам, крайне незначительно [1, 2]. При исследовании физиологического действия наноразмерных частиц необходимо понимание механизмов их взаимодействия с биологическими макромолекулами. Целью настоящей работы является исследование взаимодействия БСА и водного коллоидного раствора наночастиц золота.

Сывороточный альбумин – основной белок плазмы крови, состоящий из 580 аминокислотных остатков, которые участвуют в транспорте веществ, плохо растворимых в воде, в том числе лекарственных препаратов, таких как сульфонамиды, аспирин, пенициллин [3]. Известно, что альбумин связывает также и наноразмерные частицы, способствуя их транспорту через клетки [3, 4].

Ярко выраженной особенностью наноразмерных частиц благородных металлов является наличие полосы ППР в видимой области спектра поглощения коллоидного раствора. Высокая эффективность возбуждения поверхностных плазмонных волн (ППВ) на

поверхности наночастиц золота дает возможность их использования при создании биосенсоров, в том числе, и с использованием сывороточного альбумина [5, 6], а также в медицинской фототермальной терапии [7]. Однако проведенный нами литературный поиск показал отсутствие работ, посвященных детальному исследованию эффективности возбуждения ППВ в комплексах коллоидного золота и сывороточного альбумина. Представленные в настоящей работе исследования могут быть полезны как для понимания физиологической активности наночастиц, так и в прикладной области, для разработки биосенсоров.

Материалы и методы. Наночастицы золота формировались методом лазерной абляции в жидкости. Использовался Nd лазер с длиной волны 1.06 мкм, энергией 300 мДж и длительностью импульса 350 пс, с частотой повторения 50 Гц. Разделение наночастиц по размерам осуществлялось центрифугированием со скоростью 1, 2 и 3 тыс. об/мин для образцов 1, 2 и 3, соответственно. Водный раствор БСА (10^{-5} М) смешивался с водным коллоидом наночастиц золота в объемном соотношении 1:1 (Образцы 1А-3А, соответственно). В течение недели агрегации и седиментации в спектрах оптического поглощения не наблюдалось. Спектры оптического поглощения регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-250 (Япония).

Результаты и обсуждение. Спектры поглощения исходных коллоидов наночастиц и их смеси с БСА представлены на рис. 1. Область в спектре поглощения, выделенная пунктирной линией, моделировалась моделью Друде для металлических шаров [8], в которой размер частиц учитывается через увеличение частоты столкновения электронов. Спектры поглощения в рамках данной модели определяются выражением:

$$\alpha(\omega) = 9 \cdot \frac{p \cdot \omega \cdot \varepsilon^{3/2}}{c} \cdot \frac{\varepsilon_m''(\omega)}{(\varepsilon_m'(\omega) + 2\varepsilon)^2 + (\varepsilon_m''(\omega))^2}, \quad (1)$$

где $\varepsilon_m(\omega) = \varepsilon_m^\infty(\omega) - \frac{\omega_p^2}{\omega(\omega + i\omega_\tau)} = \varepsilon_m' + i\varepsilon_m''$ – диэлектрическая проницаемость металла;

ω_p – плазменная частота, равная для золота $1.39 \times 10^{16} \text{ с}^{-1}$; $\varepsilon_m^\infty(\omega) = 13.8$; $\omega_\tau = \frac{v_f}{l_e} + \frac{2v_f}{R}$ – частота электронных столкновений; ε – диэлектрическая проницаемость окружающей среды; p – объемная доля металла в композите; $v_f = 1.7 \times 10^6 \text{ мс}^{-1}$ – скорость Ферми для золота; $l_e = 42 \text{ нм}$ – длина свободного пробега электрона для объемного золота; R – радиус наночастицы; λ – длина волны и c – скорость света в вакууме. Кривые 1–3 в выделенной области аппроксимировались выражением (1), при этом подгоночными параметрами в этой модели являлись концентрация наночастиц p , показатель преломления

