

НАБЛЮДАЯ ЗА "ЖИЗНЬЮ" НАНОЧАСТИЦ

Е.Евтушенко¹
e.evtoochenko@gmail.com

Броуновское движение – один из скрытых "двигателей" наносистем, предстает во всей динамической красе в методе анализа траекторий движения наночастиц (Nanoparticle Tracking Analysis, NTA). Он являет собой редкое сочетание наглядности и высокой научной значимости результатов. Измерение размера, концентрации и дзета-потенциала наночастиц в коллоидных растворах, изучение флуоресцирующих наночастиц и многое другое – для серьезных исследователей. Возможность совершить увлекательную экскурсию в наномир – для молодых и любознательных.

Знакомство с любым прибором начинается с его внешнего вида. Nanosight LM10 (рис.1), базовая модель в семействе приборов для анализа траекторий движения наночастиц, похож на обычный бинокулярный микроскоп. Вместо образца на предметном столике – жидкостная ячейка.

Набираем в шприц коллоидный раствор золотых наночастиц, плавно вводим образец в измерительную ячейку и включаем лазер. Несколько секунд глаза привыкают к бинокулярам, и после регулировки резкости в луче появляются сотни ярких движущихся точек. Это

подсвеченные лазером наночастицы (рис.2). Переключение сигнала с бинокуляра на высокочувствительную видеокамеру и увеличенное изображение транслируется на монитор. Мелкие частицы появляются на несколько секунд и шустро "убегают" из поля зрения, сменяясь другими, приходящими из окружающего раствора. В противоположность им крупные частицы двигаются медленно и "неторопливо". Девиз компании Nanosight "Seeing is

believing" можно перевести как "Увидеть – значит поверить". Наблюдая за броуновским движением отдельных наночастиц, приходишь к пониманию фундаментальной динамической хаотичности наномира.

Достаточно нажатия одной кнопки, и программа начинает выделять центры наночастиц, прорисовывать траектории и, используя соотношение Стокса-Эйнштейна, рассчитывать из них размер каждой наблюдаемой частицы (рис.3).



Рис.1. Nanosight LM10

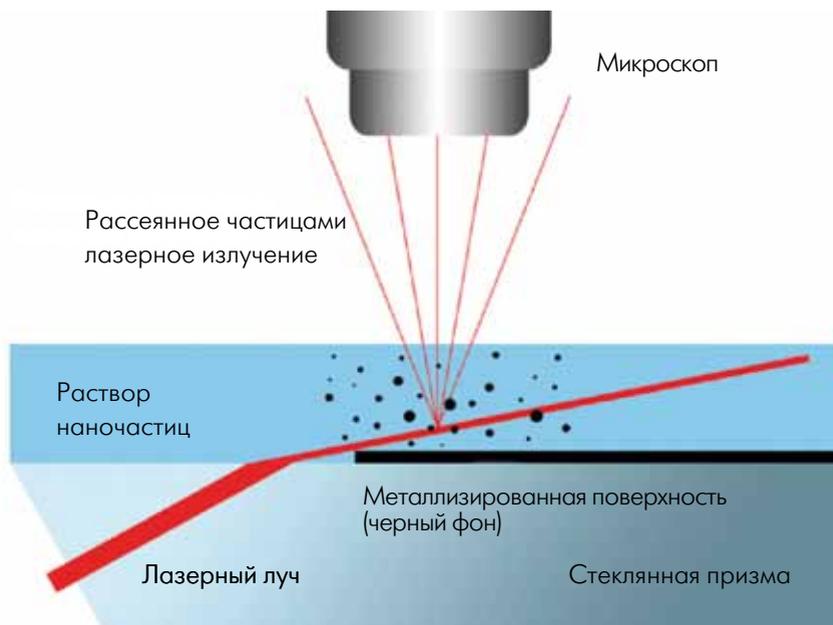


Рис.2. Схема метода

¹ Химический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова.

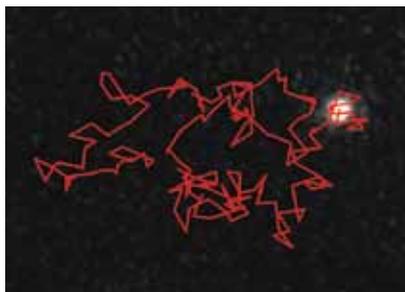


Рис.3. Траектория броуновского движения индивидуальной наночастицы

Те траектории, что достаточно продолжительны по времени, т.е. статистически достоверны, включаются в гистограмму распределения частиц по размеру, отображающуюся в реальном времени на экране.

Исходя из известного размера области измерения и числа частиц, программа рассчитывает их концентрацию для каждого столбца гистограммы. К концу второй минуты измерений накапливается статистика в 500–800 частиц, и в дальнейшем гистограмма распределения частиц по размеру меняется очень незначительно.

