



Получено: 28.10.2024 г. | Принято: 30.10.2024 г. | DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2024.17.7-8.476.481>

Научная статья

ТРЕХМЕРНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ВИРУСОВ, БАКТЕРИЙ И КЛЕТОК В ОБРАЗОВАТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ

А.И.Ахметова^{1,2}, к.ф.-м.н., науч. сотр., ORCID: 0000-0002-5115-8030

И.В.Яминский^{1,2}, д.ф.-м.н., проф., ген. дир., ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

Аннотация. Сканирующая зондовая микроскопия зарекомендовала себя как уникальный прибор для решения задач в области вирусологии, клеточной биологии, биомедицины, регенеративной медицины, материаловедения и микроэлектроники. Эти данные можно применять в научно-исследовательской деятельности; для преподавателей естественных наук в школе полезно расширять горизонт образовательной программы и показывать школьникам не только мир в оптическом микроскопе или в формулах на доске. Атомы, молекулы, белки, вирусы, бактерии и клетки можно увидеть или даже "пощупать" с помощью атомно-силового микроскопа, а это уже взгляд на нанообъекты под совершенно другим углом.

Ключевые слова: сканирующая капиллярная микроскопия, живая материя, биомеханика, тромбоциты, стволовые клетки

Для цитирования: А.И. Ахметова, И.В. Яминский. Трехмерная визуализация вирусов, бактерий и клеток в образовательном процессе. НАНОИНДУСТРИЯ. 2024. Т. 17. № 6. С. 476–481. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2024.17.7-8.476.481>.

Received: 28.10.2024 | Accepted: 30.10.2024 | DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2024.17.7-8.476.481>

Original paper

THREE-DIMENSIONAL VISUALIZATION OF VIRUSES, BACTERIA AND CELLS IN THE EDUCATIONAL PROCESS

A.I.Akhmetova^{1,2}, Researcher, Leading Specialist (ORCID: 0000-0002-5115-8030)

I.V.Yaminsky^{1,2}, Doct. of Sci. (Physics and Mathematics), Prof., Director, ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

Abstract. Scanning probe microscopy has proven itself as a unique device for solving problems in the field of virology, cell biology, biomedicine, regenerative medicine, materials science and microelectronics. This data can be used in scientific research, for teachers of natural sciences at school it is useful to expand the horizon of the educational program and show schoolchildren not only the world in an optical microscope or in formulas on the board. Atoms, molecules, proteins, viruses, bacteria and cells can be seen or even touched with an atomic force microscope, and this is a look at nanoobjects from a completely different angle.

Keywords: scanning capillary microscopy, living matter, biomechanics, platelets, stem cells

For citation: A.I. Akhmetova, I.V. Yaminsky. Three-dimensional visualization of viruses, bacteria and cells in the educational process. NANOINDUSTRY. 2024. Vol. 17. No. 7–8. PP. 476–481. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2024.17.7-8.476.481>.

¹ МГУ имени М.В.Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия / Lomonosov Moscow State University, Physical Department, Moscow, Russia

² ООО НПП "Центр перспективных технологий", Москва, Россия / Advanced Technologies Center, Moscow, Russia



ВВЕДЕНИЕ

Сканирующий зондовый микроскоп (СЗМ) – многозадачный прибор для исследования топографии и физико-химических свойств образцов с нанометровым разрешением. Благодаря трехмерной детализации в СЗМ возможно изучать белки, вирусы, бактерии, клетки с удивительной точностью и достоверностью, которые труднодостижимы в других методах исследования. Благодаря использованию ПО "ФемтоСкан Онлайн" обрабатывать эти данные способны даже школьники, что позволяет значительно разнообразить образовательный процесс в школе на занятиях по естественным наукам [1].

ВИРУСЫ

Например, с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) можно вполне безопасно исследовать вирус клещевого энцефалита. По данным АСМ, вирус расположился на поверхности графита плотным слоем, местами заметно наличие нескольких слоев частиц, но в размере кадра вирус вполне равномерно покрыл поверхность графита (рис.1).

Адсорбция вирусных частиц на подложках графита и слюды была оценена с помощью контактной АСМ. На поверхности слюды частицы не агрегируют и не слипаются. Вирусные частицы хорошо закрепляются на поверхности графита, даже после того как образец был промыт в 5 мл дистиллированной воды, частицы не были смыты с поверхности (рис.2). Вероятно, они частично удерживаются поверхностью графита и остаются на поверхности.

