

ДЗЯРЖАЎНАЯ НАВУКОВАЯ ЎСТАНОВА  
«ІНСТЫТУТ ФІЗІКА-АРГАНІЧНАЙ ХІМІІ  
НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ»

УДК 544.7+ 544.42+ 543.06+543.4+542.06+ 577.113.4

РАШІШЭНКА  
БАГДАН ВЯЧАСЛАВАВІЧ

**СІНТЭЗ КАН'ЮГАТАЎ БЯЛКОЎ І НУКЛЕІНАВЫХ КІСЛОТ З  
НЕАРГАНІЧНЫМІ НАНАМАТЭРЫЯЛАМІ: КВАНТАВЫМІ  
КРОПКАМІ, АКІСЛЕНЫМ ГРАФЕНАМ І НАНАЧАСЦІНКАМІ СРЭБРА**

АЎТАРЭФЕРАТ

дысертацыі на атрыманне вучонай ступені  
кандыдата хімічных навук

па спецыяльнасці 02.00.10 – Біяарганічная хімія

Мінск, 2022

Навуковая праца выканана ў Дзяржаўнай навуковай установе «Інстытут фізіка-арганічнай хіміі Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі».

**Навуковы кіраўнік:**

**Шманай Вадзім Уладзіміравіч,**  
кандыдат хімічных навук, загадчык  
лабараторыі хіміі біякан'югатаў Інстытута  
фізіка-арганічнай хіміі НАН Беларусі

**Афіцыйныя апаненты:**

**Шчарбін Дзмітрый Рыгоравіч,**  
доктар біялагічных навук, дацэнт, загадчык  
лабараторыі нанабіятэхналогій Інстытута  
біяфізікі і клетачнай інжынерыі НАН  
Беларусі

**Гілеўская Ксенія Сяргеёўна,**  
кандыдат хімічных навук, дацэнт, вядучы  
навуковы супрацоўнік лабараторыі мікра- і  
нанаструктураваных сістэм Інстытута хіміі  
новых матэрыялаў НАН Беларусі

**Арганізацыя, якая апаніруе:**

Установа Беларускага дзяржаўнага  
ўніверсітэта «Навукова-даследчы інстытут  
фізіка-хімічных праблем»

Абарона адбудзецца «23» снежня 2022 г. у 10.00 на пасяджэнні Савета па абароне дысертацый Д 01.21.01 у Дзяржаўнай навуковай установе «Інстытут біяарганічнай хіміі Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі» па адрасе: 220084, г. Мінск, вул. Акадэміка Купрэвіча, 5/2, e-mail: tbozhok@iboch.by; тэл: +375(17)3979612.

З дысертацыяй можна азнаёміцца ў Цэнтральнай навуковай бібліятэцы імя Я. Коласа НАН Беларусі.

Аўтарэферат разасланы «22» лістапада 2022 г.

Вучоны сакратар Савета  
па абароне дысертацый Д 01.21.01  
кандыдат хімічных навук



Т.С. Бажок

## УВОДЗІНЫ

Хімія біякан'югатаў ахоплівае значную частку сучаснай хіміі і мае вялізарны патэнцыял практычнага прымянення ў самых розных абласцях чалавечай дзейнасці. Біякан'югаты на аснове неарганічных нанаматэрыялаў займаюць асаблівае месца ў хіміі біякан'югатаў. Гэта абумоўлена ўнікальнымі фізіка-хімічнымі ўласцівасцямі неарганічных нанаматэрыялаў, якія ў спалучэнні з біяспецыфічнасцю біямалекул дазваляюць атрымаць матэрыялы асабліва каштоўныя для практычнага прымянення. Сярод неарганічных нанаматэрыялаў паўправадніковыя квантавыя кропкі, акіслены графен, плазмонныя наначасцінкі ўваходзяць у шэраг найбольш цікавых нанаматэрыялаў з пункту гледжання перспектывнасці і актуальнасці практычнага ўкаранення іх біякан'югатаў.

## АГУЛЬНАЯ ХАРАКТАРЫСТЫКА ПРАЦЫ

**Сувязь працы з навуковымі праграмамі (праектамі), тэмамі.** Тэма дысертацыі адпавядае прыярытэтным накірункам навуковых даследаванняў Рэспублікі Беларусь на 2016-2020 гг. (пункт 12 «Міждысцыплінарныя даследаванні»), таксама прыярытэтным накірункам навукова-тэхнічнай дзейнасці ў Рэспубліцы Беларусь на 2016-2020 гг. (раздзел 6 «Бія- і нанаіндустрыя», пункт 6.1 «Нанатэхналогіі»). Дысертацыйная праца з'яўляецца часткай планавых даследаванняў лабараторыі хіміі біякан'югатаў Інстытута фізіка-арганічнай хіміі НАН Беларусі, выкананых у межах ДПНД «Канвергенцыя», заданне 3.04 «Распрацоўка метадаў функцыяналізацыі і біякан'югавання неарганічных наначасцінак і паверхняў»; ДНТП «Прамысловыя бія- і нанатэхналогіі-2020», заданне 4-12 «Распрацаваць і ўкараніць тэхналогію атрымання нанаструктураваных цвёрдафазных носьбітаў (мадыфікаваных СРГ) для сінтэзу ДНК-зондаў і мадыфікаваных нуклеінавых кіслот»; ДП «Навукаёмкія тэхналогіі і тэхніка» (падпраграма 1), мерапрыемства 25<sup>5</sup> «Распрацаваць тэхналогію і арганізаваць вытворчасць сінтэтычных накіроўчых РНК для тэхналогіі геномнага рэдагавання CRISPR».

**Мэта і задачы даследавання.** Мэта дысертацыйнай працы – распрацаваць новыя эфектыўныя метады сінтэзу перспектывных для біяаналітычнага прымянення кан'югатаў неарганічных нанаматэрыялаў (паўправадніковых квантавых кропак, акісленага графену, наначасцінак срэбра) з біямалекуламі (бялкамі і нуклеінавымі кіслотамі).

Вызначаная мэта дасягалася праз рашэнне наступных задач:

- Распрацаваць эфектыўныя метады функцыяналізацыі неарганічных нанаматэрыялаў (паўправадніковых квантавых кропак, акісленага графену, наначасцінак срэбра) групамі для біяартаганальнага звязвання.

- Распрацаваць новыя метады вызначэння колькасці функцыянальных груп у структуры мадыфікаваных неарганічных нанаматэрыялаў.
- Вызначыць фактары, якія ўплываюць на працэс кан'югацыі неарганічных нанаматэрыялаў з біямалекуламі.
- Распрацаваць новыя метадыкі кан'югацыі паўправадніковых квантавых кропак, акісленага графену і наначасцінак срэбра з біямалекуламі.
- Распрацаваць эфектыўныя метады ачысткі і выдзялення біякан'югатаў неарганічных нанаматэрыялаў.

**Аб'ект даследавання** – неарганічныя нанаматэрыялы (паўправадніковыя квантавыя кропкі, акіслены графен, наначасцінкі срэбра).

**Прадмет даследавання** – метады сінтэзу кан'югатаў неарганічных нанаматэрыялаў з бялкамі і нуклеінавымі кіслотамі.

**Навуковая навізна.** Упершыню даследаваны ўплыў фактару электростатычнага адштурхоўвання на працэс кан'югацыі паўправадніковых квантавых кропак, мадыфікаваных азіднымі групамі, з малекуламі фарбавальніка і алігануклеатыднага дуплекса, якія ўтрымлівалі цыклаактынавую функцыю. Даследавана кінетыка кан'югацыі фарбавальніка і алігануклеатыднага дуплекса з квантавымі кропкамі. Праведзена параўнанне актыўнасці квантавых кропак з аніённай і цвітар-іоннай структурай паверхні пры кан'югацыі з алігануклеатыдным дуплексам, і прадэманстравана перспектыўнасць выкарыстання апошніх для павелічэння эфектыўнасці кан'югацыі. Даследаваны фактар колькасці функцыянальных груп на паверхні квантавых кропак на хуткасць кан'югацыі з фарбавальнікам. Упершыню атрыманы кан'югаты квантавых кропак з фарбавальнікам JOE з пераносам энергіі з рознай колькасцю малекул фарбавальніка на адну квантавую кропку. Трыс(карбоксіэтыл)фасфін прапанаваны ў якасці рэагента для аднаўлення азідных груп нанаструктур у водным асяроддзі.

Распрацавана метадыка функцыяналізацыі паверхні шкла поліэтыленімам. Упершыню прапанаваны метады вызначэння паверхневай шчыльнасці функцыянальных груп і праведзена вызначэнне колькасці эпаксідных груп у структуры акісленага графену. Ацэнена актыўнасць эпаксідных груп акісленага графену ў рэакцыі з амінамі ў водным асяроддзі ва ўмовах, прыдатных для біякан'югацыі, а таксама стабільнасць мадыфікацый, уведзеных праз раскрыццё эпаксідных груп акісленага графену амінамі, пры аднаўленні гідразінам. Прапанаваны новы метады візуалізацыі графенавых наначасцінак на здымках скануючай электроннай мікраскапіі шляхам адсарбцыйнай імабілізацыі наначасцінак срэбра. Праведзена кан'югацыя азідафункцыяналізаванага акісленага графену з фарбавальнікам JOE ў біяартаганальных умовах, выдзелены адпаведны кан'югат.

Паказана, што велічыня сігнала гіганцкага камбінацыйнага рассеяння (ГКР) субстратаў на аснове наначасцінак срэбра вызначальна залежыць ад электростатычнага ўзаемадзеяння з аналітам. Дадатак іонаў медзі ў аналіт прапанаваны для перазарадкі малекул нуклеінавых кіслот, у прыватнасці алігануклеатыда, з мэтай актывацыі ГКР-сігнала.

### **Палажэнні, якія выносяцца на абарону.**

1. Новыя кан'югаты квантавых кропак з фарбавальнікам JOE з пераносам энергіі з рознай колькасцю малекул фарбы на квантавую кропку і іх аптычныя ўласцівасці, якія дазволілі даследаваць працэс кан'югацыі ў рэжыме рэальнага часу за кошт тушэння люмінесцэнцыі квантавых кропак.

2. Упершыню атрыманыя колькасныя даныя аб уплыве электростатычнага ўзаемадзеяння на кан'югацыю паўправадніковых квантавых кропак з арганічным фарбавальнікам і алігануклеатыдным дуплексам, якія дазволілі вызначыць шляхі паляпшэння эфектыўнасці кан'югацыі і прапанаваць выкарыстанне квантавых кропак з цвітар-іоннай структурай паверхні для эфектыўнага сінтэзу іх біякан'югатаў з алігануклеатыдамі.

3. Методыка мадыфікацыі паверхні шкла і крэмнію поліэтыленімінам для імабілізацыі плазмонных наначасцінак і наначасцінак акісленага графену, якая дазволіла прапанаваць новы метад візуалізацыі графену на здымках скануючай электроннай мікраскапіі праз адсарбцыйную імабілізацыю наначасцінак срэбра.

4. Метад вызначэння паверхневай колькасці функцыянальных груп акісленага графену, заснаваны на яго імабілізацыі на паверхні шкляных шарыкаў з наступнай хімічнай мадыфікацыяй, які дазволіў вызначыць паверхневую шчыльнасць актыўных эпаксідных груп у структуры акісленага графену.

