

ДЕТЕКТИРОВАНИЕ СПЕКТРОВ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА ВЫСОКОГО СПЕКТРАЛЬНОГО РАЗРЕШЕНИЯ В КОРОТКИХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДАХ: СРАВНЕНИЕ СО СПЕКТРАМИ ПОЛНОРАЗМЕРНЫХ ДНК

Ф.Б. Байрамов^{1,2}

В.В. Топоров²

Е.Д. Полоскин²

А.Л. Чернев¹

М.В. Дубина¹

Г. Липсанен³

Б.Х. Байрамов²

pharrid@gmail.com

toporov@mail.ioffe.ru

e.poloskin@mail.ioffe.ru

chernev.andrew@gmail.com

michael.dubina@gmail.com

bairamov@mail.ioffe.ru

¹ Санкт-Петербургский Академический университет — Научно-образовательный центр нанотехнологий РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ Университет Аалто, Аалто, Финляндия

Аннотация

Представлены результаты исследования спектров высокого спектрального разрешения высокочувствительным методом нерезонансного комбинационного рассеяния света в биомакромолекулах на примере одноцепочных коротких олигонуклеотидов d(20G, 20T). Обнаружение узких спектральных линий позволило определить характерный масштаб времен колебательных возбуждений и дает возможность изучения динамики быстропротекающих релаксационных процессов колебательных движений атомов в биомакромолекулах. Так, для одной из наиболее узких линий при $1355,4 \text{ см}^{-1}$, приписываемой колебаниям метильной группы dT, показано, что полная ширина линии на половине ее высоты составляет $14,6 \text{ см}^{-1}$ и соответствующее время жизни оказалось равным $0,38 \text{ пс}$. Выполнено сравнение полученных спектров с полными спектрами комбинационного рассеяния света высушенной полномерной ДНК телят, определенными с высоким спектральным и пространственным разрешением и обнаруженными в широком спектральном диапазоне частот рассеянного света $6...4000 \text{ см}^{-1}$. Полученные результаты показывают, что короткие олигонуклеотиды могут быть использованы в качестве удачных модельных объектов для исследования молекулярной структуры ДНК при изучении их вторичных структур. Они могут быть востребованными и при создании и исследовании на основе таких коротких олигонуклеотидов различных комплексов с неорга-

Ключевые слова

Олигонуклеотиды, ДНК, спектроскопия комбинационного рассеяния света

ническими полупроводниковыми наноструктурами. Представленные результаты открывают новые возможности для проведения теоретических и экспериментальных исследований, необходимых для достижения более глубокого понимания фундаментальной взаимосвязи структура–свойства комплексов квантоворазмерных полупроводниковых наноструктур и биомолекул и, следовательно, интересны для бурно развивающихся в настоящее время направлений нанобиоэлектроники

Поступила в редакцию 13.10.2016
© МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2017

Работа выполнена при финансовой поддержке программ фундаментальных исследований Президиума РАН № 24, Санкт-Петербургского научного центра РАН по комплексным междисциплинарным проектам, гранта Президента РФ НШ-3008.2012.2, проекта Академии Финляндии по программируемым материалам № 263 566 и проекта Финского агентства по поддержке технологий и инноваций (Tekes) по функциональным материалам Granbis

Введение. Короткие синтетические олигонуклеотиды, являющиеся фрагментами дезоксирибонуклеиновых (ДНК) или рибонуклеиновых (РНК) кислот, представляют собой линейные полимеры, состоящие из фрагментов нуклеотидов с заданной химической структурной последовательностью. В свою очередь, нуклеотиды являются комбинацией азотистого основания, рибозы или дезоксирибозы и остатка фосфорной кислоты. Лигонуклеотиды находят многофункциональное применение во многих областях современной молекулярной биологии, генетической инженерии и медицине [1]. Они используются в качестве зондов для определения комплементарных последовательностей ДНК и РНК или праймеров для секвенирования и амплификации ДНК при проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР), которая является одним из важнейших достижений молекулярной биофизики, позволяющей многократно копировать и получать большие фрагменты исследуемых последовательностей ДНК. Для проведения ПЦР применяются различные реакционные смеси, основной компонент которых — синтетические олигонуклеотиды, служащие затравкой — отправной точкой для начала синтеза новой цепи нуклеиновых кислот ферментом ДНК полимеразой. На основе коротких синтетических олигонуклеотидов также интенсивно развиваются новые направления биотехнологии, связанные с конструированием и созданием новейших лекарственных препаратов. Поэтому правильный дизайн, синтез и методы оценки степени чистоты олигонуклеотидов на молекулярном уровне, определяющие эффективность амплификации и их последующее применения, имеют решающее значение.

Синтез коротких олигонуклеотидов с заранее заданными химическими составными элементами и с определенной последовательностью мононуклеотидов — высокотехнологичный, трудоемкий и дорогостоящий процесс. Он осуществляется наиболее экономичным способом с помощью интенсивно развиваемых методов автоматического параллельного синтеза на многоканальных синтезаторах. Они

синтезируются в несколько этапов, как правило, в одной емкости. При этом используют реагенты очень высокой степени чистоты, очистка которых осуществляется с применением важнейших методов высокоэффективной жидкостной хроматографии, либо электрофореза в полиакриламидном геле. Несмотря на все эти достижения, различные постсинтетические обработки, такие как удаление из его состава различных защитных функциональных групп, непрореагированных реагентов и недостроенных продуктов, не способствуют получению особочистых олигонуклеотидов.