Также было проведено сканирование поверхности моно слоя вирусных частиц с разным приложенным значением силы: 10, 20 и 15 нН (рис.3). Перепад высот между значением силы в 20 и 10 нН составил почти 50 нм, что сопоставимо с диаметром частицы. Но при этом на изображении сами частицы не меняют форму, не появляются дополнительные артефакты.

По итогам проведенных измерений можно сказать, что частицы вируса клещевого энцефалита даже после инактивации остаются достаточно твердыми, при разной приложенной силе не деформируются, хорошо фиксируются на поверхности графита, не слипаются в плотные агломерации. При адсорбции на графит и слюду частицы ложатся равномерно, не агрегируют, при большой концентрации вирусные частицы стремятся расположиться слоями.

БАКТЕРИИ

Бактериальные клетки – излюбленный объект исследования в СЗМ. Хорошо подготовленный

INTRODUCTION

The scanning probe microscope (SPM) is a multitasking instrument for studying topography and physicochemical properties of samples with nanometre resolution. Due to the three-dimensional detail of SPM, it is possible to study proteins, viruses, bacteria, and cells with amazing precision and accuracy that is difficult to achieve in other research methods. Thanks to the use of FemtoScan Online software, even schoolchildren are able to process these data, which makes it possible to significantly diversify the educational process at school during science classes [1].

VIRUSES

For example, atomic force microscopy (AFM) can be used to examine tick-borne encephalitis virus quite safely. According to AFM data, the virus is located on the graphite surface in a dense layer, in some places presence of several layers of particles is noticeable, but in the frame size the virus covered the graphite surface quite uniformly (Fig.1).

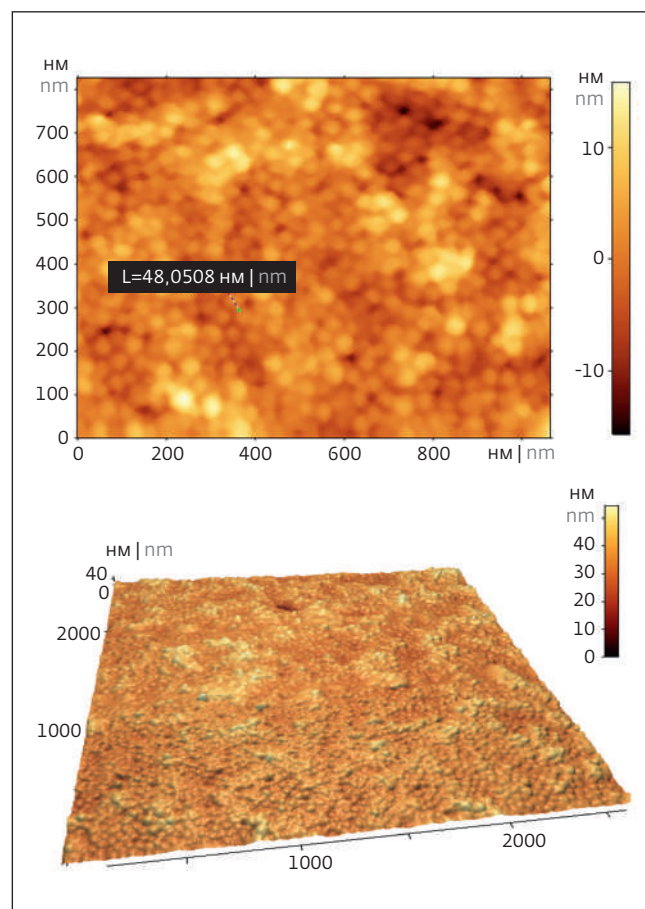


Рис.1. а – 2D; б – 3D-АСМ-изображение вируса клещевого энцефалита на поверхности графита

Fig.1. a – 2D; b – 3D-AFM image of tick-borne encephalitis virus on graphite surface

образец позволяет детально визуализировать клеточную стенку, а также оценить влияние биоцидных веществ на характер адсорбции на подложки. Например, при исследовании образца *Pseudomonas aeruginosa* можно оценить высоту бактерии, склонность собираться группами на подложке или оценить биоцидное действие дезинфектанта на колонию клеток. В данном случае в качестве такого вещества выступил олигогексаметиленгуанидин (ОГМГ), полимерный биоцид широкого спектра действия, подавляющий развитие различных бактерий и грибов, а также препятствующий образованию биопленок [2]. *Pseudomonas aeruginosa* – это грамотрицательные, прямые палочки размером 1–3 мкм, не образующие спор. Форма бактерий вытянутая, в образце преимущественно округлая. Бактерии в контрольном образце представлены в основном колониями или плотными небольшими группами (рис.4).