Для каждой частицы помимо размера определяется интенсивность ее рассеяния. Для частиц, значительно меньших длины волны, она, по формуле Релея, пропорциональна шестой степени размера. Анализ распределения частиц на графике "Размер-Интенсивность" позволяет проводить расширенную интерпретацию результатов. Если точки на этом графике не ложатся на степенную функцию, а группируются в определенных областях, это означает более сложный состав исследуемого образца: наличие частиц из разных материалов, сильно анизотропных частиц (стержней, трубок, пластинок) и т.д.

Во флуоресцентном режиме измерения (рис.4) между измерительной ячейкой и видеокамерой устанавливается длинноволновый светофильтр, отсекающий излучение на длине волны лазера. В результате прибор селективно регистрирует только флуоресцирующую фракцию наночастиц.

При приложении к коллоидному раствору наночастиц постоянного напряжения в дополнение к броуновскому движению такие частицы начинают направленно двигаться от одного электрода к другому (рис.5, 6).

Исходя из скорости движения, рассчитывается дзета-потенциал наночастиц.

Более подробно с принципом метода анализа траекторий движения наночастиц можно ознакомиться в [1].

Приложения метода

Коллоидные растворы различных наночастиц в последние годы стали такими же коммерчески доступными реагентами, как химические реактивы, антитела, ферменты, олигонуклеотиды. Значительное число научных групп самостоятельно синтезируют различные наночастицы для исследовательских целей. Поэтому более половины всех NTA-приборов в мире применяются для характеристики используемых в лаборатории препаратов наночастиц [2]. Круг решаемых задач включает:

- подтверждение декларируемого производителем или

ожидаемого в ходе синтеза размера наночастиц;

- воспроизводимость процедур синтеза, разделения или модификации наночастиц;
- контроль отсутствия агрегации наночастиц в исходных растворах при хранении или разведении препаратов в буферных растворах для использования.

Измерение абсолютной концентрации наночастиц в молях/л позволяет применять к таким системам стандартные химические подходы: молярная эквивалентность в ходе реакции, константы равновесия, кинетические константы и т.д. Экспрессность метода NTA позволяет при необходимости характеризовать каждый образец наночастиц перед его использованием в эксперименте.

Вторая значимая область применения метода NTA – анализ вирусных и вирусоподобных частиц, в том числе при производстве вакцин [3]. Для этой области также важно отсутствие агрегации частиц, стабильность размера во времени, инфекционность препарата – отношение общего числа частиц заданной фракции к титру.