5. Дадатак іонаў медзі ў аналіт як падыход для актывацыі сігнала гіганцкага камбінацыйнага рассеяння аніённых аналітаў пры выкарыстанні нанаструктураваных ГКР-субстратаў на аснове нанасрэбра, які дазволіў палепшыць аналітычны сігнал алігануклеатыда.

**Асабісты ўнёсак саіскальніка вучонай ступені** заключаецца ў правядзенні эксперыментальнай часткі працы, сінтэзе і характарызацыі акісленага графену і наначасцінак срэбра, у функцыяналізацыі неарганічных нанаматэрыялаў, мадыфікацыі паверхні шкляных і крэмніевых падложак, імабілізацыі нанаматэрыялаў на шкле і крэмніі, падрыхтоўцы проб для ГКР-аналізу, у сінтэзе кан'югатаў квантавых кропак з фарбавальнікам і алігануклеатыдным дуплексам, у кан'югацыі акісленага графену з фарбавальнікам, даследаванні кінетыкі кан'югацыі квантавых кропак, распрацоўцы метадаў характарызацыі, ачысткі і выдзялення кан'югатаў неарганічных нанаматэрыялаў. Пастаноўка задач, падрыхтоўка матэрыялаў і інтэрпрэтацыя вынікаў для навуковых публікацый ажыццяўлялася сумесна з к.х.н. Шманаем В.У., д.х.н. Арцём'евым М.В., к.ф.-м.н. Церыхавым С.М., к.ф.-

м.н. Панарыным А.Ю. Вывучэнне спектраў ГКР праводзілася ў Інстытуце фізікі НАН Беларусі. Узоры водарастваральных паўправадніковых квантавых кропак узычаны д.х.н. Арцем'евым М.В. (лабараторыя наныхіміі НДІ ФХП БДУ). Прасвечваючую электронную мікраскапію даследавалі на хімічным факультэце БДУ ў супрацоўніцтве з д.х.н. Арцем'евым М.В. Узоры скануючай электроннай мікраскапіі былі даследаваны на базе Інстытута праблем хімічнай фізікі РАН (Чарнагалоўка, Расія). Атамна-сілавая мікраскапія даследавалася ў Інстытуце радыябіялогіі НАН Беларусі пры супрацоўніцтве з д.б.н., прафесарам, Старадубцавай М.М. і м.н.с. Чалнакавай І.А.

**Апрабацыя дысертацыі і інфармацыя аб выкарыстанні яе вынікаў.** Матэрыялы дысертацыйнай працы былі прадстаўлены ў выглядзе дакладаў на XIII Міжнароднай навуковай канферэнцыі моладых уčenых «Молодежь в науке 2016» (Мінск, 2016), XIV Міжнароднай навуковай канферэнцыі моладых уčenых «Молодежь в науке 2017» (Мінск, 2017), XVI Міжнароднай навуковай канферэнцыі моладых уčenых «Молодежь в науке 2019» (Мінск, 2019), 8th International School and Conference «Saint Petersburg OPEN 2021» on Optoelectronics, Photonics, Engineering and Nanostructures (Санкт-Пецярбург, 2021).

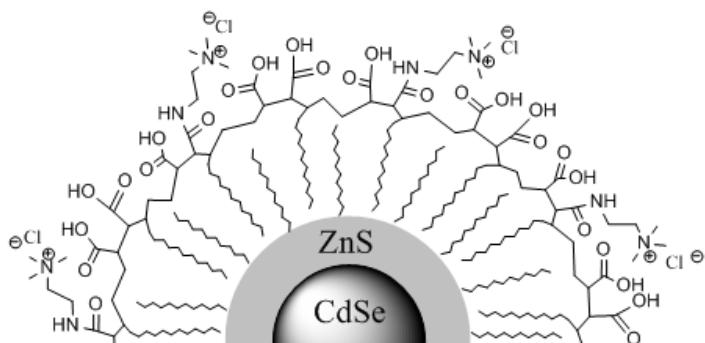
**Апублікаванне вынікаў дысертацыі.** Па матэрыялах дысертацыі апублікавана 14 друкаваных прац, з іх 7 артыкулаў у рэцэнзаваных навуковых часопісах (у тым ліку 6 у міжнародных навуковых выданнях) агульным аб'ёмам 4,2 аўтарскіх аркушаў, тэзісы 7 дакладаў.

**Структура і аб'ём дысертацыі.** Дысертацыя складаецца са зместу, спісу скарачэнняў і ўмоўных абазначэнняў, анатацыі, уводзінаў, агульнай характарыстыкі працы, трох глаў, заключэння, бібліяграфічнага спісу, падзякі і дадаткаў. У главе 1 прыводзіцца аналітычны агляд літаратуры па тэме даследавання за апошнія гады. Глава 2 прысвечана абмеркаванню вынікаў даследавання. Глава 3 уключае ў сябе апісанне метадык эксперыментаў. Праца выкладзена на 123 старонках, утрымлівае 45 малюнкаў і 8 табліц. Спіс цытаванай літаратуры ўключае ў сябе 155 спасылак.

## **АСНОЎНЫ ЗМЕСТ ПРАЦЫ**

### **Функцыяналізацыя паверхні паўправадніковых квантавых кропак шляхам карбадыміднай кандэнсацыі**

Для функцыяналізацыі квантавых кропак (КК) выкарыстоўвалі палімер-інкапсуляваныя водарастваральныя паўправадніковыя квантавыя кропкі з карбаксільнымі групамі на паверхні. З мэтай вар'іравання дээта-патэнцыялу мэтазгодным аказалася ўвядзенне тратычных амінагруп на стадыі функцыяналізацыі палімера-стабілізатара (полімалеінавы ангідрыд-альт-

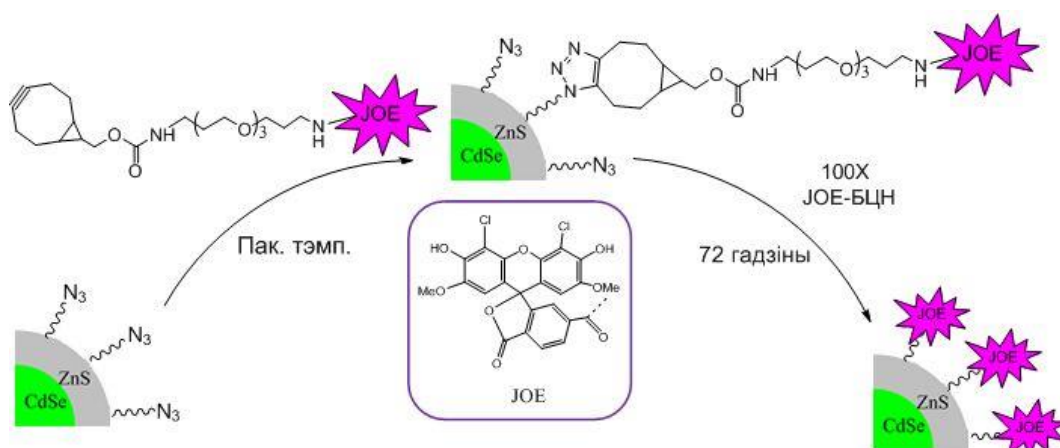


**Малюнак 1. – Агульная схематычная выява водарастваральных КК, якія выкарыстоўвалі ва ўсіх наступных эксперыментах**

уведзеных азідных груп вызначалі спектрафотаметрычна шляхам кан'югацыі КК з флуарэсцынавым фарбавальнікам JOE па рэакцыі цыкладалучэння, праматаванага напружаннем у цыкле (ЦПНЦ) (малюнак 2).

тэтрадэцэн). На **малюнку 1** у агульным выглядзе прадстаўлена структура водарастваральных КК (колькасць чацвертычных амінагруп – вар'іруемы параметр).

Для правядзення даследаванняў функцыяналізацыі КК шляхам карбадыміднай кандэнсацыі, у якасці аб'екта выкарыстоўвалі аніённыя КК, якія падвяргалі рэакцыі з аміна-тэтраэтыленгліколь азідам ( $\text{NH}_2$ -ТЭГ- $\text{N}_3$ ). Колькасць



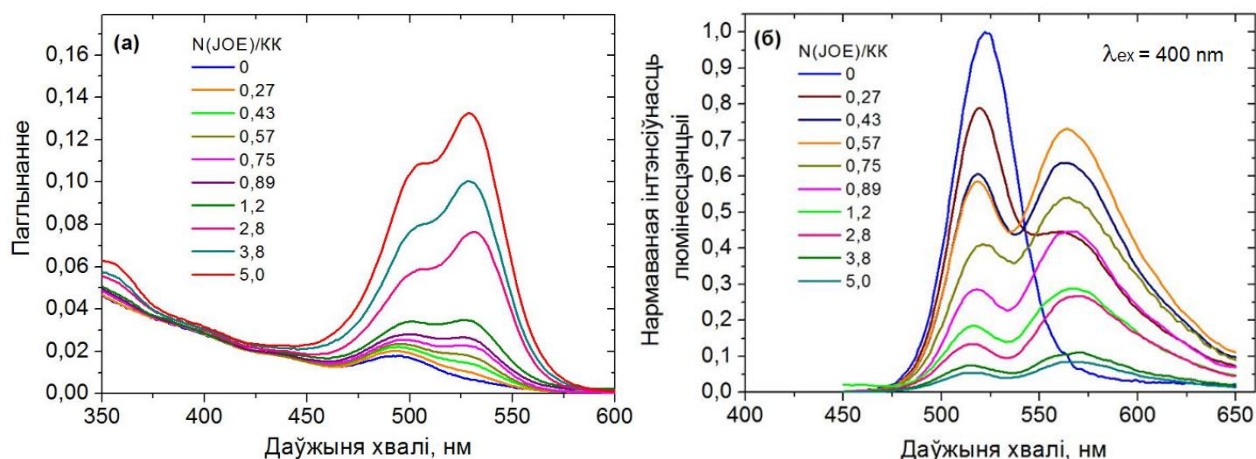
**Малюнак 2. – Схема рэакцыі кан'югацыі КК з JOE пры дапамозе ЦПНЦ**

Выяўлена, што працэс актывацыі карбаксільных груп 1-этыл-3-(3-дыметыламінапрапіл)карбадымідам (ЭДК) значна больш залежыць ад тэмпературы, чым наступнае нуклеафільнае замяшчэнне, і старанны падбор тэмпературы (пры вызначанай канцэнтрацыі рэагентаў) дазваляе цалкам пазбегнуць агрэгачыі наначасцінак. Поўная адсутнасць агрэгачыі назіралася пры тэмпературах ніжэй  $10^\circ\text{C}$ . Эксперыментальна паказана, што вынікі, атрыманыя для аніённых КК, справядлівыя і для цвітар-іонных адмоўна зараджаных КК [3,9,12,14].