После воздействия на колонию бактерий дезинфектанта на кадре встречаются в основном одиночные объекты, но при этом структурных повреждений клеточных стенок нет (рис.5).

КЛЕТКИ КРОВИ

С помощью атомно-силовой микроскопии можно исследовать физические свойства и морфологию эритроцитов.

Характерный профиль поверхности эритроцита представлен на рис.6. Это форма двояковогнутого диска. По сечению можно даже померить глубину впадины эритроцита, а также визуально оценить морфологию клеток для данного кадра. Мы видим в поле зрения только классическую форму эритроцитов: нет ни сфероцитов, ни эхиноцитов, ни акантоцитов.

По данным атомно-силовой микроскопии можно измерить параметры каждой клетки: среднюю высоту, максимальную высоту, средний диаметр, среднюю и среднеквадратичную шероховатость области клетки, периметр и объем [3–5].

Все эти данные могут помогать как в образовательном процессе при исследовании клеток крови, так и быть полезными для медицинских целей в диагностике.

ВЫВОДЫ

Сканирующая зондовая микроскопия дает множество новых преимуществ в исследовании биологических объектов: вирусов, бактерий, клеток. С помощью данных, полученных на атомно-силовом микроскопе, можно решать различные задачи, полезные для освоения будущей

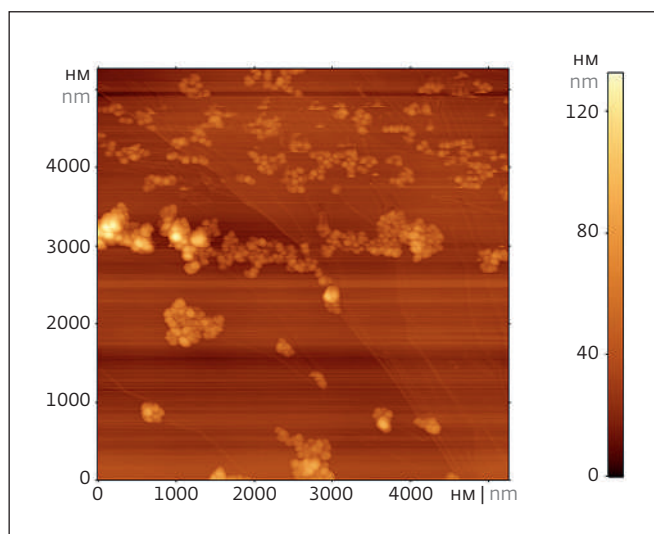


Рис.2. Вирусные частицы клещевого энцефалита на поверхности графита

Fig.2. Viral particles of tick-borne encephalitis on the graphite surface

Adsorption of virus particles on graphite and mica substrates was evaluated by contact AFM. The particles do not agglomerate or stick together on the mica surface. Viral particles are well anchored on the graphite surface, even after the sample was washed with 5 ml distilled water, the particles were not washed off the surface (Fig.2). Probably, they are partially retained by the graphite layers and remain on the surface.

We also scanned the viral particles monolayer surface with different applied force values: 10 nN, 20 nN, 15 nN (Fig.3). The height difference between the force value of 20 nN and 10 nN was almost 50 nm, which is comparable to the particle diameter. But at the same time, the particles themselves do not change their shape on the image, and no additional artefacts appear.

According to the results of the measurements we can say that the particles of tick-borne encephalitis virus even after inactivation remain quite hard, they are not deformed under different applied force, they are well fixed on the graphite surface, and they do not stick together in dense agglomerations. At adsorption on graphite and mica the particles lie down uniformly, do not aggregate, at high concentration viral particles tend to arrange themselves in a uniform layer.