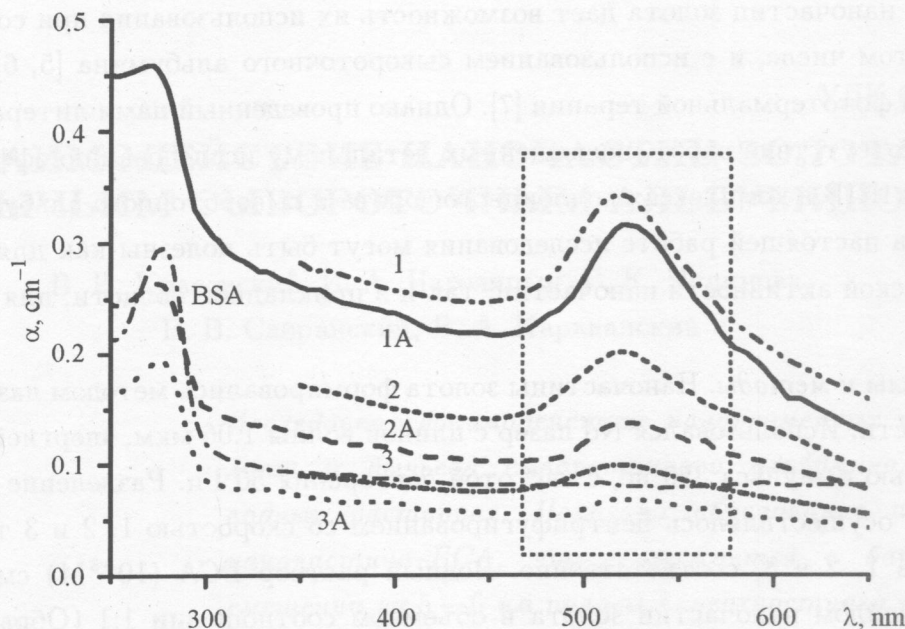


Рис. 1. Спектры поглощения исходных коллоидов (1,2,3), комплексов золото-БСА (1А, 2А, 3А) и раствора БСА. Пунктиром выделена область, по которой производилась аппроксимация.

окружающей среды $\sqrt{\epsilon}$ и радиус наночастицы R .

Благодаря высокой локализации плазменных колебаний электрического поля изменение параметра плазменного колебания может произойти только при очень тесном контакте наночастицы и молекул БСА. Так, наблюдаемый сдвиг положения пика плазменных колебаний в спектре поглощения смеси растворов наночастиц и БСА по сравнению со спектром коллоида наночастиц золота свидетельствует об образовании ассоциатов наночастица-БСА.

Для определения толщины белковой оболочки a и ее диэлектрической проницаемости ϵ_s (показателя преломления n_s) использовалась модель для металлических частиц с диэлектрической оболочкой [9]:

$$\alpha(\omega) = \frac{9p \cdot \omega \cdot \epsilon^{3/2}}{c} \text{Im} \left[\frac{(\epsilon_s - \epsilon)(\epsilon_m(\omega) + 2\epsilon_s) + R(R+a)^{-1}(\epsilon_m(\omega) - \epsilon_s)(\epsilon + 2\epsilon_s)}{(\epsilon_s + 2\epsilon)(\epsilon_m(\omega) + 2\epsilon_s) - R(R+a)^{-1}(\epsilon_m(\omega) - \epsilon_s)(\epsilon - 2\epsilon_s)} \right], \quad (2)$$

где a – толщина оболочки, ϵ_s – диэлектрическая проницаемость оболочки. Результаты аппроксимации представлены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

Полученные параметры наночастиц золота и ассоциатов наночастица-БСА

Образец	λ_0 , нм	R , нм	a , нм	p , см ⁻³	$\epsilon_0(n_0)$	$\epsilon_s(n_s)$
1	518 ± 1	2.96 ± 0.5		6 × 10 ⁻⁶	1.779(1.334) ± 0.005	
1А	521 ± 1	2.93 ± 0.5	28.9 ± 5	3.8 × 10 ⁻⁶	1.779(1.334)	1.947(1.395) ± 0.005
2	518 ± 1	2.66 ± 0.5		1.7 × 10 ⁻⁶	1.779(1.334) ± 0.005	
2А	521 ± 1	2.53 ± 0.5	20.7 ± 5	8.7 × 10 ⁻⁷	1.779(1.334)	1.972(1.404) ± 0.005
3	518 ± 1	2.39 ± 0.5		1.04 × 10 ⁻⁶	1.779(1.334) ± 0.005	
3А	525 ± 1	2.36 ± 0.5	18.9 ± 5	5.13 × 10 ⁻⁷	1.779(1.334)	1.938(1.392) ± 0.005