Актуальность. Синтез высокочистых олигонуклеотидов очень важен как в научных, так и в технологических целях. Чрезвычайно важны исследования, направленные на изучение механизмов структуры и взаимодействия между отдельными атомами, молекулами и функциональными группами олигонуклеотидов, а также зависимостей от физико-химических свойств окружающей среды. Актуальная проблема — разработка новых высокоэффективных методов исследования структуры олигонуклеотидов на молекулярном уровне.

Существующие проблемы. Обычно визуализация и выявление олигонуклеотидов осуществляются с помощью флуоресцентных красителей, которые встраиваются между отдельными моонуклеотидами. Основным недостатком такого метода является то, что увеличение флуоресценции в процессе ПЦР может быть связано с накоплением неспецифического продукта. Кроме того, атомы и молекулы красителей вступают в химические реакции с атомами и молекулами олигонуклеотидов. Поэтому для получения корректных результатов о молекулярной структуре и о механизмах межмолекулярных взаимодействий необходимы новые методы, не основанные на использовании олигомеров, содержащих такие метки.

Эффективным аналитическим методом исследования структуры материалов на молекулярном уровне является спектроскопия комбинационного (рамановского) рассеяния света. С обнаружением эффекта гигантского поверхностного усиления [2–4] комбинационного рассеяния (Surface Enhanced Raman Scattering, SERS) на 6–12 порядков величины в присутствии металлических наноструктур, на которых адсорбируются органические молекулы, интерес к этому важному явлению привлекает все более возрастающее внимание исследователей [5–21]. Значительный интерес к SERS, кроме фундаментального научного интереса, связан с появлением возможности создания высокочувствительных аналитических методик, а также с развитием высокоселективных биосенсорных технологий с вовлечением в исследования все новых высокоэффективных наноструктурированных материалов разных металлов [21]. Для получения большого отклика системы важно, чтобы агрегирующие металлические наночастицы образовывали дискретные кластеры. Для их образования используются различные красители, адсорбированные на наночастицах, и к такому модифицированному кластеру присоединяются молекулы ДНК.

Несмотря на отсутствие установившегося единого мнения о механизмах такого усиления, полагается, что поверхностно-усиленное комбинационное рас-

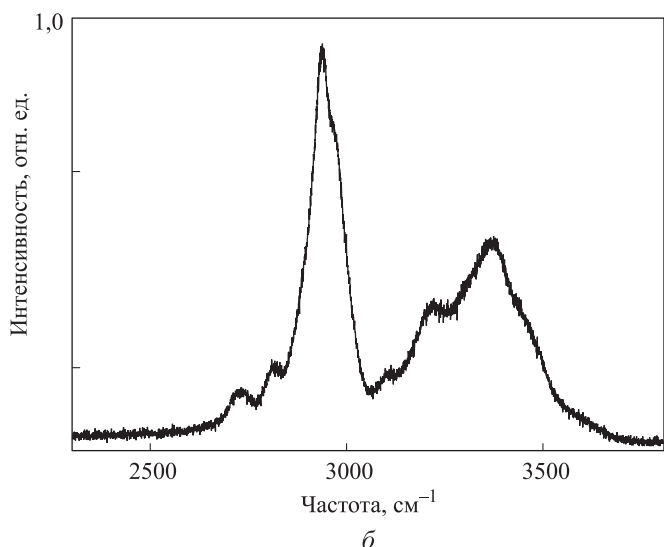
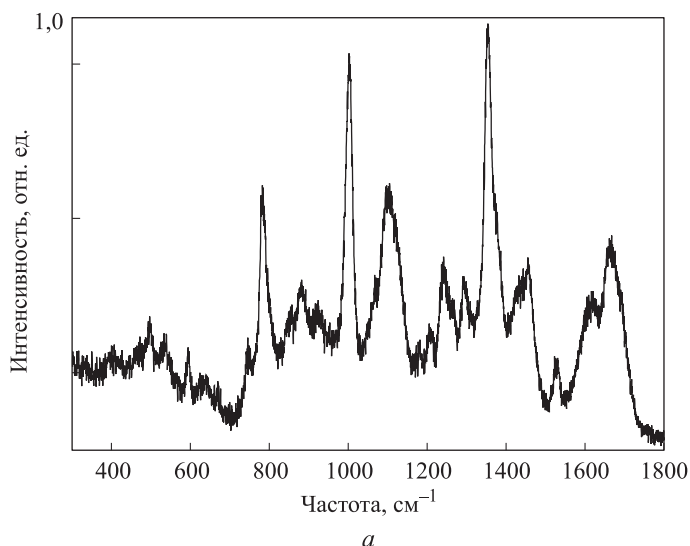
сеяние света вызывается совместным действием двух механизмов усиления — электромагнитного [5–7] и химического [8, 10, 12]. Большинство исследователей полагает, что электромагнитный механизм является доминирующим механизмом усиления. Он обуславливается значительным усилением напряженности локального электрического поля падающей световой волны вблизи шероховатостей поверхности металлических частиц путем резонансного возбуждения локализованных плазменных колебаний. При этом параметры такого резонансного возбуждения, масштаб усиления и спектральные характеристики существенно зависят от морфологии поверхности, проводимости металла и свойств диэлектрического окружения [21]. Кроме того, для адсорбированных молекул, находящихся в непосредственном контакте с металлической поверхностью, может иметь место дополнительное усиление, обусловленное возникновением связи электронных орбиталей молекулы и состояний зоны проводимости металла. Масштаб такого усиления может достигать одного-двух порядков величины [8], но при этом может образовываться комплекс адсорбированной молекулы и металлической наночастицы.

В результате действия этих двух эффектов возникающие внутренние гигантские электрические поля и комплексообразование молекул сильно зависят от ряда физико-химических свойств рассматриваемой системы и могут существенно влиять на спектральные параметры соответствующих линий рассеянного света.