BACTERIES

Bacterial cells are a favourite object to study using SPM. A well-prepared sample allows detailed visualisation of the cell wall, as well as evaluation of influence of biocidal substances on the nature of

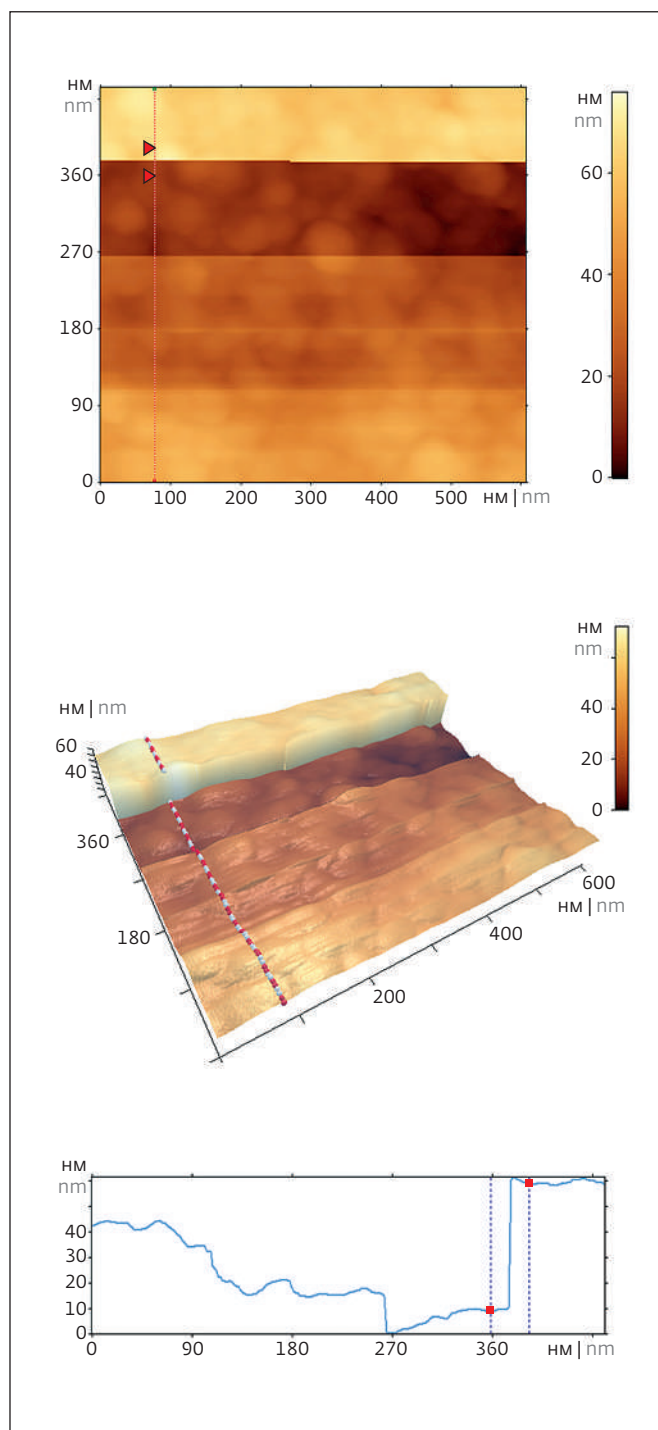


Рис.3. Изображение вируса клещевого энцефалита, полученное с разным значением приложенной силы. Вверху слева 2D-вид, вверху справа 3D-изображение, бело-красной пунктирной линией показано сечение. Перепад высот составил почти 50 нм между сканированием с силой 10 и 20 нН

Fig.3. Image of tick-borne encephalitis virus obtained with different values of applied force. Top left 2D view, top right 3D image, white-red dashed line shows the cross-section. The height difference was almost 50 nm between the 10 and 20 nN force scans

