

ФІЗИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ГІБРИДНИХ-ВІРУС НЕОРГАНІЧНИХ КОМПЛЕКСІВ ВТМ-Au

В.Х.Касіяненко¹, Л.І.Карбівська², Н.А.Курган²,
О.Я.Кузнецова³, В.Л.Карбівський²

¹Вінницький національний технічний університет, Хмельницьке шосе, 95, Вінниця
²Інститут металофізики ім.Г.В.Курдюмова НАН України, Вернадського, 36, Київ, 03680
³Національний авіаційний університет, Київ, проспект Космонавта Комарова, 1

ВСТУП

Однією з великотрудних проблем в області нанотехнологій є отримання нанооб'єктів однакової форми і розмірів. Для вирішення цієї проблеми найбільш перспективним є застосування вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ) [1]. ВТМ може бути хімічно і генетично модифікований з метою варіювання фізичних властивостей і адаптації їх до конкретних додатків. В даний час в світі проводяться інтенсивні дослідження з використання ВТМ у виробництві нанопроволок, наноструктурних тонких плівок, біоміметичних поверхневих сенсорів, мікробатарей високої продуктивності, твердотільної наноелектроніки і інженерії біосистем. Інтенсивність цих досліджень обумовлена тим, що область мікроелектромеханічних систем постійно розвивається і дозволяє більш ефективно мініатюризувати функціональні пристрої і інтегровані системи [2-6]. Однак фундаментальні обмеження мікротехнологій не дозволяють вийти за певні межі розмірності. Тому інтеграція наноструктурованих матеріалів в функціональні прилади залишається складним завданням, яке не може бути вирішена за допомогою стандартних методів і матеріалів [7-9].

Віруси тютюнової мозаїки мають характерну структуру, подібну нанокабелю - порожнисті білкові трубки, всередині яких проходить РНК. Довжина вірусу становить 300 нм, зовнішній діаметр - 18 нм, а внутрішня порожнина має діаметр 4 нм. Капсид вірусу складається з 2130 молекул білка (мономерів), накручених спіраллю навколо молекули РНК. Мономер білка складається з 158 амінокислотних залишків [10]. ВТМ термостійкий вірус. Він може витримати 60° С протягом 30 хвилин.

Самозбірка є основним методом синтезу нанорозмірних пристроїв. Сучасні методи синтезу дозволяють досягти точного контролю над розміром і формою біоматричних наночастинок. Їх характерні риси, в порівнянні з напівпровідниками, включають підвищення структурної і функціональної універсальності, самозбірку на поверхні і прогнозовану керованість властивостей. Ці переваги в поєднанні з низькою вартістю отримання прогноують революцію у сучасному техногенному середовищі. Для виготовлення різних наноструктур, зокрема, нановолокон, наночастинок та квантових точок, сьогодні використовують ДНК [11-16], пептиди [18], бактерії [17-20] і білки [21]. Однією з найперспективніших категорій біологічних наноструктур, що надає унікальні функціональні можливості застосування є рослини і віруси бактерій. Ці частинки сформовані з високомолекулярних агрегатів нуклеїнової кислоти, що складається з багатьох копій білкової оболонки. Ці молекули показують деякі унікальні переваги: вони демонструють виняткову стабільність в широкому діапазоні температур і рН та здатність водночас витримувати вплив денатуруючих органічних водорозчинних сумішей [22]. Поміж доступних вірусів, вірус тютюнової мозаїки є одним з найбільш широковивчених ниткоподібних структур. Властивості ВТМ, які особливо корисні для інтеграції нанобіоматеріалів в мікросистемні пристрої це - добре вивчена тривимірна структура [23-26], велика кількість біо-фізичної інформації про характеристики само-

збірки ВТМ на різних підкладках [27], наявність цілого ряду інфекційних клонів з РНК вірусу, що дозволяє створення нових вірусних структур і поверхонь за допомогою добре вивчених генетичних методів модифікації [28, 29], широкий спектр існуючих варіантів оболонки білка з різноманітними властивостями самозбірки [30], можливість отримувати віруси і білкові оболонки із заражених рослин у необмеженому розмірі [31-33] та структурна міцність, що робить його придатним для використання при звичайних методах мікротехнологій [31, 34, 35].

