

СОЗДАНИЕ И СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТОНКИХ ПЛЕНОК ЛИЗОЦИМА

Р.Л.Каюшина, Н.Д.Степина, В.В.Беляев, Ю.И.Хургин*,
А.Л.Толстихина, В.В.Клечковская

Институт кристаллографии РАН, Москва, Россия

*Институт органической химии РАН, Москва, Россия.

Получение тонких пленок с контролируемой на молекулярном уровне структурой и толщиной пленок представляет интерес для решения ряда проблем электроники и сенсорной технологии. Принцип самоорганизации молекулярных структур заложен в методике получения пленок, основанной на электростатическом притяжении противоположно заряженных функциональных групп, взаимодействующих полиэлектролитов в растворе [1]. Линейные полиэлектролиты способны адсорбировать и биологические макромолекулы. В работе показана возможность создания методом самоорганизации мультислойных структур, включая глобулярный белок лизоцим.

Иммобилизация молекул лизоцима белка куриного яйца проводилась на предварительно создаваемую мультислойную пленку (прекурсор), получающуюся чередующейся адсорбцией полианиона -полистиролсульфоната натрия (ПСС) и поликатиона - полиаллиламина гидрохлорида (ПАА). Пленку наносили на стеклянные и кремневые подложки - пластины размером 10x40x2 мм. Подготовку подложек для последовательной адсорбции полиэлектролитов проводили по методике, описанной в [2]. Оптимальным для нанесения белкового слоя и структурных исследований образцов оказался прекурсор, состоящий из шести-восьми пар ПСС/ПАА. Непосредственно перед адсорбцией белка на прекурсор наносили свежий слой ПСС, адсорбцию белка проводили из водного раствора лизоцима (0.6 мг/мл, pH 4).

Структурный контроль за процессом формирования мультислойных пленок осуществляли методом рентгеновской рефлексометрии. Измерения проводили на малоугловом автоматическом дифрактометре АМУР-К с линейным позиционночувствительным детектором в интервале углов рассеяния от 0.5 до 2.5°. Определяли толщину пленки по угловому расстоянию между соседними максимумами осцилляций Киссинга, возникающими на кривой рентгено-

новского рассеяния в результате интерференции рентгеновских лучей, отраженных от границ раздела пленка/подложка и пленка/воздух. Показано, что толщина пленки линейно увеличивается с увеличением числа слоев полиэлектролитного комплекса (ПСС/ПАА). Общая толщина пленки прекурсора составляла 300-350 Å. Средняя толщина слоя ПСС/ПАА - 37 Å. Толщина адсорбционного слоя лизоцима составляет около 45 Å ($\pm 5\%$), что согласуется с размерами молекулы белка, оцененным по данным рентгеноструктурного анализа.

На ленгмюровской установке сняты Р-А изотермы слоя лизоцима, организованного на поверхности водной субфазы различного состава. Слой лизоцима с субфазы переносили на кремниевые подложки.

Проведено электронографическое исследование пленок прекурсора и прекурсора с лизоцимом. Полиэлектронные пленки имеют аморфную структуру, однако, на электронограммах присутствуют гало-кольца с межплоскостным расстоянием 4.5 Å и 2.08 Å.

Для исследования топографии поверхности пленок был применен метод атомно-силовой микроскопии. Изображения поверхности были получены на воздухе с помощью сканирующего атомно-силового микроскопа Р4-SPM-МДТ (Москва) с областью сканирования 3x3 μm^2 при контактном взаимодействии с поверхностью стандартного кантилевера из нитрида кремния.

Для объяснения процесса самоорганизации молекул лизоцина в монослой была привлечена модель распределения поверхностных зарядов на молекуле лизоцима по координатам атомов молекулы в кристаллическом состоянии (6Lys Protein Data Bank).

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект N 96-04-50330).

Литература.

1. Lvov Y., Decher G., Mohwald H., Langmuir. 1993. V.9.P.481.
2. Р.Л.Каюшина, Н.Д.Степина, В.В.Беляев, Ю.И.Хургин, Кристаллография, 1996, том 41, N 1, с.156-161