### Даследаванне тушэння люмінесцэнцыі квантавых кропак фарбавальнікам JOE у кан'югаце

Для даследавання пераносу энергіі з КК на далучаную кавалентна малекулу JOE мы сінтэзавалі шэраг адпаведных кан'югатаў рознага складу. На

**малюнку 3** прадстаўлены спектры паглынання і люмінесценцыі кан'югатаў КК з JOE з рознымі суадносінамі JOE/КК. Адна малекула JOE эфектыўна, больш чым на 70% (а з улікам статыстычнага размеркавання Пуасона – больш чым на 85%) тушыць люмінесценцыю КК [3,4]. Дзякуючы флуарэсцэнтнаму рэзананснаму пераносу энергіі (ФРПЭ) назіраецца з'яўленне паласы люмінесценцыі JOE на  $\lambda = 570$  нм з інтэнсіўнасцю, якая праходзіць праз максімум пры павелічэнні колькасці малекул фарбавальніка на адну КК, у выніку гома-ФРПЭ тушэння паміж блізка размешчанымі на паверхні КК малекуламі фарбы. Эфект гома-ФРПЭ ў дадзеным выпадку назіраецца ўжо пры далучэнні другой малекулы JOE да КК. Увядзенне больш за 5 малекул фарбы на адну КК прыводзіць да амаль поўнага тушэння люмінесценцыі КК у кан'югаце [3,4]. Паколькі паласа люмінесценцыі JOE практычна не перакрываецца з люмінесценцыяй КК на  $\lambda = 520$  нм, мы выкарыстоўвалі тушэнне люмінесценцыі КК для вивучэння ЦПНЦ пры розных умовах у наступных нашых эксперыментах.



**Малюнак 3.** – Спектры паглынання (а) і люмінесценцыі (б) кан'югатаў КК з JOE з рознай сярэдняй колькасцю малекул фарбы на адну КК

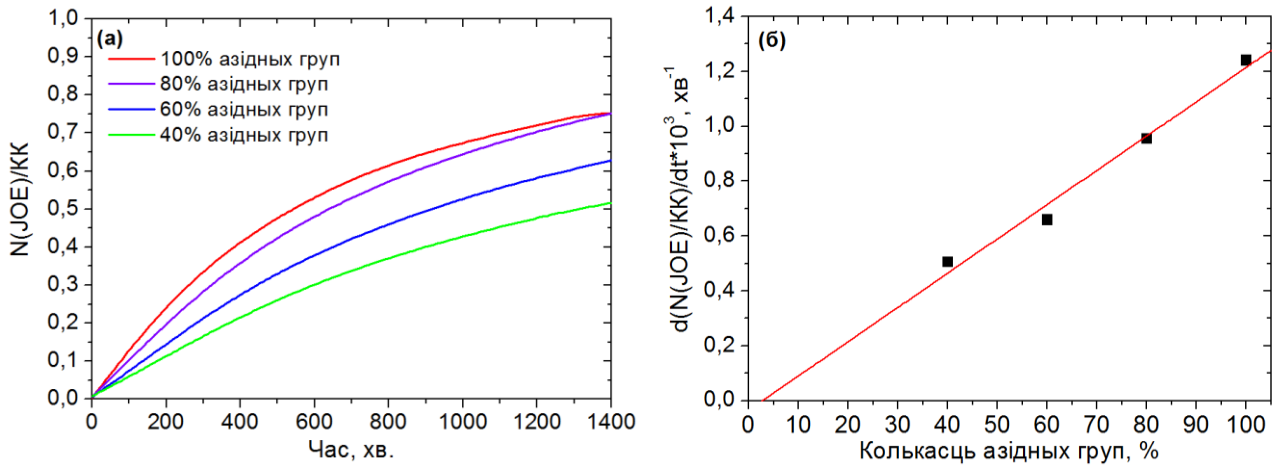
### Вар'іраванне шчыльнасці функцыянальных груп на паверхні квантавых кропак

У якасці мадыфікатараў аніённых КК выкарыстоўвалі два тэтраэтыленгліколевая (ТЭГ) аміны з блізкай малекулярнай масай і структурай ( $N_3$ -ТЭГ- $NH_2$  і  $HO$ -ТЭГ- $NH_2$ ), мяркуючы, што іх рэакцыйная здольнасць аднолькавая. Выкарыстанне КК з паласой люмінесценцыі на 520 нм дазволіла аналізаваць кінетыку рэакцыі з дапамогай прыбора, прызначанага для правядзення палімеразнай ланцуговай рэакцыі ў рэжыме рэальнага часу.

На **малюнку 4** прадстаўлены кінэтычныя крывыя кан'югацыі КК з JOE (а), а таксама залежнасць пачатковых хуткасцей рэакцый ад адноснай колькасці азідных груп на КК (б). Хуткасці рэакцыі добра карэлююць з адноснай колькасцю функцыянальных груп на паверхні (каэфіцыент карэляцыі 0,983).



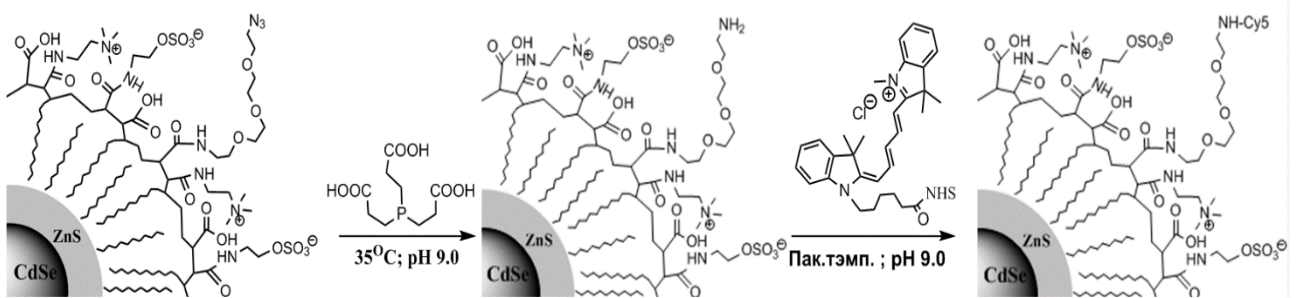
Акрамя таго, лінейная апраксімацыя і экстрапаляцыя на нулявую хуткасць рэакцыі дае 2,7 % азідных груп, што добра адпавядае тэарэтычным прадказанням (0%) [3,4,12,14].



**Малюнак 4.** – Кінетычныя крывыя кан’югацыі КК, функцыяналізаваных рознай колькасцю азідных груп, з JOE (а). Залежнасць пачатковых хуткасцей рэакцыі ад адсоткавай колькасці азідных груп у КК (б)

### Амінафункцыяналізацыя паўправадніковых квантавых кропак

Для атрымання біякан’югатаў КК уяўляе інтарэс функцыяналізацыя КК амінагрупамі. Азідныя групы маюць вялікі патэнцыял для ўвядзення амінагруп. Камерцыйна даступны трыс(карбоксіэтыл)фасфін (ТКЭФ) абраны ў якасці мяккага водарастваральнага аднаўляльнага азідных груп (па рэакцыі Штаўдзінгера). Для лепшага спектральнага распазнавання і вызначэння колькасці фарбы ў кан’югаце па спектрах паглынання вылучаны зялёныя КК і цыянінавы фарбавальнік Cy5 (максімумы паглынання 490 і 650 нм, адпаведна). Схема працэсаў аднаўлення і кан’югацыі прадстаўлена на **малюнку 5**.



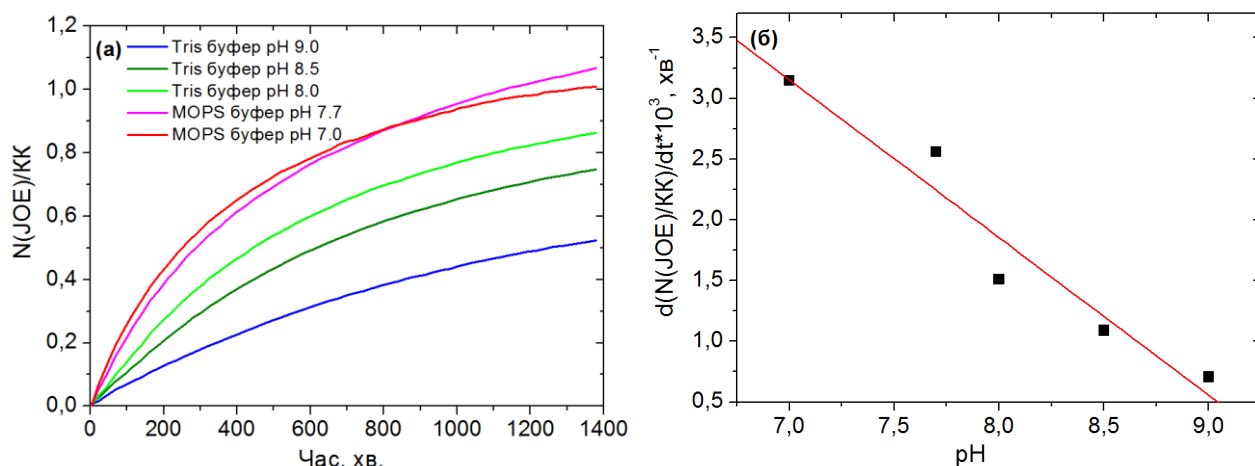
**Малюнак 5.** – Схема аднаўлення азідных груп КК пры дапамозе ТКЭФ з наступнай кан’югацыяй цыянінавага фарбавальніка Cy5

Каб выключыць унёсак некавалентнага ўзаемадзеяння фарбы з КК, паралельна праводзілі два эксперыменты: з стадыяй аднаўлення і без яе. Выяўлена, што некавалентна звязваецца прыкладна 0,3 малекулы Cy5 на адну КК. Аднаўленне пры дапамозе ТКЭФ робіць КК здольнымі да кавалентнага ўзаемадзеяння з фарбай, і суадносіны Cy5/КК павялічваюцца да значэння 1,8.

Спектры люмінесценцыі атрыманага кан'югата паказалі эфектыўны перанос энергіі [3,12,14].

### Кан'югацыя квантавых кропак з JOE: даследаванне ўплыву электростатычнага ўзаемадзеяння на эфектыўнасць кан'югацыі

Для правядзення даследавання выкарыстоўвалі аніённыя КК, якія неслі на паверхні выключна карбаксільныя і азідныя групы. JOE – гэта флуарэсцынавы фарбавальнік, які ва ўмовах эксперыменту ( $\text{pH} \approx 7-9$ ) пераважна існуе ў монааніённай і дыаніённай формах. Аніённыя КК, выкарыстаныя ў рэакцыі, маюць адмоўны дзэта-патэнцыял, які змяняецца ад  $\xi = -36$  мВ пры  $\text{pH} = 9,0$  да  $-25$  мВ пры  $\text{pH} = 7,0$ . Змяншэнне значэння  $\text{pH}$  ніжэй  $7,0$  выклікае агрэгачыю КК. Паколькі рэакцыя ЦПНЦ не залежыць ад  $\text{pH}$ , то ўплыў электростатычнага ўзаемадзеяння на эфектыўнасць кан'югацыі можа быць даследаваны шляхам вывучэння кінетыкі ФРПЭ-індуцыраванага тушэння люмінесценцыі пры розных значэннях  $\text{pH}$ . Кінетычныя крывыя прыведзены на **малюнку 6(а)**.