Задача исследования. Ключом к более корректным исследованиям может быть развитие высокочувствительных методов молекулярной спектроскопии в отсутствие металлических наноструктур и флуоресцентных меток. Результаты, полученные в настоящей работе, показывают следующее: разработанная альтернативная высокочувствительная методика нерезонансной спектроскопии неупругого рассеяния света высокого спектрального разрешения может быть использована для изучения молекулярной структуры и выяснения химической природы межмолекулярных и внутримолекулярных взаимодействий в синтетических олигонуклеотидах.

Экспериментальная часть. Исследования комбинационного рассеяния света выполнены для одноцепочных олигонуклеотидов 20G (гуанин) и 20T (тимин) нуклеотидных оснований — d(20G, 20T), синтезированных твердофазным амидофосфитным методом. Возбуждение спектров комбинационного рассеяния света осуществлялось излучением второй гармоники лазера на алюмоиттриевом гранате с длиной волны $\lambda_i = 532,17$ нм по методике, приведенной в работах [22–24]. Спектральный состав рассеянного света анализировался с помощью спектрометра *LabRAM HR800* (Франция) с охлаждаемой ПЗС-матрицей в качестве детектора. Излучение мощностью 0,05 мВт фокусировалось на поверхность образца с использованием микроскопного объектива (*Olympus*) со 100-кратным увеличением. Диаметр пятна лазерного излучения в фокусе составлял 0,9 мкм, что определяло пространственное разрешение измерительной системы. Спектральное разрешение равно 2 см^{-1} .

Результаты и обсуждения. Разработанная высокочувствительная методика спектроскопии неупругого рассеяния света высокого спектрального и пространственного разрешений позволяет получить высококачественные спектры биомакромолекул. Типичный спектр нерезонансного комбинационного рассеяния света для синтетических одноцепочных олигонуклеотидов d(20G, 20T) для диапазона значений низких частот $150...1800\text{ см}^{-1}$ приведен на рисунке. Этот спектр получен с использованием линии возбуждения 532 нм. Аналогичные спектры были определены и с использованием линии возбуждения 632,817 нм, что указывает на следующее: все наблюдаемые спектральные особенности действительно обусловлены комбинационным рассеянием света. В целом спектры комбинационного рассеяния света коротких олигонуклеотидов определяются их пространственной структурой, задаваемой большим числом входящих в нее атомов, совершающих колебания относительно положений равновесия. Соответственно, в спектрах комбинационного рассеяния света таких макромолекул для множества колебательных возбуждений неизбежно наблюдаются сильно перекрывающиеся спектральные вклады, генерируемые большим набором атомов и молекул, для всех функциональных групп. К тому же, такие полосы должны испытывать влияние как парных взаимодействий, так и окружающей среды. Макромолекулы коротких олигонуклеотидов, как и макромолекулы белков, не содержат ни центров инверсии, ни зеркальной симметрии. Структурное упорядочение таких систем (в любом масштабе) является результатом низкой симметрии их элементарных ячеек. Казалось бы, для биомакромолекул трудно ожидать наличия узких спектральных особенностей в процессах комбинационного рассеяния света. Однако одной из наиболее немаловажных особенностей полученных специально несглаженных спектров нерезонансного комбинационного рассеяния света является именно обнаружение совокупности множества спектральных линий. Это хорошо видно из спектров, приведенных на рисунке. Наряду с довольно широкими полосами наблюдаются достаточно узкие и интенсивные спектральные линии. Естественным критерием реальности наблюдаемых характерных спектральных особенностей является их строгая воспроизводимость в независимых сериях измерений. Эти линии отражают химическую индивидуальность отдельных молекул, составляющих функциональные группы, и их структурные свойства. При этом они определяются совокупностью и конфигурацией большого числа химических связей, а, соответственно, и валентными взаимодействиями между входящими в состав молекулы атомами, определяющими ее стабильность и основные свойства, а также всей макромолекулы d(20G, 20T). Несмотря на высокую активность многоплановых экспериментальных исследований комбинационного рассеяния света в олигонуклеотидах и ДНК и достигнутые большие успехи [9–21], между спектрами, полученными при невысоком и высоком спектральных разрешениях, при внешнем сходстве имеются и принципиальные различия. В сильно сглаженных (вследствие небольшого отношения сигнал/шум) спектрах с перекрывающимися широкими



Спектры нерезонансного комбинационного рассеяния света, полученные для синтетического олигонуклеотида d(20G, 20T) при температуре 300 К в диапазоне значений частот 300...1800 см^{-1} (а) и 2300...3800 см^{-1} (б) при длине волны возбуждающего лазерного излучения $\lambda = 532 \text{ нм}$ и спектральном разрешении $R = 2 \text{ см}^{-1}$

полосами (в частности, и ввиду невысокого спектрального разрешения) узкие спектральные линии, которые позволили бы выявить их естественную ширину, не были выделены. Соответственно, времена жизни колебательных состояний в биомакромолекулах не определялись. В отличие от уже обсуждавшихся литературных данных, полученных с невысоким спектральным разрешением, когда наблюдались спектральные полосы существенно нелоренцевской формы, искаженные суперпозицией с другими спектральными линиями, проведенные авторами настоящей работы прецизионные измерения контуров исследуемых спек-