Переваги використання ВТМ полягають в тому, що всі частинки ВТМ одного типу ідентичні за структурою, формою і розмірами; віріони (зрілі віруси) ВТМ можуть здійснювати самозбірку і формувати певні організовані структури, наприклад, ланцюги, з'єднуючись кінцями; вони високостабільні як в хімічному, так і у фізичному відношенні і, нарешті, їх можна покривати металами, діоксидом кремнію і напівпровідниковими матеріалами [36-40].

Поверхня вірусу складається з повторюваних амінокислотних ланцюгів. Внутрішня порожнина складається переважно з глютамінової і аспарагінової кислот, зовнішня ж поверхню складена з великої кількості лізінових і аргінінових радикалів. Цей факт надає можливість поверхні вірусу реагувати з наночастинками металів (золото, срібло) [37-39, 41].

Приєднання різних наночастинок до молекули вірусу можна контролювати, змінюючи хімічне середовище взаємодії (рН, присутність окислювально/відновлювальних агентів) [42-44].

1. БУДОВА, ВЛАСТИВОСТІ ТА ГЕНЕТИЧНА МОДИФІКАЦІЯ ВТМ

Структура вірусу (рис. 1) являє собою порожню трубку у формі стрижня 3000 Å в довжину, зовнішнім діаметром 180 Å та внутрішнім діаметром 40 Å. Довжина дикапсованої геномної рибонуклеїнової кислоти (РНК) обмежує довжину вірусу стрижня.

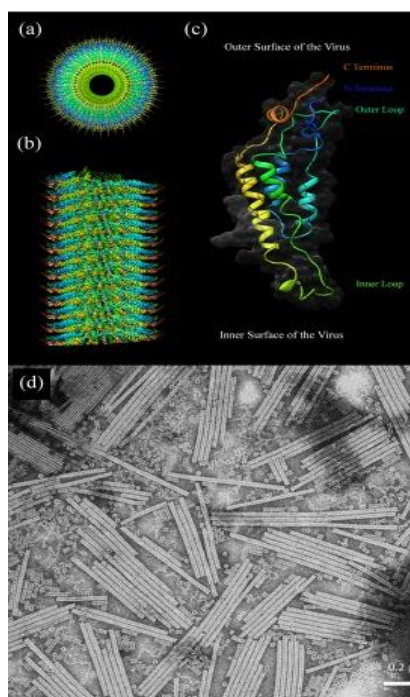


Рис. 1. Структура ВТМ: (а, б) Молекулярна модель, що показує зовнішній вигляд та вид збоку віріона ВТМ. (с) схема однієї білкової субодиниці. (д) ПЕМ-зображення вільного типу ВТМ.

Капсид вірусу складається з 2130 молекул білка (мономерів), що накручуються спіраллю довкола нитки РНК. Мономер білка складається з 158 амінокислотних залишків, які складаються з чотирьох основних альфа-спіралей, що з'єднані у внутрішні і зовнішні петлі [рис. 1 (с)]. Молекулярна маса одиниці білка оболонки становить 17,5 кДа, і він утворює спіраль з кроком 23\AA з $16^{1/3}$ оболонки білків за хід. Структура віріона ВТМ встановлена з роздільною здатністю 2.9\AA за допомогою рентгенівської дифракції [24].

Модифікації оболонки білка відбуваються, як правило, шляхом додавання пептидів, що складаються з 2-20 амінокислот, або заміною амінокислоти з відповідним аміном. На зовнішній поверхні віріона потенційні місця для модифікації знаходяться на N та C-кінцях (рис. 1, 2).

ВТМ дуже міцний і може витримати нагрівання до температури 60°C протягом 30 хв, рівень рН 5-8, і навіть витримку в органічних розчинниках. Деякі дослідження показують, що ВТМ може також витримувати більш жорсткі умови. Модифіковані ВТМ, як правило, обробляються в більш м'яких умовах – 0.1 М рН 7 фосфатному буфері при кімнатній температурі. Віруси можуть також бути повторно суспендовані або діалізовані деіонізованою водою, якщо витримка у фосфатному буфері є небажаною. ВТМ та їх модифікації, як правило, зберігаються при 15°C протягом тривалого періоду часу. Структура і функціональність ВТМ може бути збережена від декількох місяців до декількох років при ідеальних умовах зберігання, що надає суттєві переваги ВТМ перед іншими будівельними біоблоками для мікросистем.