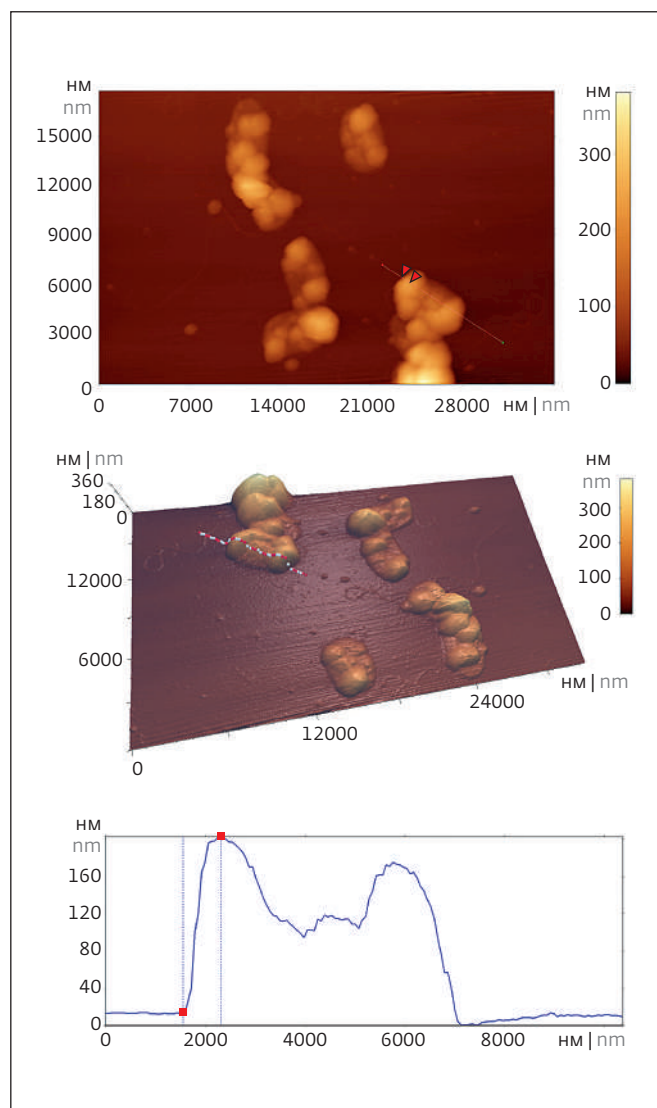


Рис.4. *Pseudomonas aeruginosa*. Контрольный образец. Слева вверху 2D-вид, справа вверху 3D-изображение. По данным сечения высота клетки около 190 нм

Fig.4. *Pseudomonas aeruginosa*. Reference sample. Top left 2D view, top right 3D view. According to the cross-sectional data, the cell height is about 190 nm

adsorption onto substrates. For example, when examining a sample of *Pseudomonas aeruginosa*, it is possible to assess the height of the bacterium, tendency to cluster on a substrate, or to evaluate the biocidal effect of a disinfectant on a cells colony. In this case, such a substance was oligohexamethylene-guanidine (OHMG), a broad-spectrum polymeric biocide that inhibits the various bacteria development of and fungi and prevents formation of bio-films [2]. *Pseudomonas aeruginosa* are Gram-negative, erect bacilli 1-3 μm in size and do not form spores. The shape of the bacteria is elongated, in the sample