тральных линий позволяют выявить их лоренцевскую форму. Это дает качественно новые возможности для количественного исследования сложных молекулярных систем. Так, для наиболее узкой спектральной линии при $1355,4 \text{ см}^{-1}$, соответствующей колебаниям метильной группы dT, наблюдается существенное (в 2–3 раза) сужение ширины линии по сравнению со спектрами, полученными для водного раствора олигонуклеотидов. Такое сужение до порядка естественной ширины позволило надежно выделить лоренцевскую форму этой узкой линии с полушириной (полной шириной на половине высоты) $\Gamma = (1/2)c\tau$, где c — скорость света; τ — время жизни возбуждения. Непосредственное измерение естественной полуширины дало возможность впервые определить временной масштаб элементарных колебательных возбуждений в биомакромолекулах. Для измеренного значения полуширины $\Gamma = 14,6 \text{ см}^{-1}$ соответствующее характерное время жизни для колебаний метильной группы dT при комнатной температуре оказалось равным 0,38 пс. Таким образом, обнаружение узких спектральных линий позволит экспериментально изучить внутренние динамические свойства быстропротекающих релаксационных процессов колебательных движений атомов в биомакромолекулах. Измеренное значение естественной полуширины линий и (или) времени жизни колебательных состояний также может стать надежной мерой специфичности и степени совершенства молекулярной структуры биомакромолекул. Другая узкая полоса при 1000 см^{-1} характерна для фосфатных групп PO_2^- сахарофосфатного остова спиральной структуры ДНК, обнаружение которой прямо указывает на формирование устойчивой и стабильной пространственной молекулярной структуры синтезированных коротких одноцепочечных олигонуклеотидов длиной 40 нуклеотидов последовательности d(20G, 20T), состоящей из четырех витков спирали, а также сохранение этой структуры в лиофилизированном твердом состоянии. В целом, выводы об устойчивости, стабильности и высоком совершенстве молекулярной структуры синтезированных одноцепочечных олигонуклеотидов d(20G, 20T) также подтверждаются многими спектральными особенностями и наличием наиболее характерных максимумов, наблюдаемых во всем диапазоне частот на спектре (см. рисунок). Кроме того, полученные результаты прямо указывают на то, что механизм подавления различных молекулярных взаимодействий в водном растворе олигонуклеотидов намного более эффективный, чем ангармонические взаимодействия элементарных колебаний их решетки.

Было выполнено сравнение с недавно опубликованными полными спектрами комбинационного рассеяния света высушенной полномерной ДНК теленка, полученными с высоким спектральным и пространственным разрешением и обнаруженными в широком спектральном диапазоне частот рассеянного света $6 \dots 4000 \text{ см}^{-1}$ [25]. Результаты сравнения показывают, что спектры коротких олигонуклеотидов хорошо согласуются со спектрами ДНК теленка для нуклеотидов гуанина и тимина в составе ДНК. В целом эти данные указывают на то, что короткие олигонуклеотиды могут быть использованы в качестве удачных модельных объектов для исследования молекулярной структуры ДНК при изучении их вто-

ричных структур. Они могут быть востребованными и при создании и исследовании на основе таких коротких олигонуклеотидов различных комплексов с неорганическими полупроводниковыми наноструктурами. Полученные результаты могут дать возможность проводить теоретические и экспериментальные исследования фундаментальной взаимосвязи структуры–свойств комплексов квантово-размерных полупроводниковых наноструктур и биомолекул.

Заключение. Разработанная высокочувствительная методика комбинационного рассеяния света высокого спектрального разрешения оказалась достаточной для обнаружения узких спектральных линий. Это дает возможность выделять спектральные составляющие, соответствующие колебаниям отдельных молекул, в сложных спектрах коротких олигонуклеотидов с достаточно большим числом атомов в элементарной ячейке. Выделение лоренцевской формы таких узких линий позволяет получить информацию о динамических свойствах, а именно, впервые определить временной масштаб элементарных колебательных возбуждений в биомакромолекулах. Для наиболее узкой спектральной линии при $1355,4 \text{ см}^{-1}$, соответствующей колебаниям метильной группы dT, полная ширина на половине ее высоты оказалось равной $14,6 \text{ см}^{-1}$, а время жизни — $0,38 \text{ пс}$. Обнаруженная узкая полоса при 1000 см^{-1} , характерная для фосфатных групп PO_2^- сахарофосфатного остова спиральной структуры ДНК, указывает на формирование устойчивой и стабильной молекулярной структуры синтезированных коротких олигонуклеотидов d(20G, 20T), состоящей всего из четырех витков одноцепочечной спирали и сохранение этой структуры в твердом состоянии. Таким образом, высокочувствительная методика нерезонансного комбинационного рассеяния света высокого спектрального разрешения может быть успешно применена для исследования молекулярной структуры коротких синтетических олигонуклеотидов и ДНК. Результаты указывают на потенциал и перспективы использования обнаруженных узких линий в качестве спектральных маркеров и открывают новые возможности для изучения природы различного рода внутри- и межмолекулярных слабых взаимодействий, а также динамики молекулярных изменений и структурных флуктуаций в биомакромолекулах.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Computational tools for the synthetic design of biochemical pathways* / H. Marnix, M.H. Medema, R. Raaphorst, E. Takano, R. Breitling // *Nature Reviews Microbiology*. 2012. Vol. 10. No. 3. P. 191–202. DOI: 10.1038/nrmicro2717 URL: <http://www.nature.com/nrmicro/journal/v10/n3/full/nrmicro2717.html>
2. *Fleischmann M., Hendra P.J., McQuillan A.J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode* // *Chem. Phys. Lett.* 1974. Vol. 26. No. 2. P. 163–166. DOI: 10.1016/0009-2614(74)85388-1 URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0009261474853881>