1.1. Функціональні покриття на основі вірусу тютюнової мозаїки та наночастинок металів

Нанорозмірні металеві частинки і частинки оксиду металу мають унікальні каталітичні, електронні та сенсорні властивості, тому важливе значення для розвитку наступного покоління мікроприладів має виготовлення однорідних вузлів наноприладів. Синтез неорганічних матеріалів на основі ВТМ та наночастинок металів пропонує можливість виготовлення конструкцій з регульованим розміром, формою і положенням на нанорівні.

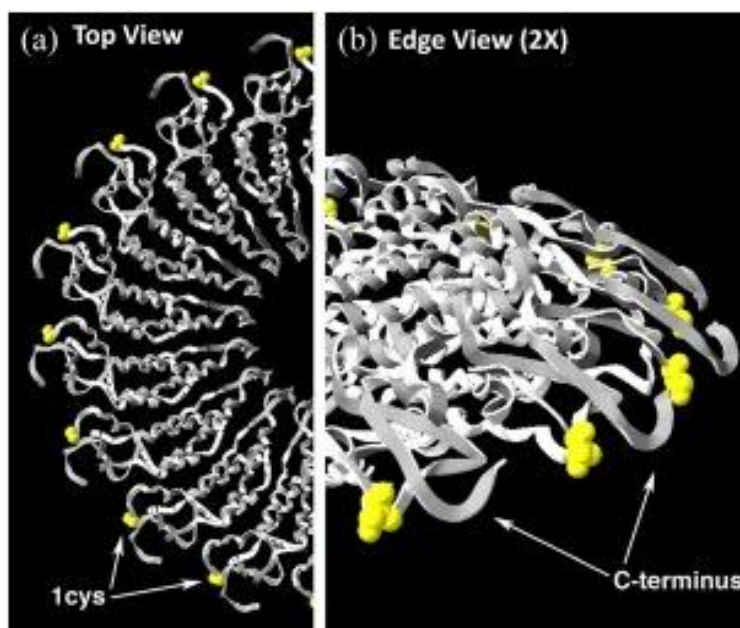


Рис. 2. Розташування структури ВТМ-1Cys мутації. (а) зверху вниз вид, що показує білки оболонки півоберта в стержні ВТМ і (b) 2x збільшення того ж місця

1.1.1 Металопокриття

Покриття ВТМ наноматрицями з різних матеріалів є важливим кроком на шляху інтеграції наноструктурованих матеріалів у функціональні пристрої. Зовнішня поверхня та/або центральний канал з ВТМ можуть бути вибірково металізовані за допомогою хімічного осадження. Хімічне осадження вигідне для біологічних структур оскільки електроосадження не може бути використане через нейтральність біологічних структур. Крім того, зазвичай хімічне осадження забезпечує рівномірне покриття всієї поверхні структур в тому числі нанорозмірних елементів. На першому етапі, поверхня частинки ВТМ активується наночастками благородного металу, отриманими при розкладанні Pt (II) або Pd (II) комплексів. Потім суспензія ВТМ змішується з розчином, що містить іони металів, комплексоутворювачі, а також відновник. Осадження спочатку каталізується благородними металевими наночастинками, а потім проходить автокаталітично. Таким чином досягається подальший ріст металевих частинок.

Селективністю по внутрішній або зовнішній поверхні покриття можна керувати за допомогою присутності або за відсутності іонів фосфату в суспензії ВТМ [45]. Зовнішня поверхня оболонки білку ВТМ переважно складається з киснемісної групи (наприклад, гідроксильної або карбоксильної), а всередині внутрішнього каналу переважають групи аміну, первинного аміду і гуаніда.