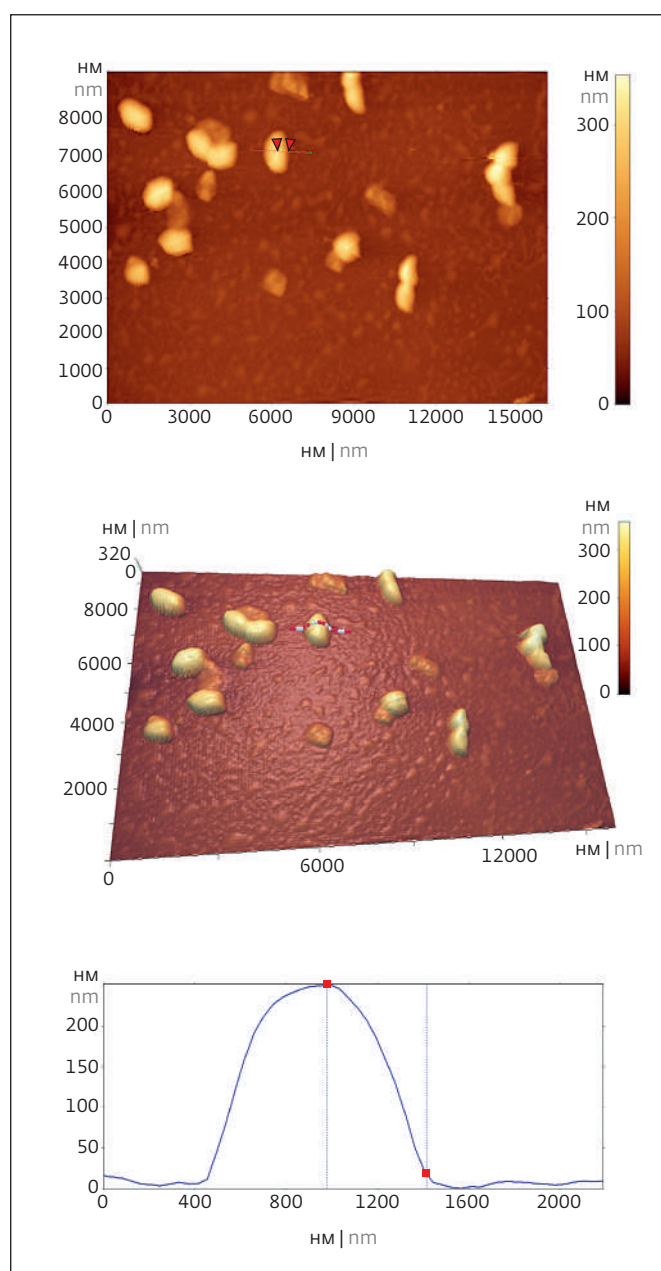


Рис.5. *Pseudomonas aeruginosa* после воздействия ОГМГ. Слева сверху 2D-вид, справа сверху 3D-изображение. По данным сечения высота около 230 нм

Fig.5. *Pseudomonas aeruginosa* after exposure to OHMG. Top left 2D view, top right 3D view. According to the cross-section data, the height is about 230 nm

профессии экспериментатора. Трехмерная визуализация позволяет лучше понимать строение объектов, их поведение на подложке, характер влияния биоцидных веществ на клетки и др. Сканирующая зондовая микроскопия может использоваться как дополнительный инструмент в образовательном процессе и как важный

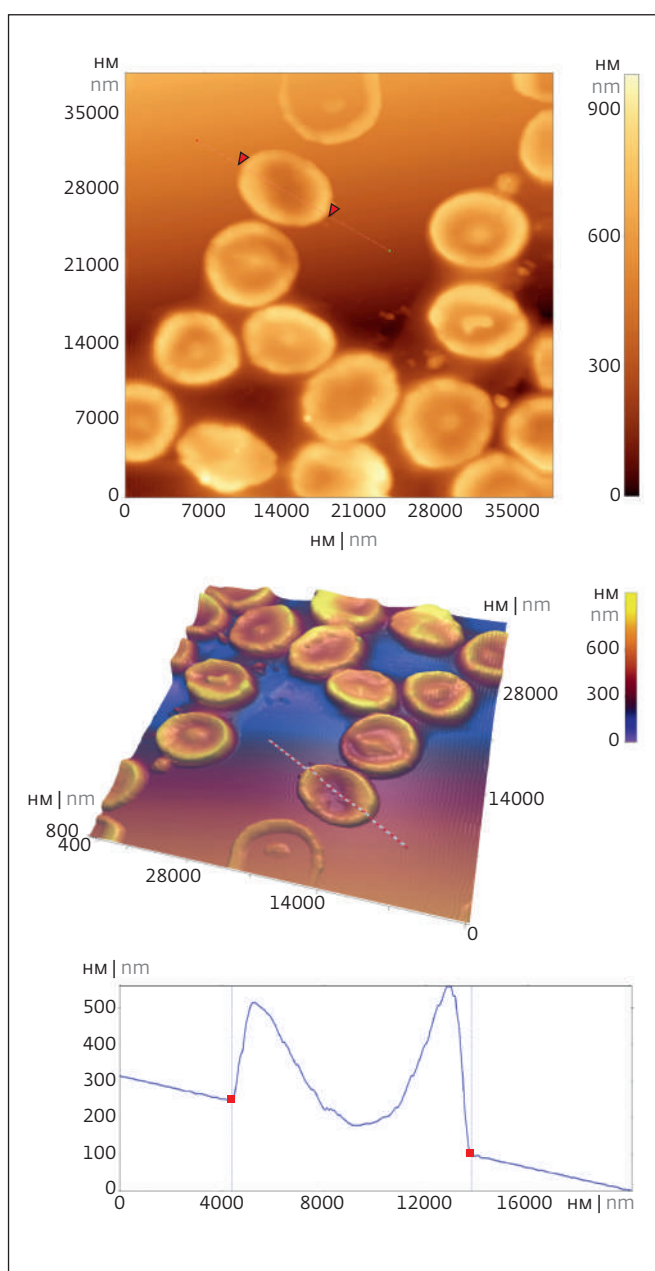


Рис.6. Изображение клеток крови. 2D-вид, 3D-изображение и сечение. По данным сечения диаметр эритроцита около 9,5 мкм

Fig.6. Blood cell imaging. 2D view, 3D image and cross section. According to the cross-sectional data, the diameter of an erythrocyte is about 9.5 μm

predominantly rounded. The bacteria in the control sample are represented mainly by colonies or dense small groups (Fig.4).