Максимум полос поглощения во всех трех образцах растворов наночастиц золота находится в области 518 нм. Взаимодействие наночастиц золота с молекулами БСА приводит к батохромному сдвигу полосы поглощения ППР на 5–6 нм и может быть интерпретировано как образование эффективной диэлектрической оболочки с показателем преломления $n_s \sim 1.4$ и толщиной $a \sim 19–29$ нм, при этом практически все наночастицы золота находятся во взаимодействии с молекулами БСА. Максимумы полос поглощения в УФ-диапазоне в растворах смеси (образцы 1А и 2А) сдвинуты гипсохромно, на 8 и 4 нм соответственно, по сравнению с максимумом полосы поглощения в однокомпонентном растворе БСА (рис. 2), тогда как максимум в УФ-спектре двухкомпонентного образца 3А располагается практически в том же месте (278 нм), что и максимум в спектре БСА. В случае образцов 1А и 3А форма спектра близка к таковой для образца 2А (рис. 2).

Структура сывороточного альбумина на данный момент хорошо изучена. Рентгеноструктурный анализ показывает, что молекула сывороточного альбумина человека (очень близкого по структуре к БСА) напоминает треугольную призму размерами $80 \times 80 \times 80 \times 30$ Å с двумя гидрофобными полостями 20–30 Å. Показатель преломления БСА составляет 1.445 [10]. Меньшее значение показателя преломления эффективной диэлектрической оболочки (~ 1.4), по-видимому, объясняется тем, что концентрация БСА недостаточна для того, чтобы обеспечить тесный контакт белка со всей поверхностью наночастицы. Так как размеры БСА и наночастиц сравнимы (табл. 1), следует ис-

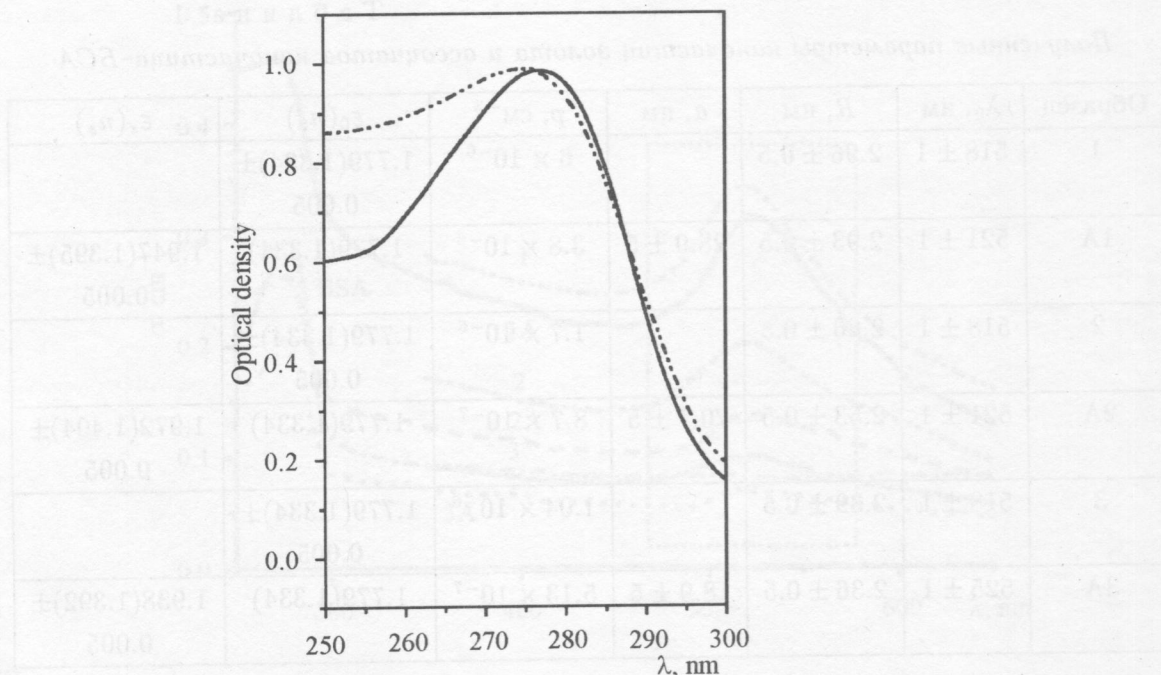


Рис. 2. Приведенные к единице спектры поглощения раствора БСА ($10^{-5} M$) (сплошная линия) и смеси растворов БСА и наночастиц золота в объемном соотношении 1:1 (образец 2А, пунктир).