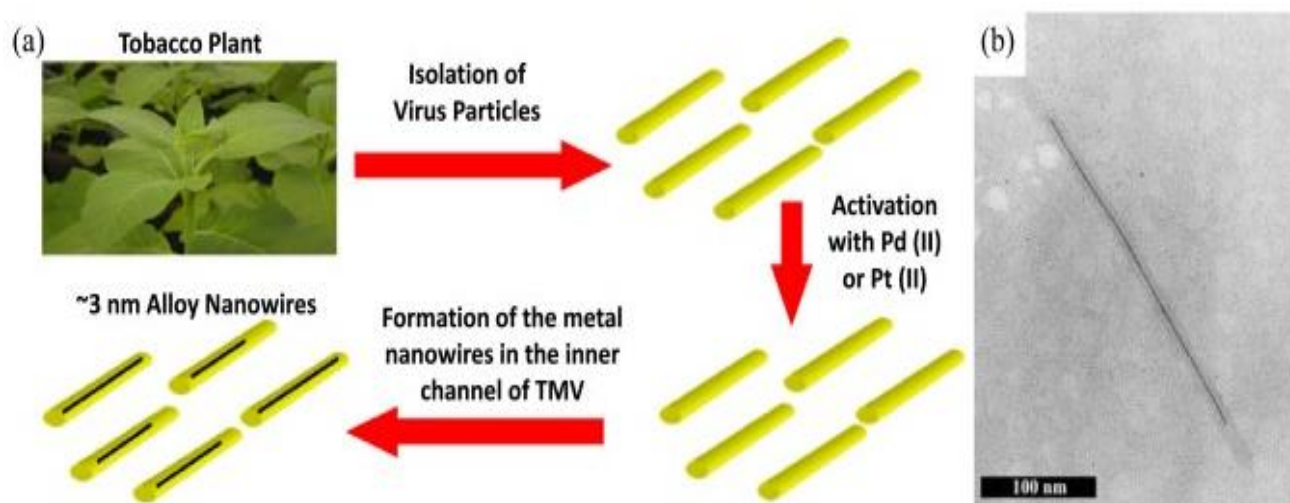


Рис. 3. (а) Схематичне зображення синтезу металевих нанодротів у внутрішньому каналі частинки ВТМ. (б) СЕМ зображення одного віріона, що містить всередині внутрішнього каналу нікелевий дріт довжиною приблизно 250 нм [45].

Для покриття внутрішнього каналу металом, віріони були діалізовані до активації і металізації, для того, щоб видалити Na/K фосфатбуфера. У результаті, за відсутності іонів фосфату (рис. 3), неметалеві частинки утворюють покриття на зовнішній поверхні вірусу. Крім того, бульбашки водню, які уворюються під час металізації, можуть запобігти утворенню металевих кластерів на зовнішній поверхні вірусу. Металеві кластери ростуть на внутрішньому каналі формуючи металеві нанодроти до 600 нм у довжину. Чисті металеві (Ag, Ni, Co, Cu, Pt) та зі сплавів (Co/Fe, Fe/Pt, Co/Pt) нанодроти 3-4 нм в діаметрі були синтезовані в центральному каналі ВТМ. Нанодріт ВТМ-Ni довжиною приблизно 250 нм приведено на рис. 3 (б). Срібні нанодроти можна виростити всередині генетично модифікованих ВТМ - E95Q/D109N. Для потреб наноелектроніки металеві нанодроти можуть бути виділені з біологічної оболонки шляхом розкладання в кисневій плазмі.

При наявності фосфатних іонів, вони прикріплюються до зовнішньої поверхні вірусу, сприяючи селективному відновленню іонів металу під час етапу активації поверхні в процесі хімічного осадження. У цьому випадку утворюються великі кластери металів виключно на зовнішній поверхні ВТМ (рис. 4). При використанні вільного ВТМ для металізації в присутності іонів фосфату, осадження кластерів металів на зовнішній поверхні вірусу проходить без утворення гомогенних плівок. Коли суспензія ВТМ обробляється PdCl_4 і додається відновник, отримується зовнішня поверхня ВТМ покрита паладієвим шаром. Осадження платини на зовнішній поверхні ВТМ було досягнене в розчинах, що містять PtCl_6^{2-} . Довжина кроку активації відіграла важливу роль. Для різного часу активації спостерігалися шари металів різної морфології (кілька дрібних частинок в порівнянні з об'єднаними частинками що утворюють шар). Покриття з нікелю і кобальту, які склалися з великих зрощених частинок, показані на рис. 4 (с) і 4 (е).