3. *Jeanmaire D.L., Van Duyne R.P.* Surface Raman spectroelectrochemistry. Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode // *J. Electroanal. Chem.* 1977. Vol. 84. No. 1. P. 1–20. DOI: 10.1016/S0022-0728(77)80224-6 URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022072877802246>
4. *Albrecht M.G., Creighton J.A.* Anomalous intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode // *Journal of the American Chemical Society.* 1977. Vol. 99. No. 15. P. 5215–5217. DOI: 10.1021/ja00457a071 URL: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja00457a071>
5. *McCall S.L., Platzman P.M., Wolff P.A.* Surface enhanced Raman scattering // *Physics Letters A.* 1980. Vol. 77. No. 5. P. 381–383. DOI: 10.1016/0375-9601(80)90726-4 URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0375960180907264>
6. *Wang D.-S., Kerker M., Chew H.W.* Raman and fluorescent scattering by molecules embedded in dielectric spheroids // *Appl. Opt.* 1980. Vol. 19. No. 14. P. 2315–2328. DOI: 10.1364/AO.19.002315 URL: <https://www.osapublishing.org/ao/abstract.cfm?uri=ao-19-14-2315>
7. *Gersten J.I., Nitzan A.* Spectroscopic properties of molecules interacting with small dielectric particles // *J. Chem. Phys.* 1981. Vol. 75. No. 3. P. 1139–1152. DOI: 10.1063/1.442161 URL: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.442161>
8. *Otto A.* In light scattering in solids IV. Electronic scattering, spin effects, SERS and morphic effects / Ed. by M. Cardona and G. Guntherodt. Berlin: Springer-Verlag, 1984.
9. *Kneipp K., Fassler D.* SERS excitation profile investigation of a cyanine dye adsorbed on silver colloidal particles // *Chem. Phys. Lett.* 1984. Vol. 106. No. 6. P. 498–502.
10. *Moskovits M.* Surface-enhanced spectroscopy // *Rev. Mod. Phys.* 1985. Vol. 57. P. 783–826. DOI: 10.1103/RevModPhys.57.783 URL: <http://journals.aps.org/rmp/abstract/10.1103/RevModPhys.57.783>
11. *Набиев И.П., Ефремов П.Г., Чуманов Г.Д.* Гигантское комбинационное рассеяние и его применение к изучению молекул // *УФН.* 1988. Т. 154. № 3. С. 459–496. DOI: 10.3367/UFNr.0154.198803d.0459
12. *Otto A., Mrozek I., Grabhorn H., Akemann W.* Surface-enhanced Raman scattering // *J. Phys.: Condens. Matter.* 1992. Vol. 19924. P. 1143–1212.
13. *Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS) / K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L.T. Perelman, I. Itzkan, R.R. Dasari, M.S. Feld* // *Physical Review Letters.* 1997. Vol. 78. No. 9. P. 1667–1670. DOI: 10.1103/PhysRevLett.78.1667 URL: <https://journals.aps.org/prl/abstract/10.1103/PhysRevLett.78.1667>
14. *Nie S., Emory S.R.* Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering // *Science.* 1997. Vol. 275. No. 5303. P. 1102–1106. DOI: 10.1126/science.275.5303.1102 URL: <http://science.sciencemag.org/content/275/5303/1102>
15. *Campion A., Kambhampati P.* Surface enhanced Raman scattering // *Chem. Soc. Rev.* 1998. Vol. 27. P. 241–249. DOI: 10.1039/A827241Z URL: <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/1998/CS/a827241z#!divAbstract>
16. *Cao Y.C., Jin R., Mirkin C.A.* Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection // *Science.* 2002. Vol. 297. No. 5586. P. 1536–1540. DOI: 10.1126/science.297.5586.1536 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12202825>

17. *Surface-enhanced Raman difference spectroscopy with adaptive nanostructures: Human insulin and insulin lispro* / V.P. Drachev, M.D. Thoreson, E.N. Khaliullin, V.J. Davison, V.M. Shalaev // *Journal of Physical Chemistry B*. 2004. Vol. 108. No. 46. P. 18046–18052. DOI: 10.1021/jp047254h URL: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp047254h>
18. *Vo-Dinh T., Yan F., Wabuyele M.B.* Surface-enhanced Raman scattering for medical diagnostics and biological imaging // *J. Raman Spectrosc.* 2005. Vol. 36. P. 640–647. DOI: 10.1002/jrs.1348 URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jrs.1348/pdf>
19. *In vivo tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags* / X. Qian, X. Peng, D.O. Ansari, Q. Yin-Goen, G.Z. Chen, M.D. Shin, L. Yang, A.N. Young, M.D. Wang, S. Nie // *Nature Biotechnology*. 2008. Vol. 26. P. 83–90. DOI: 10.1038/nbt1377 URL: <http://www.nature.com/nbt/journal/v26/n1/abs/nbt1377.html>
20. *Sun L., Irudayar J.* Quantitative surface-enhanced Raman for gene expression estimation // *Biophysical Journal*. 2009. Vol. 96. No. 11. P. 4709–4716. DOI: 10.1016/j.bpj.2009.03.021 URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2711453>
21. *Кукушкин В.И., Ваньков А.Б., Кукушкин И.В.* К вопросу о дальнодействии поверхностно-усиленного рамановского рассеяния // *Письма в ЖЭТФ*. 2013. Т. 98 (2). С. 72–77.
22. *Неупругое резонансное рассеяние света в полупроводниках: от объемных материалов до квантовых точек, функционализированных с биомедицинскими структурами* / Б.Х. Байрамов, В.В. Топоров, Ф.Х. Байрамов, G. Irmer, M. Dutta, M.A. Stroschio. Коллективная монография. Комбинационное рассеяние — 80 лет исследований. М.: ФИАН им. П.Н. Лебедева, 2008. С. 326–338.
23. *Bayramov F.H., Irmer G., Toporov V.V., Bairamov B.H.* Structural, optical and electrical properties of semiconductor compounds studied by means of inelastic light scattering from phonon, electron and coupled electron-phonon excitations: From bulk to nanoscale structures. 2011 // *Jap. J. Apl. Phys.* 2011. Vol. 50. P. 05FE06. DOI: 10.1143/JJAP.50.05FE06 URL: <http://iopscience.iop.org/article/10.1143/JJAP.50.05FE06/meta>
24. *Резонансное неупругое рассеяние света и фотолюминесценция в изолированных квантовых точках NC-Si/SiO₂* / Ф.Х. Байрамов, В.В. Топоров, Е.Д. Полоскин, Б.Х. Байрамов, C. Roder, C. Sprung, K. Bohmhammel, J. Seidel, G. Irmer, A. Lashkul, E. Lahderanta, Y.W. Song // *Физика и техника полупроводников*. 2013. Т. 47. № 5. С. 608–612.
25. *Горелик В.С., Довбешко Г.И., Крылов А.С., Пятыхев А.Ю.* Комбинационное рассеяние высушенной ДНК при лазерном возбуждении // *Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Сер. Естественные науки*. 2014. № 1. С. 27–34.