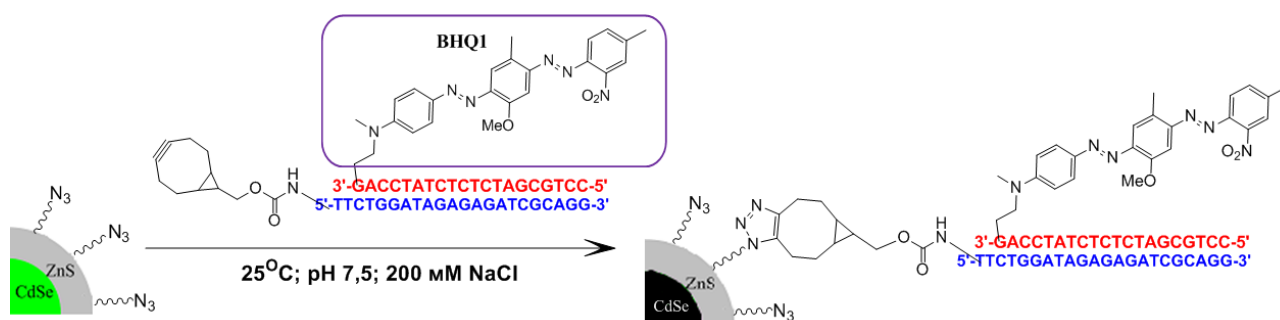


**Малюнак 6.** – Кінетыка рэакцыі ЦПНЦ паміж КК і JOE пры розных значэннях  $\text{pH}$ , выражаная ў колькасці малекул JOE, далучаных да адной КК (а). Залежнасць пачатковых хуткасцей рэакцыі КК з JOE ад значэння  $\text{pH}$  (б)

Пачатковая хуткасць рэакцыі (**малюнак 6(б)**) павялічваецца прыкладна ў 4 разы пры пераходзе ад  $\text{pH} = 9,0$  да  $\text{pH} = 7,0$ . Залежнасць пачатковых хуткасцей рэакцыі ад  $\text{pH}$  мае блізкі да лінейнага характар. Мяркуецца, што павелічэнне хуткасці рэакцыі ЦПНЦ выклікана змяншэннем электростатычнага адштурхоўвання паміж аніённымі карбаксілаванымі КК і малекуламі JOE, якія таксама знаходзяцца ў аніённай форме. Для пацверджання гэтага меркавання праведзена даследаванне ўплыву іоннай сілы на хуткасць дадзенай рэакцыі пры фіксаваным значэнні  $\text{pH}$ . Сапраўды, павелічэнне канцэнтрацыі  $\text{NaCl}$  у рэакцыйнай сумесі моцна павялічвала хуткасць рэакцыі. Гэта тлумачыцца эфектам экранавання як паверхні КК, так і зараджаных малекул фарбы, што змяншае іх электростатычнае адштурхоўванне [4].

## Кан'югацыя квантавых кропак з алігануклеатыдным дуплексам у кантэксце ўплыву электростатычнага ўзаемадзеяння

У параўнанні з JOE, малекулы алігануклеатыдаў з'яўляюцца нашмат больш шматзараднымі, маючы адну зараджаную фасфатную групу на нуклеатыднае зв'язно, якіх звычайна налічваецца ад аднаго да некалькіх дзясяткаў. Для змяншэння электростатычнага адштурхоўвання паміж КК і малекуламі алігануклеатыдаў мы прыгатавалі цвітар-іонныя КК, якія маюць значна менш адмоўны дзэта-патэнцыял ( $\xi = -12$  мВ пры рН=9,0 і  $\xi \approx 0$  мВ пры рН=7,0) і роўную з аніёнными КК колькасць азідных груп на адну КК. КК даследавалі ў рэакцыі кан'югацыі з алігануклеатыдным дуплексам шляхам ЦПНЦ (малюнак 7).



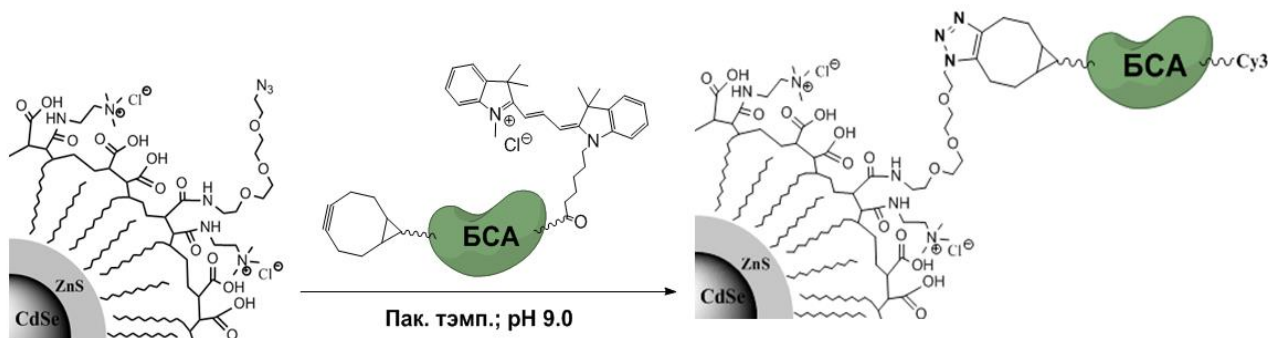
Малюнак 7. – Схема кан'югацыі КК з алігануклеатыдным дуплексам

Аніённыя і цвітар-іонныя КК падвяргалі кан'югацыі ў найбольш спрыяльных умовах, якія былі вызначаны на падставе даных, атрыманых у эксперыментах з JOE, – канцэнтрацыя NaCl 200 мМ і рН=7,5. Цвітар-іонныя КК дадаткова кан'югавалі ва ўмовах найменш спрыяльных для кан'югацыі (рН=9,0 і 10 мМ карбанатны буфер).

Нават пры найбольш спрыяльных умовах рэакцыі аніённыя КК не дазваляюць атрымаць задавальняючыя вынікі (кан'югуецца менш за адну малекулу дуплекса). У аналагічных умовах цвітар-іонныя КК паказваюць прыкладна на парадак большую пачатковую хуткасць рэакцыі і прыкладна ў 5 разоў большую колькасць дуплекса, які кан'югуецца за час правядзення рэакцыі. Правядзенне кан'югацыі цвітар-іонных КК з алігануклеатыдным дуплексам пры рН=9,0 у 10 мМ буферы прыводзіць да значнага змяншэння хуткасці і эфектыўнасці кан'югацыі, якія, тым не менш, застаюцца нашмат большымі, чым для аніённых КК пры найбольш аптымальных умовах кан'югацыі. Атрыманыя эксперыментальныя даныя добра карэлююць са значэннем дзэта-патэнцыялу аніённых і цвітар-іонных КК і цалкам пацвярджаюць пачатковую ідэю аб ключавой ролі ўплыву электростатычнага ўзаемадзеяння на хуткасць кан'югацыі [4,9].

## Кан'югацыя квантавых кропак з бычыным сываратачным альбумінам (БСА)

З мэтай дэманстрацыі здольнасці кан'югацыі азідамадыфікаваных КК з бялкамі абраны мадэльны бялок БСА, мечаны фарбавальнікам  $\text{Cu}_3$  (колькасць мадыфікацый біцыклананінавых груп і  $\text{Cu}_3$ , уведзеных праз адпаведныя N-гідроксісукцынімідныя эфіры, складала па 1 на малекулу бялку). Выдзелены тры кан'югаты з рознай колькасцю БСА. На **малюнку 8** прыведзена схема біякан'югацыі.



**Малюнак 8.** – Схема кан'югацыі азідамадыфікаваных КК з флуарэсцэнтна мечаным БСА

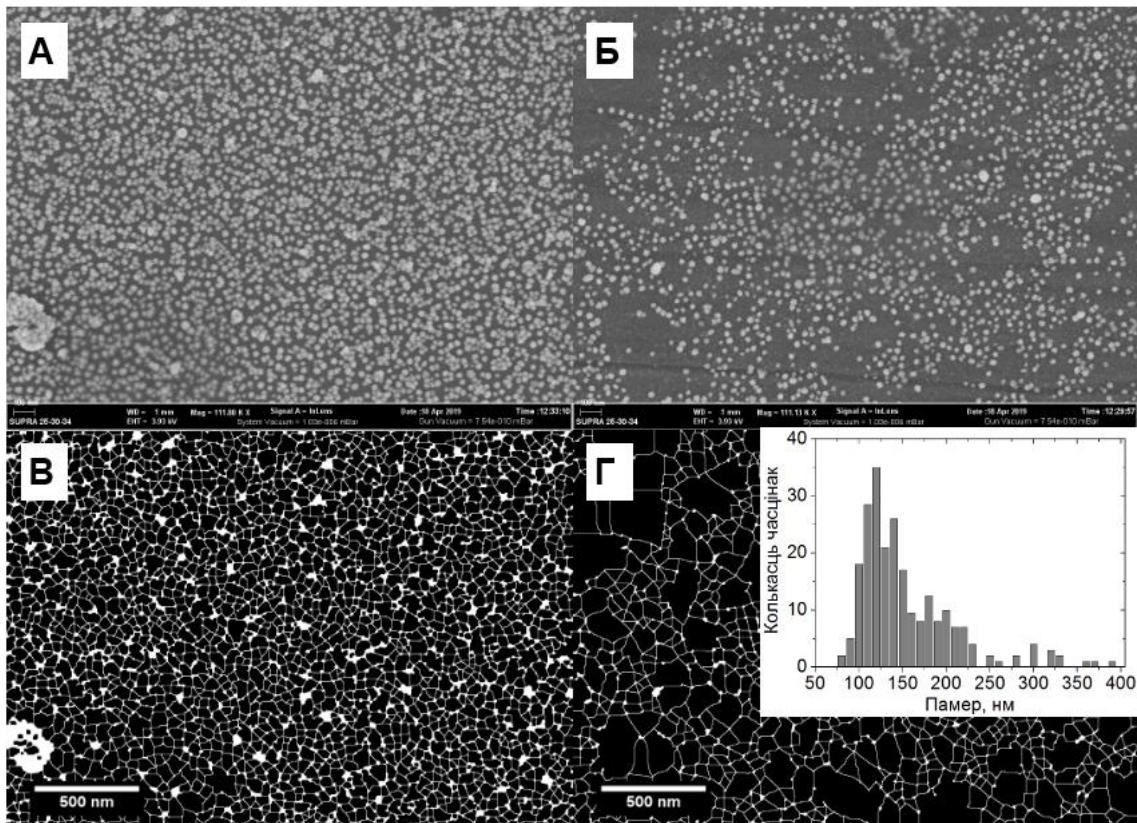
Ацэнка складу кан'югатаў, зробленая з выкарыстаннем іх спектраў паглынання, дала значэнні БСА/КК = 1,1; 1,8; 2,5. Спектры люмінесценцыі сведчаць аб эфектыўным пераносе энергіі, што азначае блізкае распалажэнне БСА і КК у структуры кан'югата. Эфектыўнасць ФРПЭ карэлюе з колькасцю ўведзенага БСА. Ааналіз КК шляхам дынамічнага рассеяння святла перад і пасля кан'югацыі паказаў павелічэнне гідрадынамічнага дыяметра з 12 да 24 нм ва ўсіх эксперыментах. Асобна быў праведзены рэферэнтны эксперымент з дзесяцю эквівалентамі флуарэсцэнтна мечанага БСА, які не ўтрымліваў біцыклананінавых груп. Утварэнне кан'югата пры гэтым не назіралася [3,12,14].