Виготовлення мікро/нанорозмірних пристроїв з використанням розчинних хімічних процесів та біопідкладенок потребує рівномірних неорганічних покриттів по всій поверхні біологічних молекул. Однак, коли розмір поверхні мішені покриття зменшується до нанометрового масштабу, контролювати рівномірність стає складно. Як було описано вище, при використанні вільного ВТМ, зменшення солі металу призводить до неефективності і нерегулярного зародження віріонів металу (рис. 4), через зародження випадкових місцевих утворень на поверхні віріона. Задача отримання рівномірного і безперервного покриття на всій поверхні біопідкладенки залишається фундаментальним завданням в синтезі неорганічних матеріалів з використанням біопідкладенок.

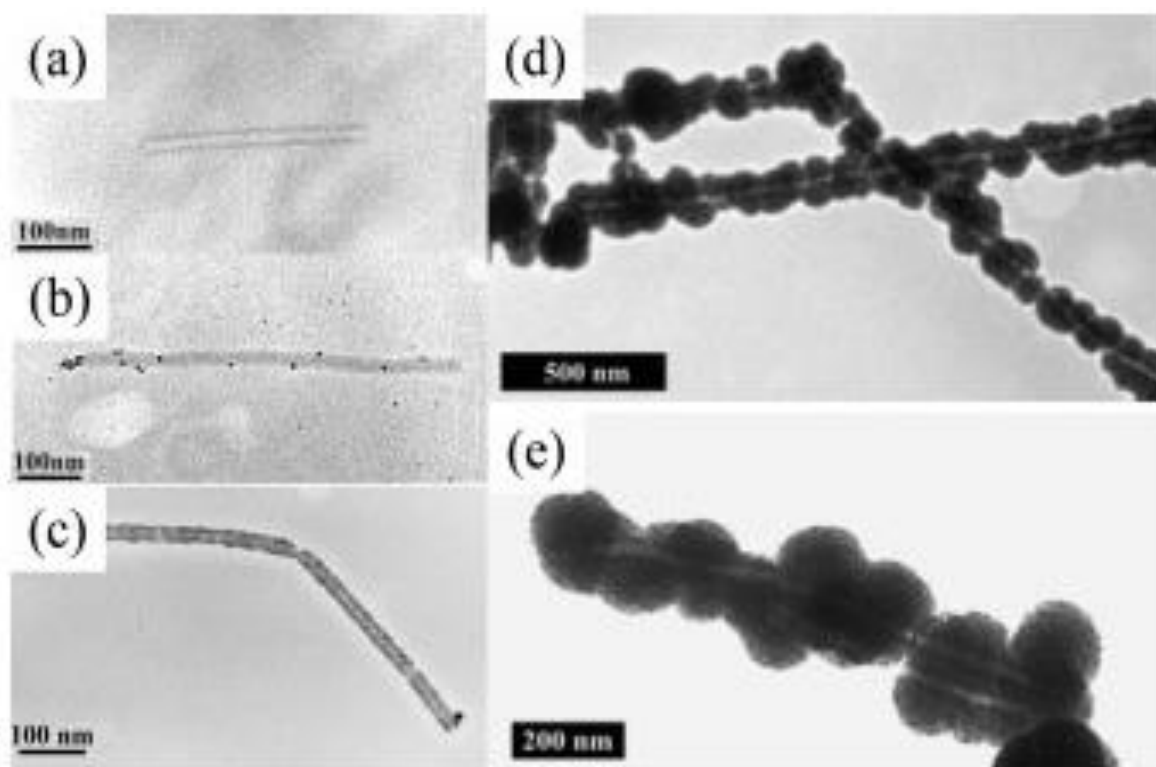


Рис. 4. ПЕМ зображення (а) частки ВТМ (контури темним; білкова оболонка і центральний канал прозорі); (б) ВТМ після адсорбції (активації) $\text{Pd}(\text{II})$ з подальшим відновленням [46]; (с) два ВТМ густо вкриті частинками паладію; (d, e) $\text{Pt}(\text{II})$ -ВТМ попередньо металізовані (d) нікелем і (e) кобальтом.