Байрамов Фарид Бахыш оглы — канд. физ.-мат. наук, научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологий Санкт-Петербургского Академического университета — Научно-образовательного центра нанотехнологий РАН (Российская Федерация, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, корп. 3).

Топоров Владимир Васильевич — старший научный сотрудник лаборатории оптики полупроводников Физико-технического института им. А.Ф. Иоффе РАН (Российская Федерация, 194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 26).

Полоскин Егор Дмитриевич — младший научный сотрудник лаборатории оптики полупроводников Физико-технического института им. А.Ф. Иоффе РАН (Российская Федерация, 194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 26).

Чернев Андрей Леонидович — аспирант кафедры нанобиотехнологий, младший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологий Центра нанотехнологий Санкт-Петербургского Академического университета — Научно-образовательного центра нанотехнологий РАН (Российская Федерация, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, корп. 3).

Дубина Михаил Владимирович — член-корреспондент РАН, первый проректор по научной и учебной работе, директор центра, заведующий лабораторией нанобиотехнологий Санкт-Петербургского Академического университета — Научно-образовательного центра нанотехнологий РАН (Российская Федерация, 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, корп. 3).

Липсанен Гарри — профессор департамента микро- и наноауки, Университет Аалто (FI-00076, Аалто, Финляндия).

Байрамов Бахыш Халил оглы — главный научный сотрудник лаборатории оптики полупроводников, профессор Физико-технического института им. А.Ф. Иоффе РАН (Российская Федерация, 194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 26).

Просьба ссылаться на эту статью следующим образом:

Байрамов Ф.Б., Топоров В.В., Полоскин Е.Д., Чернев А.Л., Дубина М.В., Липсанен Г., Байрамов Б.Х. Детектирование спектров комбинационного рассеяния света высокого спектрального разрешения в коротких олигонуклеотидах: сравнение со спектрами полноразмерных ДНК // Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Сер. Естественные науки. 2017. № 2. С. 70–84. DOI: 10.18698/1812-3368-2017-2-70-84

DETECTION OF RAMAN SCATTERING SPECTRA OF HIGH SPECTRAL RESOLUTION IN SHORT OLIGONUCLEOTIDES: COMPARED WITH THE FULL-LENGTH DNA SPECTRA

F.B. Bayramov^{1,2}

V.V. Toporov²

E.D. Poloskin²

A.L. Chernev¹

M.V. Dubina¹

H. Lipsanen³

B.H. Bairamov²

pharrid@gmail.com

toporov@mail.ioffe.ru

e.poloskin@mail.ioffe.ru

chernev.andrew@gmail.com

michael.dubina@gmail.com

bairamov@mail.ioffe.ru

¹ St. Petersburg National Research Academic University of the Russian Academy of Sciences — Nanotechnology Scientific and Education Centre, St. Petersburg, Russian Federation

² Ioffe Institute, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

³ Aalto University, Aalto, Finland

Abstract

The study focuses on examining the high spectral resolution spectra by high sensitivity nonresonant Raman scattering method in biomacromolecules on the example of single-stranded short oligonucleotides d(20G, 20T), where d is abbreviation from deoxyribonucleotide, G — guanine and

Keywords

Oligonucleotides, DNA, spectroscopy of Raman scattering

T — thymine. Detection of the narrow spectral lines allows us to determine the characteristic time scale of vibrational excitation and makes it possible to study the dynamics of fast relaxation processes of atoms vibrational motions in biomacromolecules. Findings of the research show that for one of the narrowest line at 1355.4 cm^{-1} , attributed to fluctuations of the methyl group of dT, the full width of the line on a half of its height equals 14.6 cm^{-1} and the appropriate life time equals 0.38 ps. We compared the obtained spectra with the complete Raman scattering spectra obtained from the dried-up full-sized DNA of a calf received with the high spectral and spatial resolution and observed in the broad spectral range of the frequency shifts of the scattered light from 6 to 4000 cm^{-1} . The received results show that short oligonucleotides can be used as successful model objects for investigating the molecular DNA structure when studying their secondary structures. These data can be also required in creating and investigating different complexes with inorganic semiconductor nanostructures on the basis of such short oligonucleotides. The results obtained in the research make it possible to implement theoretical and experimental studies required for achieving a deeper fundamental understanding of structure-property relationship for quantum-confined semiconductors nanostructures and biomolecules and, are therefore of high interest to the new directions of rapidly developing nanobioelectronics