## Сінтэз і характарызацыя акісленага графену

Сінтэз акісленага графену (АГ) ажыццяўлялі такім чынам, каб павялічыць выхад калоідна-стабільнай нанапамеравай фракцыі. Даследаванне гідрадынамічнага дыяметра АГ з выкарыстаннем метаду дынамічнага рассеяння святла дало значэнне памеру часцінак 42 нм [2]. Для праверкі памеру часцінак АГ намі дадаткова выкарыстана скануючая электронная мікраскапія (СЭМ). Вядома, што АГ схільны да адсарбцыйнай імабілізацыі за кошт электростатычнага ўзаемадзеяння. З іншага боку, аналагічны працэс назіраецца і для наначасцінак (НЧ) срэбра [7,8]. У адрозненні ад графену, НЧ срэбра практычна непразрыстыя для электроннага променя. Такім чынам, пры ўмове выкарыстання НЧ срэбра нашмат меншага памеру, чым АГ і іх шчыльнай упакоўцы можна чакаць візуалізацыі адсарбаваных часцінак АГ (ці адноўленага



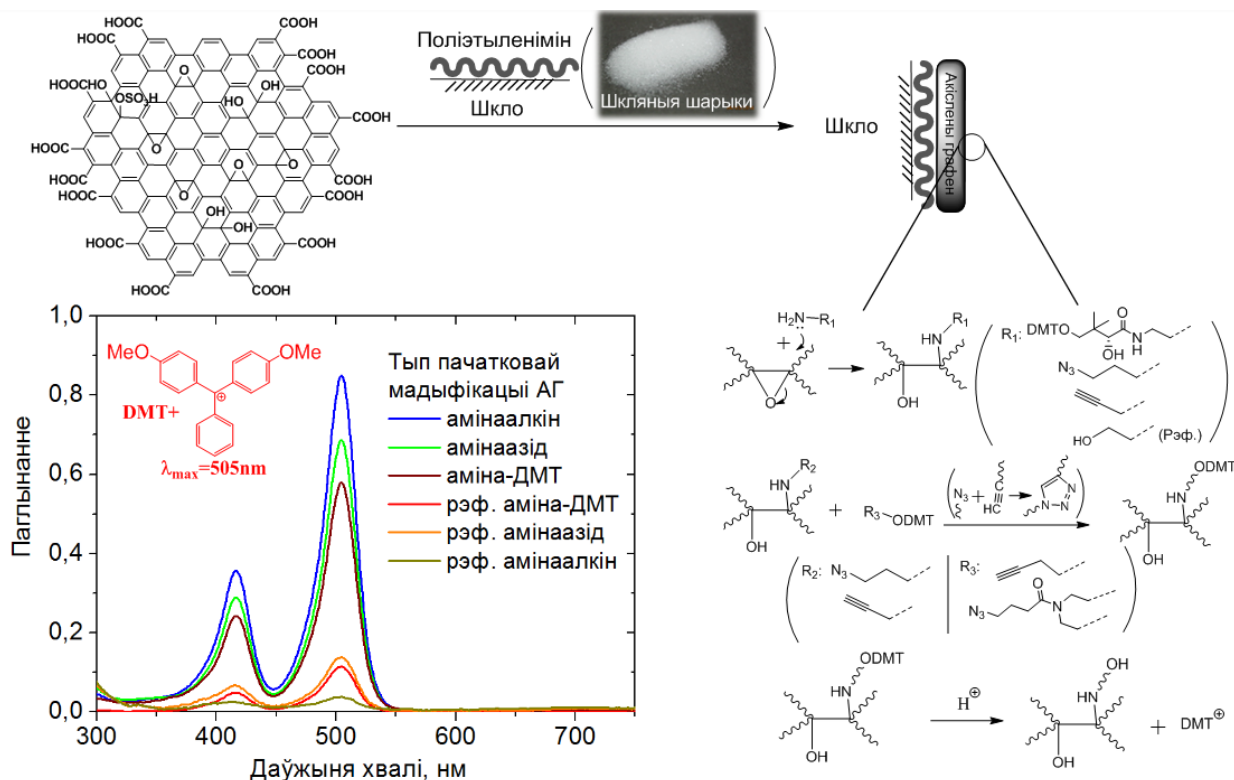
АГ). На **малюнку 9(А,Б)** прадстаўлены СЭМ здымкі падложак, пакрытых НЧ срэбра перад і пасля імабілізацыі адноўленага АГ. Апрацоўка зыходных здымкаў пры дапамозе графічнага рэдактара ImageJ (**малюнак 9(В,Г)**) дазволіла пабудаваць гістаграму размеркавання графенавых часцінак па памеры, якія маюць памер меншы за 500 нм з максімумам каля 120 нм (**малюнак 9(Г(устаўка))**) [6].



**Малюнак 9.** - Здымкі СЭМ НЧ срэбра, імабілізаваных адсарбцыйным метадам на крэмнёвай падложцы (А) і на крэмнёвай падложцы з папярэдне імабілізаваным адноўленым АГ (Б); аналагічныя здымкі (В,Г) пасля апрацоўкі ў графічным рэдактары; гістаграма размеркавання (Г(устаўка)) часцінак графену па памерах

### **Імабілізацыя і функцыяналізацыя акісленага графену на шкле**

Даследаванне АГ у раствору абмежавана ўмовамі правядзення рэакцыі, якія не выклікаюць агрэгавання НЧ. Каб пераадолець прыведзеныя абмежаванні, праведзена імабілізацыя АГ на паверхні шкла. У якасці зручнага для працы шклянога матэрыялу выкарыстоўвалі поліэтыленімін-мадыфікаваныя шкляныя шарыкі дыяметрам каля 150 мкм, якія дазваляюць з аднаго боку мадэляваць плоскую паверхню шкла, а з іншага - забяспечваюць высокую плошчу паверхні, неабходную для забеспячэння аналітычнага сігнала ў эксперыментах. Схемы эксперыментаў і адпаведныя графікі прыведзены на **малюнку 10**.



**Малюнак 10.** – Схема імабілізацыі і функцыяналізацыі АГ на паверхні шкляных шарыкаў; адпаведныя спектры паглынання дыметоксітрытыльнага катыёна, прыведзеныя на масу шкляных шарыкаў і аб’ём раствору для вымярэння з улікам колькасці дыметоксітрытыльных груп у малекуле мадыфікатара

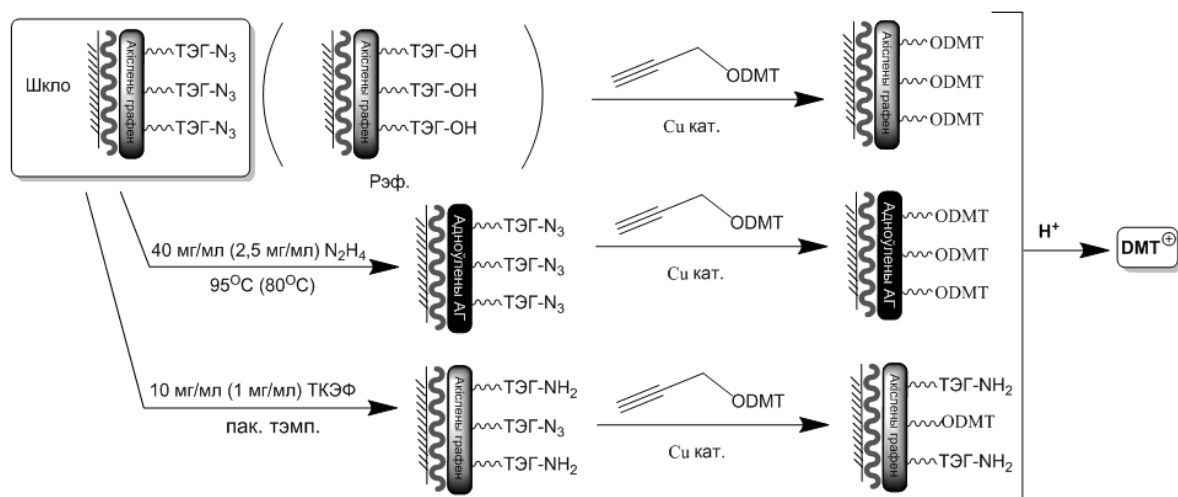
Вынікі эксперыменту, прадстаўленыя ў **табліцы 1**, дэманструюць высокую загрузку па эпаксідных групах АГ, якая складае каля  $1 \text{ нм}^{-2}$ . Значэнні, атрыманыя праз тры розныя сінтэтычныя шляхі, адрозніваюцца не больш чым на 50%.

**Табліца 1.** – Паверхневая шчыльнасць эпаксідных груп АГ ( $\text{нм}^{-2}$ ), вызначаная шляхам дыметоксітрытыльнай функцыяналізацыі

Пачатковая апрацоўка АГ	$A_{\text{max}}(\text{DMT}^+)^*$	Колькасць функцыянальных груп, $\text{нм}^{-2}$
Амінаалкін	$0,85 \pm 0,12$	$1,41 \pm 0,20$
Амінаазід	$0,69 \pm 0,09$	$1,14 \pm 0,13$
Аміна-ДМТ	$0,57 \pm 0,15$	$0,94 \pm 0,25$
Рэф. аміна-ДМТ	$0,11 \pm 0,02$	$0,18 \pm 0,03$
Рэф. амінаазід	$0,14 \pm 0,04$	$0,23 \pm 0,07$
Рэф. амінаалкін	$0,04 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,04$

\*Значэнне нармаванае на колькасць ДМТ груп мадыфікатара, 300 мг шарыкаў і 1 мл раствору для вымярэння.

У наступнай серыі эксперыменту мы правярылі магчымасці аднаўлення АГ у прысутнасці функцыянальных азідных груп. Дадаткова, мы выкарысталі дадзеную сістэму для вывучэння працэсу аднаўлення азідных груп пры дапамозе ТКЭФ у мяккіх умовах. Схемы рэакцый прадстаўлены на **малюнку 11**.