Модифікація цис-залишками, що містять тиольні групи, на поверхні ВТМ підвищує зв'язувальну здатність металу. Сильний ковалентний зв'язок між тиольними групами і металами робить тиольні сполуки ефективним методом для досягнення рівномірного металевого покриття на поверхні ВТМ. Мутовані ВТМ-1Cys і ВТМ-2cys були використані для покриття вірусу з Au, Ag, Pd, і Au/Pd. У всіх випадках спостерігалось покращене осадження кластеру металу з більш формуванням рівномірного покриття в порівнянні з вільним ВТМ.

У генетично модифікованих мутованих вірусів ВТМ-1Cys при самозбірці на поверхні золота переважає вертикальна орієнтація. Така самоорганізація віріона ВТМ-1Cys частинки вигідна для використання в якості надійних матриць для осадження нікелю і кобальту, для створення пористих 3D металізованих мереж, з орієнтованих частинок вірусу з металевим покриттям. Для самоорганізації ВТМ із золотим покриттям підкладки витримуються в суспензії, що містить молекули ВТМ-1Cys протягом 1-2 днів. Після цього поверхня ВТМ активується паладієвим каталізатором з подальшою нікелевою (або кобальтовою) реакцією хімічного осадження. Завдяки автокаталітичній природі Ni (або Co) покриття, формується рівномірне металеве покриття навколо ВТМ. Металевий шар є жорстким і може бути використаний для роботи з електродами [47].

Покриття оксидом цинку на поверхні ВТМ вперше було досягнутий активацією поверхні вірусу з Pd (II) і послідовного ZnO зародження під хімічним осадженням. Єдині нанодропи ZnO з точно контрольованою товщиною покриттям синтезували на частках ВТМ іммобілізованих на кремнієвих підкладках з водного лужного розчину без активаційного кроку. Покриття складається з тісно упакованих сферичних полікристалічних ZnO наночастинок.

1.1.2 Багатошарові покриття

При послідовному покритті наночастинками поверхні можна створити структури ядро/оболонка з унікальними властивостями. Багатошарові покриття на зовнішній поверхні ВТМ можуть бути створені за допомогою різних методів. Наприклад, покриття SiO₂/Pt були отримані на вільному ВТМ гідролізом і реакцією конденсації тетра-етил-орто-силікатами (ТЕОС) у водному металічному розчині при рН > 7. Примітно, що вірусні частинки залишалися стабільними в спирт-водному розчині (з концентрацією води ≥ 40 %), хоча спирти зазвичай розкладають білки. Надійність ВТМ при таких жорстких умовах підтверджує перспективність використання ВТМ як матриці для синтезу наноструктур.

Платинова металізація проводилася в розчині K₂PtCl₄. При утворенні SiO₂/Pt-покритих частинок на ВТМ у ТЕОС ванні, на поверхні другого шару відкладався SiO₂, утворюючи SiO₂/Pt/SiO₂ структуру.

Покриття оксидом цинку поверхні ВТМ вперше було досягнуто активацією поверхні вірусу Pd(I) і послідовним зародженням наночастинок ZnO в процесі хімічного осадження. Нанодропи ZnO з точно контрольованою за товщиною покриттям синтезували на ВТМ, іммобілізованих на кремнієвих підкладках, з водного лужного розчину без активаційного кроку. Отримані покриття склалися з щільно упакованих сферичних полікристалічних ZnO наночастинок. Порівняння необробленої ВТМ з частинками ВТМ після одного і п'яти циклів осадження приведено на рис. 5 і 6.