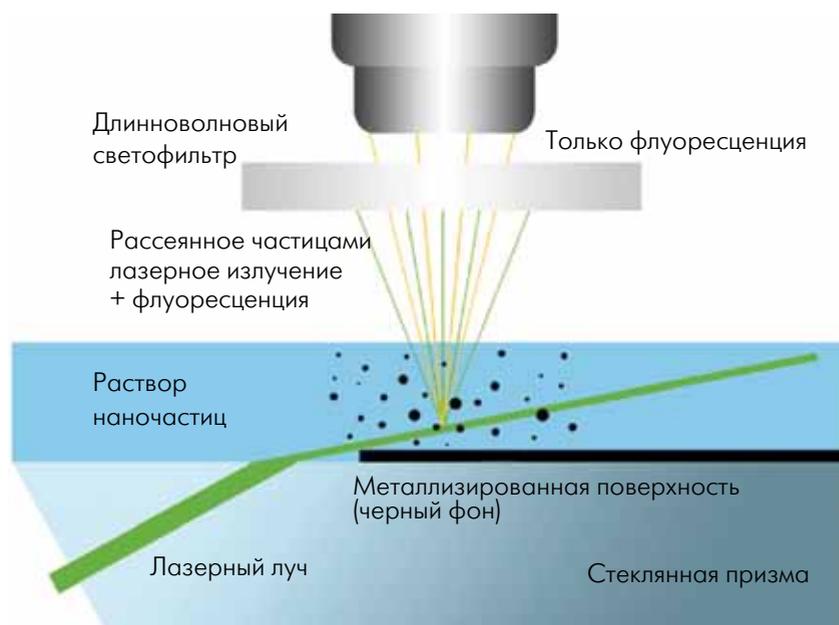


Рис.4. Измерительная схема во флуоресцентном режиме

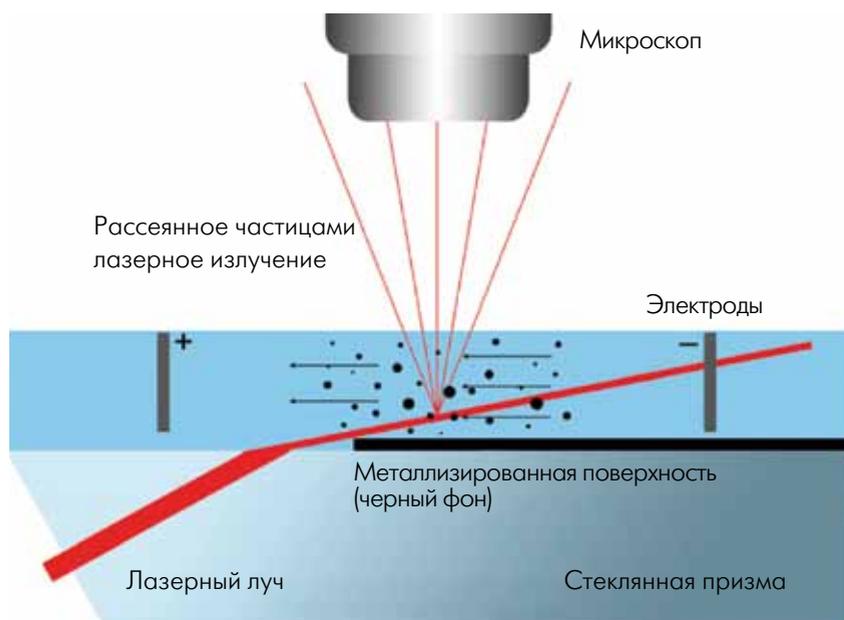


Рис.5. Измерительная схема для дзета-потенциала

Не самой значительной по числу публикаций, но наиболее активно развивающейся областью применения NTA является анализ экзосом и микровезикул для целей клинической диагностики [4]. Использование флуоресцентно меченных антител против белков на поверхности этих бионаночастиц и флуоресцентного режима прибора открывает возможность измерения не только общего числа и размеров экзосом, но и селективно меченной фракции (рис.7).

Из биологических применений заслуживает упоминания характеристика наночастиц, используемых для направленной доставки лекарств (в первую очередь липосомы) и нанотоксикологических исследований, а также изучение процессов агрегации белков [5] и самосборки нанобиочастиц.

Число научных публикаций по использованию метода NTA на настоящий момент со-



Рис.6. Направленное движение наночастиц под действием приложенного потенциала

ставляет более 260, из них только за 2011 год – около 80. Метод бурно развивается, однако существует еще множество потенциальных областей его применения, ожидающих своих первопроходцев.

Использование метода для целей образования

Базовые версии приборов (Nanosight LM10 и LM20) идеально подходят для оснащения студенческих и даже школьных нанотехнологических практикумов.

Их достоинства:

- наглядность – критически важное качество для создания интереса у молодежи;
- простота физических основ;
- малое время измерений;
- отсутствие сложных процедур подготовки образцов к измерению;

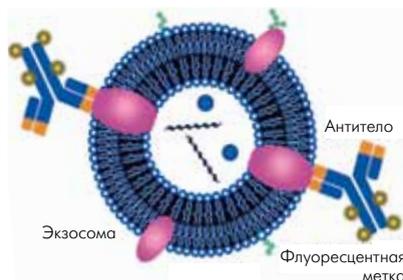


Рис.7. Измерительная схема для дзета-потенциала

- приемлемая стоимость, сравнимая с другими образовательными нанотехнологическими приборами, например, нанозьюкатором компании НТ-МДТ;
- низкая цена расходных материалов;

Помимо общих практикумов возможно использование приборов для самостоятельных исследовательских работ школьников (например, изучение наночастиц в талом снеге, тонере струйного принтера, увлажняющем креме для рук) или студенческих курсовых работ в области нанотехнологий.

Принимая во внимание высокую важность образования в области нанотехнологий, компания Термо Техно, официальный дистрибьютор продукции Nanosight в России, совместно с МГУ им. М.В.Ломоносова разработала и опробовала в студенческом практикуме комплект, состоящий из прибора, образца коллоидного золота и учебно-методических пособий для преподавателей и студентов.

Литература

1. [http://ru.wikipedia.org/wiki/Анализ траекторий наночастиц](http://ru.wikipedia.org/wiki/Анализ_траекторий_наночастиц).
2. H.Saveyn, B.De Baets, O.Thas, P.Hole, J.Smith and P.Van der Meeren. Accurate particle size distribution determination by nanoparticle tracking analysis based on 2-D Brownian dynamics simulation. – J. Colloid Interface Sci., 2010, v.352(2), p.593.
3. K.Kendall, S.Du, S.Morris, C.Sweet. Virus Concentration and Adhesion Measured by Laser Tracking. – J. Adhesion, 2010, v.86(10), p.1029.
4. V.Sokolova, A.-K.Ludwig, S.Hornung, O.Rotan, P.A.Horn, M.Epple, B.Giebel. Characterisation of exosomes derived from human cells by nanoparticle tracking analysis and scanning electron microscopy. – Colloids Surf., B, 2011, v.87(1), p.146.
5. V.Filipe, A.Hawe, W.Jiskoot. Critical evaluation of Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) by NanoSight for the measurement of nanoparticles and protein aggregates. – Pharmaceut. Res., 2010, v.27(5), p.796.