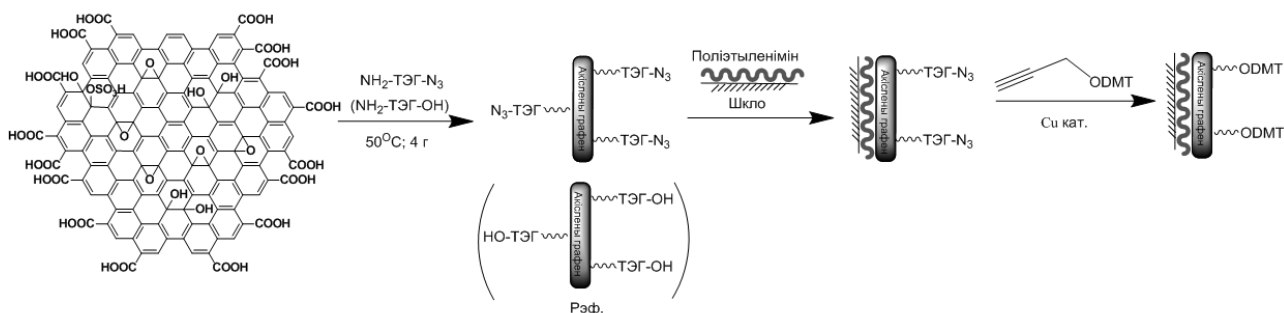
**Малюнак 11. – Схеми аднаўлення азідафункцыяналізаванага АГ на паверхні шкла гідразінам і аднаўлення азідных груп АГ ТКЭФ з наступнай канверсіяй азідных груп атрыманых прадуктаў у дыметокістрытыльныя для колькаснага аналізу**

Вынікі эксперыменту дазваляюць казаць перш за ўсё пра паўтаральнасць значэння загрузкі па азідных групах ( $1,16 \text{ нм}^{-2}$ ). Значэнні загрузкі, атрыманых пасля аднаўлення АГ гідразінам, паказваюць, што нават пры найбольш жорсткіх умовах рэакцыі захоўваецца 46% азідных груп. Выкарыстанне больш мяккіх умоў дазваляе захаваць 84% азідных груп.

Эксперыменты па аднаўленню азідных груп АГ з дапамогай ТКЭФ паказалі высокую эфектыўнасць працэсу пры канцэнтрацыі рэагента 10 мг/мл. Выхад рэакцыі ацэнены па рэшткавай колькасці азідных груп склаў 89%, а з улікам рэфэрэнтнага ўзору – 99%. Змяншэнне канцэнтрацыі рэагента да 1 мг/мл зніжае выхад рэакцыі да 29% [6].

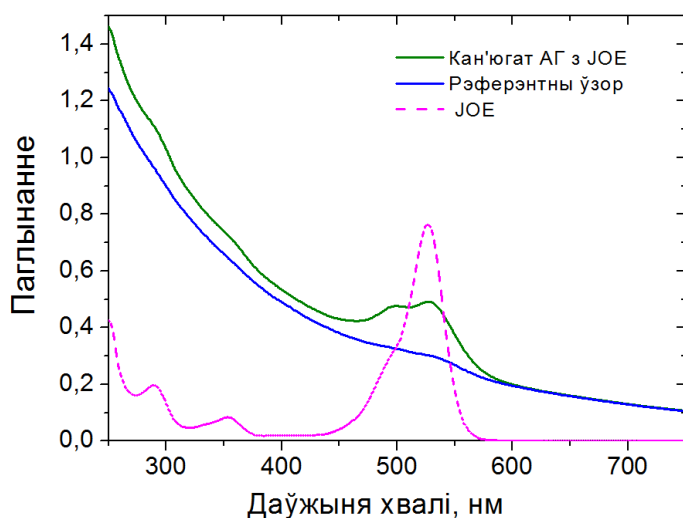
### **Азідафункцыяналізацыя акісленага графену ў раствору. Кан'югацыя з фарбавальнікамі**

Для практычнага сінтэзу біякан'югатаў каштоўнасць уяўляе мадыфікацыя АГ у выглядзе калаіднага раствору. Для даследавання магчымасцяў такой мадыфікацыі мы правялі функцыяналізацыю АГ з дапамогай  $\text{N}_3\text{-[ТЭГ]-NH}_2$  у водным раствору (малюнак 12).



**Малюнак 12. – Схема функцыяналізацыі АГ пры дапамозе  $\text{N}_3\text{-[ТЭГ]-NH}_2$  з наступным аналізам колькасці функцыянальных груп шляхам імабілізацыі на паверхні шкла**

Колькасць азідных груп, вызначаная па спектрах паглынання ДМТ катыёну, складала  $0,73 \text{ нм}^{-2}$  для азідамадыфікаванага калоіднага АГ і  $0,03 \text{ нм}^{-2}$  для



**Малюнак 13.** – Спектры паглынання кан'югата АГ з JOE, атрыманага ва ўмовах, якія забяспечваюць максімальную ступень кан'югацыі пры захаванні калоіднай стабільнасці АГ (спектр JOE прыведзены для параўнання)

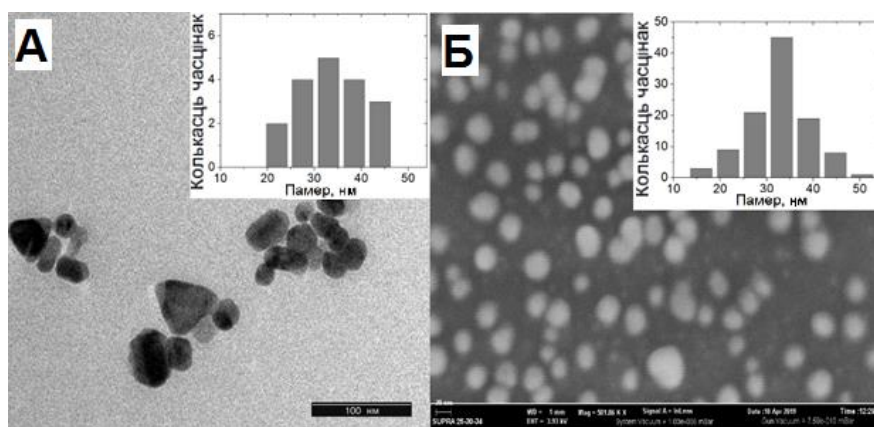
адпаведнага рэферэнтнага ўзору.

Методыка функцыяналізацыі ў водным раствору, такім чынам, дазваляе задзейнічаць каля 63% эпаксідных груп АГ. Гэтыя лічбы яшчэ раз пацвярджаюць вялікі патэнцыял выкарыстання эпаксідных груп АГ для біякан'югацыі.

Атрымаўшы функцыяналізаваны АГ, наступным крокам мы паказалі яго прымянімасць для кан'югацыі на прыкладзе сінтэзу кан'югата АГ з арганічным фарбавальнікам JOE. На **малюнку 13** прыведзены спектры паглынання кан'югата АГ з JOE і адпаведнага рэферэнтнага ўзору [1,6,10].

### Сінтэз і імабілізацыя наначасцінак срэбра на паверхні шкляных чыпаў

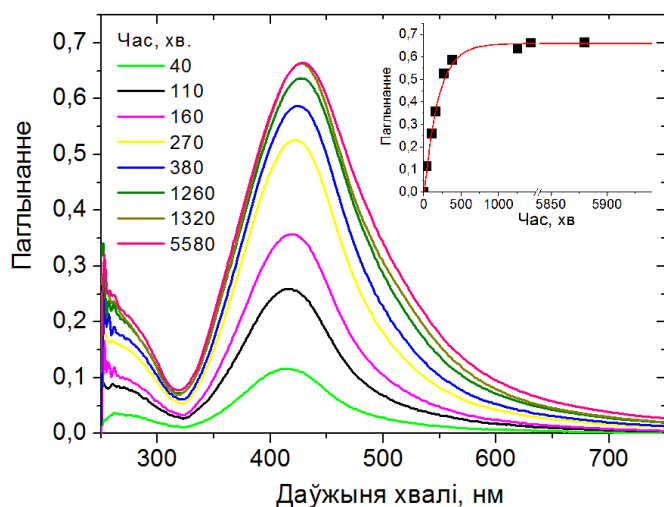
Сінтэз НЧ срэбра ажыццяўлялі з выкарыстаннем методыкі, якая дазваляе фармаваць НЧ аптымальнага для даследавання памеру (30-35 нм). Памер і форму НЧ характарызувалі метадамі электроннай мікраскапіі (СЭМ і ПЭМ) (**малюнак 14**) [7,11].



**Малюнак 14.** – Выявы ПЭМ (А) і СЭМ (Б) НЧ срэбра і адпаведныя гістаграмы размеркавання па памерах



Для фармавання ГКР-актыўных субстратаў (ГКР – гіганцкае камбінацыйнае рассеянне) выкарыстоўвалі шкляныя пласціны. Імабілізацыю НЧ срэбра праводзілі з раствора цытратнага буфера аптымізаванай канцэнтрацыі (малюнак 15).



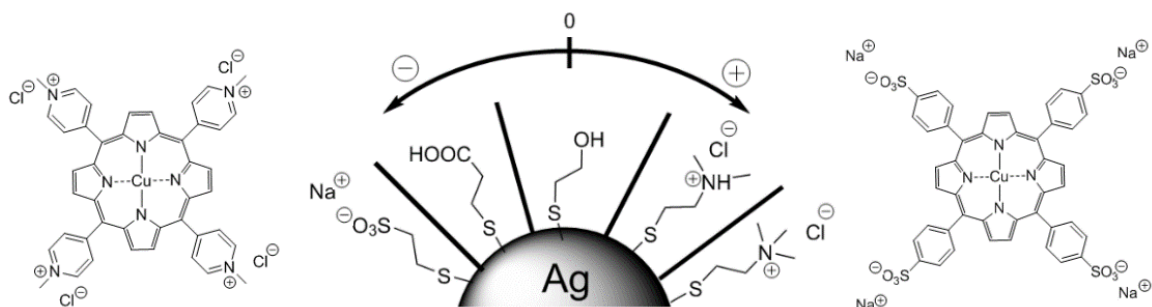
**Малюнак 15. – Кінетыка імабілізацыя НЧ срэбра на паверхні шкляной падложкі (паколькі шкляныя чыпы маюць двухбаковае пакрыццё, то спектры адлюстроўваюць паглынанне двух монаслаёў НЧ)**

Для аналізу шчыльнасці ўпакоўкі атрыманых ГКР-актыўных субстратаў выкарыстоўвалі СЭМ выяву электраправоднай крэмніевай падложкі з аналагічнай мадыфікацыяй паверхні, мяркуючы, што шчыльнасць запаўнення паверхні, у першым набліжэнні, адлюстроўвае гэты параметр для шкляных падложак. Ступень запаўнення падложкі НЧ складала 58%, што знаходзіцца на ўзроўні максімальных апісаных у літаратуры значэнняў для дадзенага метаду імабілізацыі. Дадаткова, ГКР-субстраты характаравалі метадам атамна-сілавой мікраскапіі (АСМ) [7,13].

### **Даследаванне ўплыву электростатычнага фактару на сігнал гіганцкага камбінацыйнага рассеяння праз мадыфікацыю тыоламі**

Для аналізу электростатычнага ўзаемадзеяння мы выкарыстоўвалі шэраг арганічных тыолаў з аднолькавай даўжынёй лінкера і рознымі функцыянальнымі групамі. У якасці аналітаў выкарыстоўвалі два падобных па структуры металапарфірына, якія адрозніваліся знакам зараду (малюнак 16).