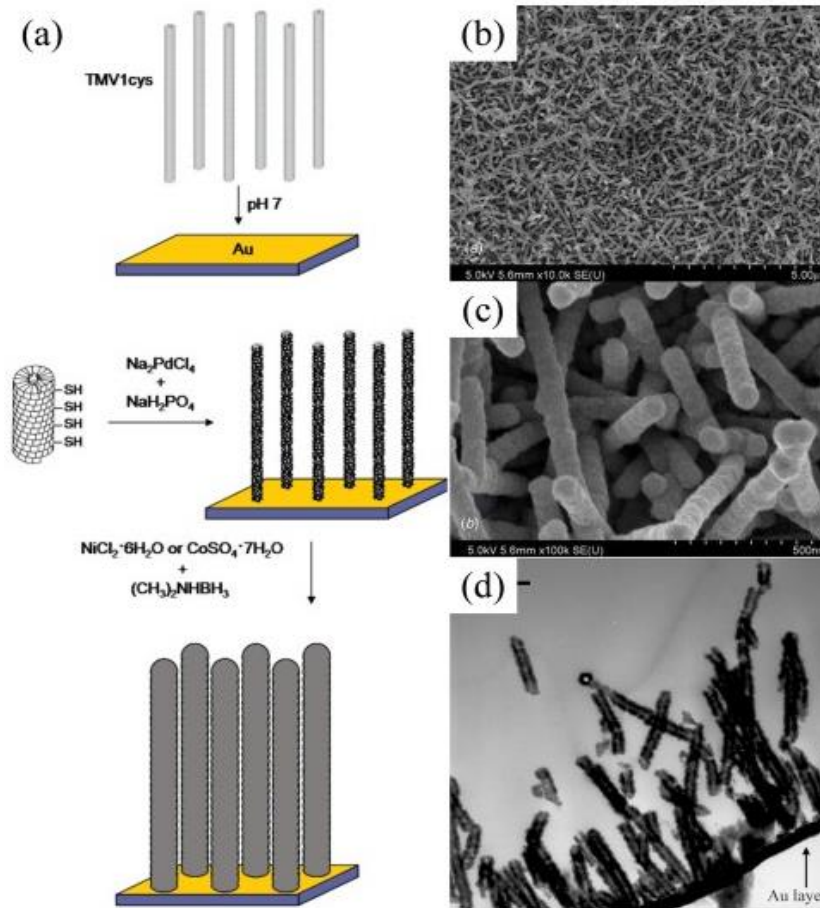


Рис. 5. (a) Схема збірки нікелевого і кобальтового покриттів на ВТМ-1Cys, прикріплених до поверхні золота. (b, c, d) СЕМ зображення різного масштабу ВТМ-Ni самоорганізованих наноструктур [47].

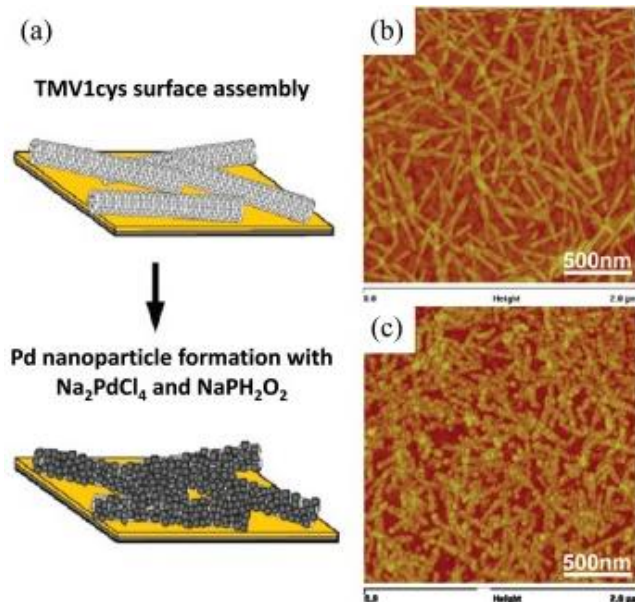


Рис. 5а. (а) Принципова схема, що представляє ВТМ-1Cys горизонтальну збірку на поверхні золота з подальшою металізацією відновника попередника Pd. (б) АСМ-зображення поверхні зібраному ВТМ-1Cys на золотому чіпі. (в) АСМ зображення наночастинок Pd, сформованих на поверхні збірка ВТМ-1Cys [48].