ключить из рассмотрения встраивание наночастиц в гидрофобные полости БСА (этот эффект известен для красителей [11–13]). Можно предположить, что в образовании ассоциатов наночастица–БСА основную роль играют слабые дисперсионные электростатические и вандерваальсовские взаимодействия, однако этот вопрос нуждается в более детальном исследовании.

Таким образом, исследовано взаимодействие бычьего сывороточного альбумина и наночастиц золота в водных растворах. Образование ассоциатов наночастица–БСА приводит к сдвигу максимума плазмонного резонанса на 5–6 нм в область более длинных волн. С помощью модели Друде была оценена эффективная толщина диэлектрической оболочки БСА, образованной при его взаимодействии с наноразмерными частицами золота. Полученные результаты могут быть использованы при обсуждении оптических и физико-химических свойств наночастиц *in vivo* и механизмов взаимодействия наноразмерных частиц благородных металлов с биологическими объектами.

Работа поддержана грантами РФФИ N 07-02-00160а и ведущей научной школы НШ-1007-2006-2.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] P. H. M., I. Brüske-Hohlfeld, and O. V. Salata, *J. Nanobiotechnology* **2**, 12 (2004).
- [2] G. Oberdorster, E. Oberdorster, and J. Oberdorster, *Environ. Health Perspect* **113**(7), 823 (2005); G. Oberdorster, A. Maynard, K. Donaldson, et. al., *Part. Fibre Toxicol.* **2**, 8 (2005).
- [3] А. Уайт, Ф. Хендлер, Э. Смит, и др., *Основы биохимии* **3**, 726 (1981) (Мир, М.) (A. White, P. Handler, E. L. Smith, R. L. Hill, I. R. Lehman "Principles of biochemistry", 6th ed. McGraw-Hill Book Co., New-York, 1978).
- [4] D. Mehta, J. Bhattacharya, M. A. Matthay, and A. B. Malik, *Cell Mol. Physiol.* **287**, L1081 (2004); K. Heckel, R. Kiefmann, M. Dorger, et al., *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **287**, L867 (2004).
- [5] J. Homola, S. S. Yee, G. and G. Gauglitz, *Sensor and Actuators B* **54**, 3 (1999); M. M. Malmquist, *Biochem. Soc. Trans.* **27**, 335 (1999).
- [6] Y. Long, L. Nie, J. Chen, and S. Yao, *J. Colloid Interface Sci.* **263**(1), 106 (2003); S. Liu, Z. Yang, Z. Liu, and L. Kong, *Anal. Biochem.* **353**(1), 108 (2006).
- [7] D. Pissuwan, S. M. Valenzuela, and M. B. Cortie, *Trends Biotechnol.* **24**(2), 62 (2006).
- [8] S. K. Mandal, R. K. Roy, and A. K. Pal, *Journal of Physics D (Applied Physics)*, **35**, 2196 (2002).
- [9] P. Englebienne, A. Hoonacker, and M. Verhas, *Spectroscopy* **17**, 255 (2003).
- [10] A. Tsargorodskaya, A. V. Nabok, and A. K. Ray, *Nanotechnology* **15**, 703 (2004).
- [11] И. А. Наговицын, Г. К. Чудинова, *ДАН* **382**(2), 267 (2002).
- [12] И. А. Наговицын, Г. К. Чудинова, В. В. Савранский, Г. Г. Комиссаров, *Краткие сообщения по физике ФИАН*, N 11, 19 (2003).
- [13] И. А. Наговицын, Г. К. Чудинова, В. В. Савранский, Г. Г. Комиссаров, *Биофизика* (2007, принята к печати).

Институт общей физики
им. А.М. Прохорова РАН

Поступила в редакцию 27 июля 2007 г.