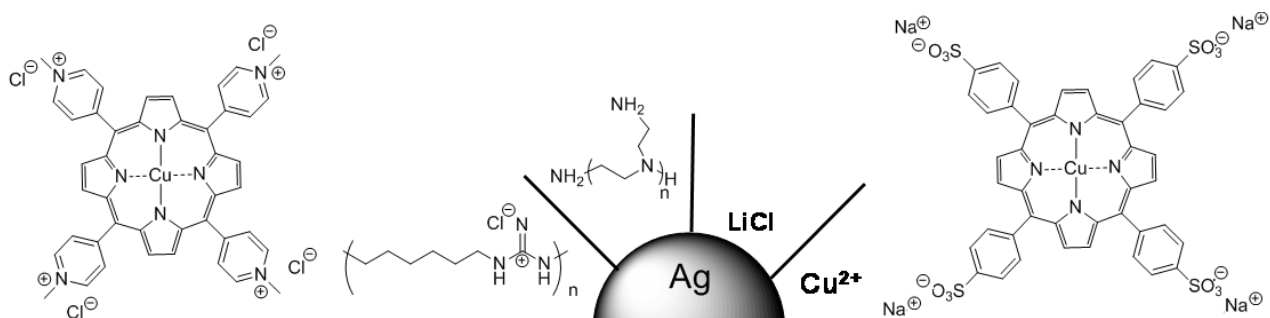
Зыходныя ГКР-актыўныя субстраты не дазвалялі атрымаць спектр адмоўна зараджанага парфірыну і давалі інтэнсіўны сігнал парфірыну, які нёс дадатны зарад. Назіралася змяншэнне інтэнсіўнасці спектра катыённага парфірыну пры пераходзе ад зыходна адмоўнага зараду паверхні срэбра да дадатнага, аж да поўнага знікнення сігналу. Стварэнне дадатнага зараду на паверхні срэбра дазваляе назіраць адсутны для адмоўна зараджанай паверхні срэбра спектр аніённага парфірыну [7].



**Малюнак 16.** – Схема функцыяналізацыі паверхні НЧ срэбра тыяламі, якія маюць розназараджаныя гідрафільныя функцыянальныя групы. Структурныя формулы дадатна і адмоўна зараджаных парфірынаў, якія выкарыстоўвалі ў якасці аналітаў

### Даследаванне іншых метадаў мадыфікацыі срэбра ў кантэксте электростатычнага ўзаемадзеяння з аналітам

У наступнай серыі эксперыментаў мы правярылі ранейшыя паведамленні аб магчымым выкарыстанні палімераў і розных неарганічных рэагентаў для ГКР-актывацыі паверхні срэбра (**малюнак 17**).



**Малюнак 17.** – Схема функцыяналізацыі паверхні НЧ срэбра палімерамі (поліэтыленімін, полігексаметыленгуанідын) і неарганічнымі рэагентамі (хларыд літыю, катыёны медзі). Структурныя формулы дадатна і адмоўна зараджаных парфірынаў, якія выкарыстоўвалі ў якасці аналітаў

Апрацоўка НЧ палімерамі прыводзіла да павелічэння сігнала ГКР дадатна зараджанага парфірыну: 3x кратнага для поліэтыленіміну і 4x кратнага для полігексаметыленгуанідыну. Слабы спектр аніённага парфірыну фіксуецца толькі для полігексаметыленгуанідыну. Апрацоўка хларыдам літыю прыводзіла да 3x кратнага павелічэння інтэнсіўнасці сігнала катыённага парфірыну пры адсутнасці спектра аніённага парфірыну. У прысутнасці іонаў медзі інтэнсіўнасць спектра ГКР катыённага парфірыну змяншаецца прыкладна ў 5 разоў. Пры гэтым, з'яўляецца слабаінтэнсіўны спектр аніённага парфірыну [7,11].

## **Аналіз мечанага фарбавальнікам алігануклеатыду шляхам спектраскапіі гіганцкага камбінацыйнага рассеяння**

Для вывучэння фактару электростатычнага ўзаемадзеяння сярод іншых біямалекул алігануклеатыды ўяўляюць найбольшую цікавасць праз практычна поўную адсутнасць дадатна зараджаных груп і вялікую колькасць адмоўна зараджаных фасфатных груп. Для больш надзейнай рэгістрацыі спектраў быў абраны алігануклеатыд, мечаны тушыцелем ВНQ1, які мае характэрныя лініі ў спектры ГКР.

Сярод прыведзеных раней метадаў мадыфікацыі паверхні срэбра (**малюнак 17**) толькі дадатак катыёнаў медзі ў раствор дазволіў атрымаць задавальняючы спектр ГКР аніённага парфірыну [7]. Наяўнасць спектра катыённага парфірыну, аднак, указвае на тое, што ў прысутнасці іонаў медзі на паверхні срэбра не ствараецца моцнага дадатнага зараду. Тыхалінавая мадыфікацыя паверхні НЧ не дазволіла атрымаць спектр ГКР алігануклеатыда. Рэгістрацыя спектра мечанага фарбай алігануклеатыда толькі ў прысутнасці катыёнаў медзі дазваляе меркаваць, што менавіта перазарядка адмоўна зараджанага аналіта – галоўны фактар у гэтым выпадку. Меркаванне падмацоўваецца адсутнасцю сігналаў ГКР аніённага аналіта ў прысутнасці іонаў магнію, якія нашмат слабей узаемадзейнічаюць з алігануклеатамі і з'яўляюцца па сваёй прыродзе менш здольнымі да комплексаўтварэння.

## **ЗАКЛЮЧЭННЕ**

### **Асноўныя навуковыя вынікі дысертацыі**

1. Шляхам рэакцыі цыкладалучэння, праматаванага напружаннем у цыкле, атрыманы новыя кан'югаты квантавых кропак з фарбавальнікам JOE з рознай колькасцю малекул фарбавальніка на адну квантавую кропку і пераносам энергіі. Атрыманы спектры паглынання і люмінесцэнцыі названых кан'югатаў, што дазволіла даследаваць працэс кан'югацыі з фарбавальнікам ў рэжыме рэальнага часу за кошт тушэння люмінесцэнцыі квантавых кропак. Сінтэзаваны кан'югаты квантавых кропак з люмінесцэнтна мечаным бычыным сываратачным альбумінам, кан'югат квантавых кропак з алігануклеатыдным дуплексам і вызначаны іх аптычныя ўласцівасці, якія дазволілі пацвердзіць кавалентнае звязванне кампанентаў кан'югатаў [3,4,12,14].

2. Пры дапамозе адмоўна зараджаных карбокси-мадыфікаваных водарастваральных палімер-інкапсуляваных квантавых кропак і адмоўна зараджанага арганічнага фарбавальніка JOE, а таксама рэакцыі цыкладалучэння, праматаванага напружаннем у цыкле, атрыманы колькасныя даныя аб уплыве электростатычнага ўзаемадзеяння на эфектыўнасць кан'югацыі. Паказана, што залежнасць хуткасці рэакцыі ад паверхневай загрузкі функцыянальных груп квантавых кропак мае блізкі да лінейнага характар [3,4,12,14].

3. Вызначаны ўплыў электростатычнага ўзаемадзеяння квантавых кропак з аніённай і цвітар-іоннай структурай паверхні, якія мелі аднолькавую колькасць функцыянальных азідных груп і розны дзэта-патэнцыял, на рэакцыю з адмоўна зараджаным алігануклеатыдным дуплексам. Паказана перавага выкарыстання квантавых кропак з цвітар-іоннай структурай паверхні для сінтэзу кан'югатаў з алігануклеатадамі [4,9].

4. Распрацавана новая методыка функцыяналізацыі паверхні шкла і крэмнію поліэтыленімінам, сутнасць якой палягае ў нуклеафільным замяшчэнні хлорпрапільных груп шкла (крэмнію), мадыфікаванага 3-хлорпрапілтрыхлорсіланам, амінагрупамі разгалінаванага поліэтыленіміну з малекулярнай масай 25 кДа. Паказана здольнасць атрыманага шкла да эфектыўнай імабілізацыі наначасцінак срэбра, акісленага графену [5,6,7,8,11,13].

5. Прапанаваны новы метады візуалізацыі акісленага графену, які заключаецца ў яго адсарбцыйнай імабілізацыі на паверхні электраправоднай крэмніевай падложкі, функцыяналізаванай поліэтыленімінам, і запаўненні незанятых графенам частак падложкі наначасцінкамі срэбра шляхам іх адсарбцыйнай імабілізацыі [2,6,8].

6. Прапанаваны новы метады вызначэння паверхневай колькасці функцыянальных груп у структуры акісленага графену, заснаваны на імабілізацыі акісленага графену на паверхні шкла, мадыфікаванага поліэтыленімінам, хімічнай трансфармацыі функцыянальных груп у дыметокістрытыльныя і наступным фотаметрычным вызначэнні. Праведзена вызначэнне паверхневай шчыльнасці актыўных эпаксідных груп у структуры акісленага графену, а таксама колькаснае даследаванне стабільнасці мадыфікацыі акісленага графену, уведзеных праз эпоксі-амінавае ўзаемадзеянне, пры аднаўленні гідразінам [1,6,10].

7. Паказана, што дадатак іонаў медзі ў аналіт дазваляе ажыццявіць перазарадку нуклеінавых кіслот, у прыватнасці, алігануклеатадаў, і прыводзіць да актывацыі іх сігналу гіганцкага камбінацыйнага рассеяння. Інверсія зараду аналіту, такім чынам, прапанавана ў якасці падыходу для актывацыі ГКР-сігналу аніённых аналітаў на ГКР-субстратах на аснове нанасрэбра [7,11].

### **Рэкамендацыі па практычным выкарыстанні вынікаў**

Кан'югаты квантавых кропак, акісленага графену, наначасцінак срэбра з бялкамі і алігануклеатадамі з'яўляюцца перспектыўнымі для стварэння разнастайных біяаналітычных сістэм з павышанай чулліvasцю. Прапанаваныя метады характарызацыі акісленага графену адкрываюць магчымасці для яго стандартызацыі і практычнага ўкаранення. Атрыманыя даныя адносна ўласцівасцяў ГКР-актыўных субстратаў на аснове срэбраных наначасцінак перспектыўны для стварэння аналітычных сістэм, прыдатных для аналізу шырокага кола арганічных рэчываў.

### Спіс публікацый саіскальніка

#### *Артыкулы ў рэцензаваных навуковых часопісах:*

1. Поведайло, В.А. Тушение флуоресценции красителей оксидом графена / В.А. Поведайло, **Б.В. Ронишенко**, В.И. Степура, Д.А. Цыбульский, В.В. Шманай, Д.Л. Яковлев // Журнал прикладной спектроскопии. – 2018. – Т. 85, № 4. – С. 550–556.
2. Круглик, А.С. Тушение флуоресценции акваионов  $[\text{Ce}(\text{H}_2\text{O})_n]^{3+}$  оксидом графена / А.С. Круглик, Г.Е. Малашкевич, В.А. Поведайло, **Б.В. Ронишенко**, В.А. Толкачев, Д.Л. Яковлев // Журнал прикладной спектроскопии. – 2019. – Т. 86, № 3. – С. 339–344.
3. **Ронишенко, Б.В.** Контролируемая функционализация водорастворимых полупроводниковых квантовых точек для биоконъюгации / **Б.В. Ронишенко**, Е.А. Улащик, А.С. Круглик, М.Ю. Татульченков, А.В. Радченко, В.В. Шманай, М.В. Артемьев // Журнал прикладной спектроскопии. – 2019. – Т. 86, № 6. – С. 954–961.
4. **Ranishenka, B.** Electrostatic Repulsion Controls Efficiency of Cu-free Click-Reaction with Azide-Modified Semiconductor Quantum Dots / **B. Ranishenka**, E. Ulashchik, A. Radchanka, V. Shmanai, M. Artemyev // ChemNanoMat. – 2020. – Vol. 6, № 2. – P. 292-297.
5. Челнокова, И.А. Изучение геометрических и механических свойств наночастиц разной природы с помощью атомно-силовой микроскопии в режиме PeakForce QNM / И.А. Челнокова, **Б.В. Ронишенко**, М.Н. Стародубцева // Проблемы здоровья и экологии. – 2020. – № 2 (64). – С. 143–148.
6. **Ranishenka, B.** Graphene oxide functionalization via epoxide ring opening in bioconjugation compatible conditions / **B. Ranishenka**, E. Ulashchik, M. Tatulchenkov, O. Sharko, N. Dremova, A. Panarin, V. Shmanai // FlatChem. – 2021. – Vol. 27. – P. 100235.
7. **Ranishenka, B.V.** Modification of Ag SERS-active surface to promote charged analytes adsorption: effect of  $\text{Cu}^{2+}$  ions / **B.V. Ranishenka**, A.Yu. Panarin, I.A. Chelnokova, S.N. Terekhov, P. Mojzes, V.V. Shmanai // Beilstein Journal of Nanotechnology. – 2021. – Vol. 12. – P. 902–912.