After exposure of the bacterial colony to the disinfectant, mostly single objects are found in the frame, but there is no structural damage to the cell walls (Fig.5).



индикатор в биомедицинских приложениях. В рамках курса по изучению сканирующей зондовой микроскопии на физическом факультете МГУ имени М.В.Ломоносова предусмотрен широкий набор оборудования, обучающих программ и презентаций для экспериментального изучения наноскопии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена по госзаданию при финансовой поддержке физического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова (Регистрационная тема 122091200048-7). ПО "ФемтоСкан Онлайн" предоставлено ООО НПП "Центр перспективных технологий", www.nanoscopy.ru. Изображение стволовых клеток получено Т. Советниковым.

ИНФОРМАЦИЯ О РЕЦЕНЗИРОВАНИИ

Редакция благодарит анонимного рецензента (рецензентов) за их вклад в рецензирование этой работы, а также за размещение статей на сайте журнала и передачу их в электронном виде в НЭБ eLIBRARY.RU.

Декларация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Akhmetova A.I., Sovetnikov T.O., Obolenskaya L.N., Yaminsky I.V. FemtoScan Online in Scientific and Educational Activities: Count, Measure, and Visualize. NANOINDUSTRY. 2024. Vol. 17. No. 6. PP. 392–398. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2024.17.6.392.398>
2. Vointseva I.I., Gembitskiy P.A. Polyguanidines – disinfectants and multifunctional additives in composite materials. Moscow, LKM-press, 2009. P. 303.
3. Sovetnikov T.O., Akhmetova A.I., Gukasov V.M., Evtushenko G.S., Rybakov Y.L., Yaminskiy I.V. Scanning probe microscopy in assessing blood cells roughness. Bio-Medical Engineering. 2023. <https://doi.org/10.1007/s10527-023-10253-3>
4. Trukhova A.A., Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. Visualization of erythrocytes by atomic force microscopy. NANOINDUSTRY. 2023. Vol. 16. No. 3–4. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2023.16.3-4.180.184>
5. Sinitsyna O.V., Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. Atomic force microscopy of erythrocytes: new diagnostic possibilities. Medicine and High Technologies. 2022. Vol. 1. PP. 9–12. <https://doi.org/10.34219/2306-3645-2022-12-1-9-12>

BLOOD CELLS

Atomic force microscopy can be used to examine the physical properties and morphology of red blood cells.

The characteristic profile of the erythrocyte surface is shown in Fig.6. It is the shape of a biconcave disc. From the cross-section it is even possible to measure the depth of the erythrocyte depression, as well as to visually assess cell morphology for a given frame. We see only the classical erythrocyte shape in the field of view, there are no spherocytes, echinocytes, or acanthocytes.

From atomic force microscopy data, the parameters of each cell can be measured: mean height, maximum height, mean diameter, mean and RMS roughness of the cell area, perimeter and volume [3–5].

All these data can help both in the educational process in blood cell research and be useful for medical purposes in diagnosis.

CONCLUSIONS

Scanning probe microscopy provides many new advantages in the study of biological objects: viruses, bacteria, cells. With the help of data obtained on the atomic force microscope, it is possible to solve various tasks useful for mastering the future profession of an experimentalist. Three-dimensional visualisation allows to better understand the objects structure, their behaviour on the substrate, and the nature of the effect of biocidal substances on cells and others.

Scanning probe microscopy can be used as an additional tool in the educational process and as an important indicator in biomedical applications. The Scanning Probe Microscopy course at the Physical Department of Lomonosov Moscow State University provides a wide range of equipment, training programmes and presentations for the experimental study of nanoscopy.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was performed under the state order with the financial support of the Physical Department of Lomonosov Moscow State University (Registration subject 122091200048-7). FemtoScan Online software is provided by Advanced Technologies Center, www.femtoscanner.ru. Image of stem cells was obtained by T. Sovetnikov.

PEER REVIEW INFO

Editorial board thanks the anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work. It is also grateful for their consent to publish papers on the journal's website and SEL eLibrary eLIBRARY.RU.

Declaration of Competing Interest. The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.