REFERENCES

- [1] Marnix H., Medema M.H., Raaphorst R., Takano E., Breitling R. Computational tools for the synthetic design of biochemical pathways. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, vol. 10, no. 3, pp. 191–202. DOI: 10.1038/nrmicro2717 Available at: <http://www.nature.com/nrmicro/journal/v10/n3/full/nrmicro2717.html>
- [2] Fleischmann M., Hendra P.J., McQuillan A.J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem. Phys. Lett.*, 1974, vol. 26, no. 2, pp. 163–166. DOI: 10.1016/0009-2614(74)85388-1 Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0009261474853881>
- [3] Jeanmaire D.L., Van Duyne R.P. Surface Raman spectroelectrochemistry. Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. *J. Electroanal. Chem.*, 1977, vol. 84, no. 1, p. 1–20. DOI: 10.1016/S0022-0728(77)80224-6 Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022072877802246>
- [4] Albrecht M.G., Creighton J.A. Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. *Journal of the American Chemical Society*, 1977, vol. 99, no. 15, pp. 5215–5217. DOI: 10.1021/ja00457a071 Available at: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja00457a071>
- [5] McCall S.L., Platzman P.M., Wolff P.A. Surface enhanced Raman scattering. *Physics Letters A*, 1980, vol. 77, no. 5, pp. 381–383. DOI: 10.1016/0375-9601(80)90726-4 Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0375960180907264>

- [6] Wang D.-S., Kerker M., Chew H.W. Raman and fluorescent scattering by molecules embedded in dielectric spheroids. *Appl. Opt.*, 1980, vol. 19, no. 14, pp. 2315–2328. DOI: 10.1364/AO.19.002315
Available at: <https://www.osapublishing.org/ao/abstract.cfm?uri=ao-19-14-2315>
- [7] Gersten J.I., Nitzan A. Spectroscopic properties of molecules interacting with small dielectric particles. *J. Chem. Phys.*, 1981, vol. 75, no. 3, pp. 1139–1152. DOI: 10.1063/1.442161
Available at: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.442161>
- [8] Otto A. In light scattering in solids IV. Electronic scattering, spin effects, SERS and morphic effects. Ed. by M. Cardona and G. Guntherodt. Berlin, Springer-Verlag, 1984.
- [9] Kneipp K., Fessler D. SERS excitation profile investigation of a cyanine dye adsorbed on silver colloidal particles. *Chem. Phys. Lett.*, 1984, vol. 106, no. 6, pp. 498–502.
- [10] Moskovits M. Surface-enhanced spectroscopy. *Rev. Mod. Phys.*, 1985, vol. 57, pp. 783–826. DOI: 10.1103/RevModPhys.57.783 Available at: <http://journals.aps.org/rmp/abstract/10.1103/RevModPhys.57.783>
- [11] Nabiev I.R., Efremov R.G., Chumanov G.D. Surface-enhanced Raman scattering and its application to the study of biological molecules. *Uspekhi Fizicheskikh Nauk*, 1988, vol. 154, no. 3, pp. 459–496 (in Russ.). DOI: 10.3367/UFNr.0154.198803d.0459
- [12] Otto A., Mrozek I., Grabhorn H., Akemann W. Surface-enhanced Raman scattering. *J. Phys.: Condens. Matter.*, 1992, vol. 19924, pp. 1143–1212.
- [13] Kneipp K., Wang Y., Kneipp H., Perelman L.T., Itzkan I., Dasari R.R., Feld M.S. Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Physical Review Letters*, 1997, vol. 78, no. 9, pp. 1667–1670. DOI: 10.1103/PhysRevLett.78.1667
Available at: <https://journals.aps.org/prl/abstract/10.1103/PhysRevLett.78.1667>
- [14] Nie S., Emory S.R. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. *Science*, 1997, vol. 275, no. 5303, pp. 1102–1106. DOI: 10.1126/science.275.5303.1102
Available at: <http://science.sciencemag.org/content/275/5303/1102>
- [15] Campion A., Kambhampati P. Surface enhanced Raman scattering. *Chem. Soc. Rev.*, 1998, vol. 27, pp. 241–249. DOI: 10.1039/A827241Z Available at: <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/1998/CS/a827241z#!divAbstract>
- [16] Cao Y.C., Jin R., Mirkin C.A. Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection. *Science*, 2002, vol. 297, no. 5586, pp. 1536–1540. DOI: 10.1126/science.297.5586.1536
Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12202825>
- [17] Drachev V.P., Thoreson M.D., Khaliullin E.N., Davison V.J., ShalaeV V.M. Surface-enhanced Raman difference spectroscopy with adaptive nanostructures: Human insulin and insulin lispro. *Journal of Physical Chemistry B*, 2004, vol. 108, no. 46, pp. 18046–18052. DOI: 10.1021/jp047254h Available at: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp047254h>
- [18] Vo-Dinh T., Yan F., Wabuyele M.B. Surface-enhanced Raman scattering for medical diagnostics and biological imaging. *J. Raman Spectrosc.*, 2005, vol. 36, pp. 640–647. DOI: 10.1002/jrs.1348 Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jrs.1348/pdf>
- [19] Qian X., Peng X., Ansari D.O., Yin-Goen Q., Chen G.Z., Shin M.D., Yang L., Young A.N., Wang M.D., Nie S. In vivo tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags. *Nature Biotechnology*, 2008, vol. 26, pp. 83–90. DOI: 10.1038/nbt1377 Available at: <http://www.nature.com/nbt/journal/v26/n1/abs/nbt1377.html>