#### *Тэзісы дакладаў:*

8. **Ранішэнка, Б.В.** Двумерныя ансамблі малекул фулярэна і наначасцінак срэбра на паверхні шкла для стварэння біясэнсараў / **Б.В. Ранішэнка** // Сборник материалов XIII международной научной конференции молодых ученых «Молодежь в науке 2016», Минск, 22-25 ноября 2016 г. / НАН Беларуси. – Минск, 2016. – С. 361.
9. **Ранішэнка, Б.В.** Азід-сульфатная функцыяналізацыя паверхні водарастваральных паўправадніковых квантавых кропак / **Б.В. Ранішэнка**, А.В.

Радчанка // Сборник материалов XIV международной научной конференции молодых ученых «Молодежь в науке 2017», Минск, 30 окт. - 2 ноября 2017 г. / НАН Беларуси. – Минск, 2017. – Ч. 2 – С. 392–397.

10. Поведайло, В.А. Тушение флуоресценции ксантеновых красителей оксидом графена / В.А. Поведайло, **Б.В. Ронишенко**, Д.В. Цыбульский, В.В. Шманай, Д.Л. Яковлев // Сборник докладов VIII международной научной конференции «Актуальные проблемы физики твердого тела ФТТ-2018», Минск, 24-28 сент. 2018 г. / НПЦ НАН Беларуси по материаловедению; ред.: М.М. Олехнович. – Минск, 2018. – Т. 2 – С. 264–266.

11. **Ранишенко, Б.В.** Модификация поверхности плазмонных наноструктур для спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния биомолекул / **Б.В. Ранишенко**, Г. Исич, П. Мойзес, С.Н. Терехов, А.Ю. Панарин // Взаимодействие излучений с твердым телом: материалы 13-й Международной конференции, Минск, 30 сент. - 3 окт. 2019 г. / БГУ; редкол.: В.В. Углов [и др.] – Минск, 2019. – С.485–488.

12. **Ranishenka, B.V.** Controlled Functionalization of Water-Soluble Semiconductor QDs For Bioconjugation / **B.V. Ranishenka**, E.A. Ulaschick, A.S. Kruhlik, A.V. Radchanka // Тезисы докладов XVI международной научной конференции молодых ученых «Молодежь в науке 2019», Минск, 14-17 окт. 2019 г. / НАН Беларуси; редкол.: В.Г. Гусаков (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2019. – С. 520–521.

13. Челнокова, И.А. Изучение наночастиц биологического и неорганического происхождения методом атомно-силовой микроскопии / И.А. Челнокова, **Б.В. Ронишенко**, М.Н. Стародубцева / Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: тез. докл. междунар. науч. конф., Четырнадцатого съезда Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков, Минск, 17-19 июня. 2020 г. / БГУ; редкол.: И. Д. Волотовский (отв. ред.) [и др.] – Минск, 2020. – С. 214.

14. **Ranishenka, B.V.** Tunable modification of water-soluble semiconductor QDs for bioconjugation / **B.V. Ranishenka**, E.A. Ulaschick, A.S. Kruhlik, A.V. Radchanka // 8th International School and Conference «Saint Petersburg OPEN 2021» on Optoelectronics, Photonics, Engineering and Nanostructures: Abstract book, St. Petersburg, 25-28 May, 2021 / HSE University; Chief Editor: A.E. Zhukov – St. Petersburg, 2021. – P. 426.

**РЭЗІЮМЭ**

Ранішэнка Багдан Вячаслававіч

**Сінтэз кан'югатаў бялкоў і нуклеінавых кіслот з неарганічнымі нанаматэрыяламі: квантавымі кропкамі, акісленым графенам і наначасцінкамі срэбра**

**Ключавыя словы:** квантавыя кропкі, акіслены графен, наначасцінкі срэбра, гіганцкае камбінацыйнае рассеянне, біякан'югацыя, клік-хімія, функцыяналізацыя, электростатычнае ўзаемадзеянне, алігануклеатыды, бялкі.

**Мэта працы:** распрацаваць новыя эфектыўныя метады сінтэзу кан'югатаў неарганічных нанаматэрыялаў (паўправадніковых квантавых кропак, акісленага графену, наначасцінак срэбра) з бялкамі і нуклеінавымі кіслотамі.

**Метады даследавання:** прасвечваючая і скануючая электронная мікраскапія; атамна-сілавая мікраскапія; спектрафотаметрыя УФ-бачнай вобласці спектра; інфрачырвоная спектрыя; спектрыя камбінацыйнага рассеяння; дынамічнае светарассеянне; спектрафлуарыметрыя; элементны аналіз.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна:** Упершыню атрыманы колькасныя даныя аб уплыве электростатычнага ўзаемадзеяння на кан'югацыю паўправадніковых квантавых кропак з арганічным фарбавальнікам і алігануклеатыдным дуплексам. Сінтэзаваны новыя кан'югаты квантавых кропак з фарбавальнікам JOE з пераносам энергіі з рознай колькасцю малекул фарбы на квантавую кропку, вызначаны іх аптычныя ўласцівасці. Распрацавана метадыка мадыфікацыі паверхні шкла і крэмію поліэтыленіінам для імабілізацыі плазмонных наначасцінак і акісленага графену. Прапанаваны новы метады вызначэння колькасці функцыянальных груп на паверхні акісленага графену, заснаваны на яго імабілізацыі на паверхні шкла з наступнай хімічнай мадыфікацыяй. Распрацаваны метады візуалізацыі графену на здымках скануючай электроннай мікраскапіі праз адсарбцыйную імабілізацыю наначасцінак срэбра. Дадатак іонаў медзі ў аналіт прапанаваны для актывацыі сігналу гіганцкага камбінацыйнага рассеяння аніённых аналітаў пры выкарыстанні нанаструктураваных ГКР-субстратаў на аснове срэбра.

**Рэкамендацыі па выкарыстанню:** Вынікі даследавання перспектыўны для практычнага ўкаранення неарганічных нанаматэрыялаў у якасці кампанентаў разнастайных біясэнсараў.

**Вобласць прымянення:** біяарганічная хімія, біяаналітычная хімія, медыцына.

## РЕЗЮМЕ

Ронищенко Богдан Вячеславович

### **Синтез конъюгатов белков и нуклеиновых кислот с неорганическими наноматериалами: квантовыми точками, окисленным графеном и наночастицами серебра**

**Ключевые слова:** квантовые точки, окисленный графен, наночастицы серебра, гигантское комбинационное рассеяние, биоконъюгация, клик-химия, функционализация, электростатическое взаимодействие, олигонуклеотиды, белки.

**Цель работы:** разработать новые эффективные методы синтеза конъюгатов неорганических наноматериалов (полупроводниковых квантовых точек, окисленного графена, наночастиц серебра) с белками и нуклеиновыми кислотами.

**Методы исследования:** просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия; атомно-силовая микроскопия; спектрофотометрия УФ-видимой области спектра; инфракрасная спектроскопия; спектроскопия комбинационного рассеяния; динамическое рассеяние света; спектрофлуориметрия; элементный анализ.

**Полученные результаты и их новизна:** Впервые получены количественные данные о влиянии электростатического взаимодействия на конъюгацию полупроводниковых квантовых точек с органическим красителем и олигонуклеотидным дуплексом. Синтезированы новые конъюгаты квантовых точек с красителем JOE с переносом энергии с различным числом молекул красителя на квантовую точку, определены их оптические свойства. Разработана методика модификации поверхности стекла и кремния полиэтиленгликолем для иммобилизации плазмонных наночастиц и окисленного графена. Разработан новый метод определения количества функциональных групп на поверхности окисленного графена, основанный на его иммобилизации на стекле с последующей химической модификацией. Разработан метод визуализации графена на изображениях сканирующей электронной микроскопии путем адсорбции наночастиц серебра. Для активации сигнала анионных аналитов в спектрах гигантского комбинационного рассеяния при использовании наноструктурированных субстратов на основе серебра предложено добавление ионов меди к аналиту.

**Рекомендации по использованию:** Результаты исследования перспективны для практического внедрения неорганических наноматериалов в качестве компонентов разнообразных биосенсоров.

**Область применения:** биоорганическая химия, биоаналитическая химия, медицина.



## SUMMARY

Ranishenka Bahdan Vyacheslavovich

### **Synthesis of conjugates of proteins and nucleic acids with inorganic nanomaterials: quantum dots, oxidized graphene and silver nanoparticles**

**Keywords:** quantum dots, graphene oxide, silver nanoparticles, surface-enhanced Raman scattering, bioconjugation, click chemistry, functionalization, electrostatic interaction, oligonucleotides, proteins.

**The aim of the work:** to develop new efficient methods for the synthesis of conjugates of inorganic nanomaterials (semiconductor quantum dots, oxidized graphene, silver nanoparticles) with proteins and nucleic acids.

**The investigation methods:** transmission and scanning electron microscopy; atomic force microscopy; UV-visible spectroscopy; infrared spectroscopy; Raman spectroscopy; dynamic light scattering; spectrofluorimetry; elemental analysis.

**Results and their novelty:** Quantitative data on the effect of electrostatic interaction on semiconductor quantum dots with an organic dye and an oligonucleotide duplex conjugation have been obtained for the first time. New quantum dot conjugates with JOE dye with energy transfer and different number of dye molecules per quantum dot have been synthesized, and their optical properties have been determined. A method for the glass and silicon surface modification with polyethyleneimine has been developed for plasmonic and graphene oxide nanoparticles immobilization. A new method for quantification of graphene oxide surface functional groups, based on its immobilization on the glass surface, followed by chemical modification has been developed. A method for scanning electron microscopy graphene visualization by adsorption of silver nanoparticles has been developed. To activate surface-enhanced Raman scattering signal of anionic analytes for nanostructured silver-based SERS-substrates, copper ions addition to the analyte has been proposed

**Recommendations for use:** The results of the study are promising for the practical implementation of the inorganic nanomaterials as components of diverse biosensors.

**Scope:** bioorganic chemistry, bioanalytical chemistry, medicine.