- [20] Sun L., Irudayar J. Quantitative surface-enhanced Raman for gene expression estimation. *Biophysical Journal*, 2009, vol. 96, no. 11, pp. 4709–4716. DOI: 10.1016/j.bpj.2009.03.021 Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2711453>
- [21] Kukushkin V.I., Van'kov A.B., Kukushkin I.V. Relationship between the giant enhancement of the Raman scattering and luminescence on nanostructured metallic surfaces. *JETP Letters*, 2013, vol. 98, no. 6, pp. 342–347. DOI: 10.1134/S0021364013190089
- [22] Bayramov B.Kh., Toporov V.V., Bayramov F.Kh., Irmer G., Dutta M., Strocio M.A. Neuprugoe rezonansnoe rasseyaniye sveta v poluprovodnikakh: ot ob'emnykh materialov do kvantovykh tochek, funktsionalizirovannykh s biomeditsinskimi strukturami. Kollektivnaya monografiya. Kombinatsionnoye rasseyaniye — 80 let issledovaniy [Resonant inelastic scattering in semiconductors: From bulk materials to quantum dots, functionalized with biomedical structures. Multi-authored monograph. Raman scattering — 80 years of research]. Moscow, LPI RAS Publ., 2008, pp. 326–338 (in Russ.).
- [23] Bayramov F.H., Irmer G., Toporov V.V., Bairamov B.H. Structural, optical and electrical properties of semiconductor compounds studied by means of inelastic light scattering from phonon, electron and coupled electron-phonon excitations: From bulk to nanoscale structures. *Jap. J. Apl. Phys.*, 2011, vol. 50, pp. 05FE06. DOI: 10.1143/JJAP.50.05FE06 Available at: <http://iopscience.iop.org/article/10.1143/JJAP.50.05FE06/meta>
- [24] Bayramov F.B., Toporov V.V., Poloskin E.D., Bairamov B.H., Röder C., Sprung C., Bohmhammel G., Seidel K., Irmer G., Lashkul A., Lahderanta E., Song Y.W. Resonant inelastic light scattering and photoluminescence in isolated nc-Si/SiO₂ quantum dots Semiconductors. *Fizika i tekhnika poluprovodnikov*, 2013, vol. 47, no. 5, pp. 608–612.
- [25] Gorelik V.S., Dovbeshko G.I., Krylov A.S., Pyatyshev A.Yu. Raman scattering of a dried DNA exposed to laser excitation. *Vestn. Mosk. Gos. Tekh. Univ. im. N.E. Baumana, Estestv. Nauki* [Herald of the Bauman Moscow State Tech. Univ., Nat. Sci.], 2014, no. 1, pp. 27–34.

Bayramov F.B. — Cand. Sc. (Phys.-Math.), Research Scientist of Laboratory of Nanobiotechnology, St. Petersburg National Research Academic University of the Russian Academy of Sciences — Nanotechnology Scientific and Education Centre (Klopina ul. 8, korpus 3, St. Petersburg, 194021 Russian Federation).

Toporov V.V. — Chief Research Scientist of Laboratory of Semiconductor Optics, Ioffe Institute, Russian Academy of Sciences (Politekhnikeskaya ul. 26, St. Petersburg, 194021 Russian Federation).

Poloskin E.D. — Junior Research Scientist of Laboratory of Semiconductor Optics, Ioffe Institute, Russian Academy of Sciences (Politekhnikeskaya ul. 26, St. Petersburg, 194021 Russian Federation).

Chernev A.L. — post-graduate student of Nanobiotechnology Department, Junior Research Scientist of Laboratory of Nanobiotechnology, St. Petersburg National Research Academic University of the Russian Academy of Sciences — Nanotechnology Scientific and Education Centre (Klopina ul. 8, korpus 3, St. Petersburg, 194021 Russian Federation).


Dubina M.V. — corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Vice-Rector for Research and Academic Work, the center's director, Head of Laboratory of Nanobiotechnology, St. Petersburg National Research Academic University of the Russian Academy of Sciences — Nanotechnology Scientific and Education Centre (Klopina ul. 8, korpus 3, St. Petersburg, 194021 Russian Federation).

Lipsanen Harri — Professor of Department of Micro- and Nanoscience's, Micronova, Aalto University (FI-00076, Aalto, Finland).

Bairamov B.Kh. — Chief Research Scientist of Laboratory of Semiconductor Optics, Professor of Ioffe Institute, Russian Academy of Sciences (Politekhnicheskaya ul. 26, St. Petersburg, 194021 Russian Federation).

Please cite this article in English as:

Bayramov F.B., Toporov V.V., Poloskin E.D., Chernev A.L., Dubina M.V., Lipsanen H., Bairamov B.Kh. Detection of Raman Scattering Spectra of High Spectral Resolution in Short Oligonucleotides: Compared with the Full-Length DNA Spectra. *Vestn. Mosk. Gos. Tekh. Univ. im. N.E. Baumana, Estestv. Nauki* [Herald of the Bauman Moscow State Tech. Univ., Nat. Sci.], 2017, no. 2, pp. 70–84. DOI: 10.18698/1812-3368-2017-2-70-84

<p>В.С. Зарубин, Г.Н. Кувыркин, И.В. Станкевич</p> <p>Математические модели прикладной механики</p>  <p>ИЗДАТЕЛЬСТВО МГТУ им. Н.Э. БАУМАНА</p>	<p>В Издательстве МГТУ им. Н.Э. Баумана вышло в свет учебное пособие авторов В.С. Зарубина, Г.Н. Кувыркина, И.В. Станкевича</p> <p>«Математические модели прикладной механики»</p> <p>Изложены основы построения и анализа математических моделей механических систем, идейное ядро которых составляют математические модели стержней, пластинок и оболочек, что позволяет строить адекватные математические модели в виде совокупности соотношений, достаточно полно и точно отражающих свойства и поведение сложных конструктивных элементов современного технологического оборудования и машиностроения.</p> <p>По вопросам приобретения обращайтесь: 105005, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1 +7 (499) 263-60-45 press@bmstu.ru www.baumanpress.ru</p>
--	---