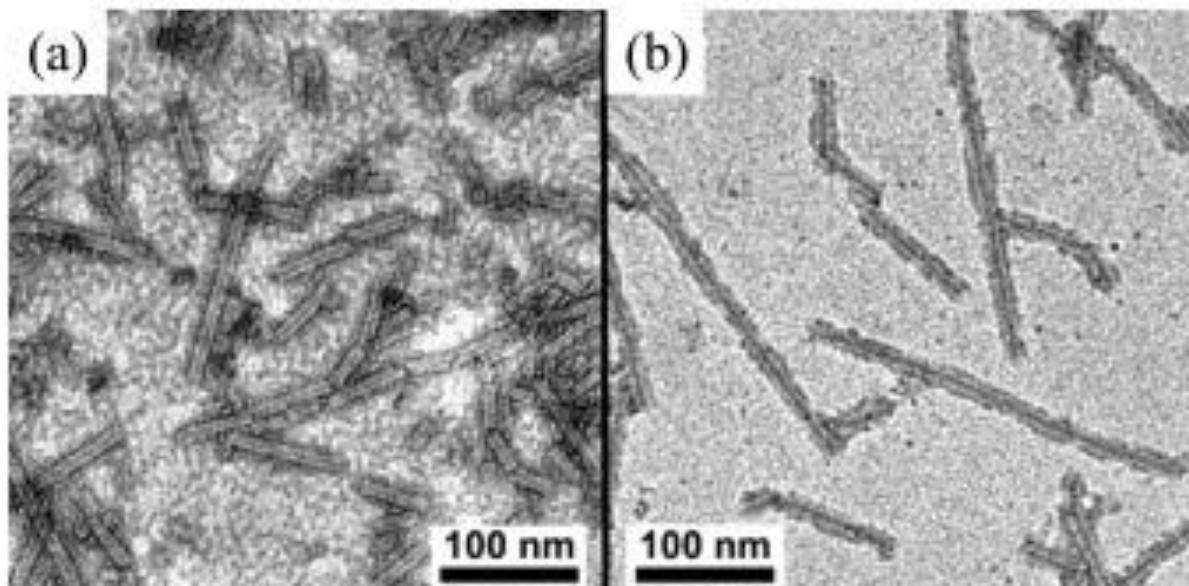


Рис. 6. ПЕМ-зображення BTM обробленого TiO_2 ALD. (б) Після ультразвукування TiO_2 частково віддалена від зовнішньої поверхні і в основному внутрішньому каналі BTM раніше покриті TiO_2 [49].

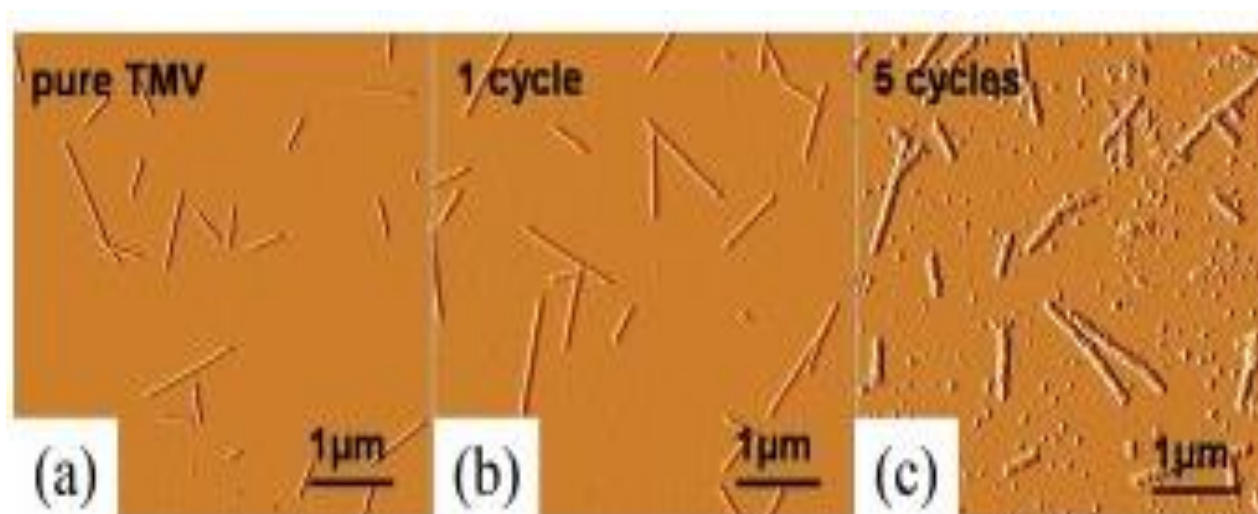


Рис. 6 (а). АСМ амплітудні зображення BTM нанодротів, мінералізованих ZnO на кремнієвих підкладках. Товщина нанодротів збільшується з кількістю циклів осадження [50].

1.2 Самозбірка, позиціонування і структурування

Для керування процесом збірки і моделювання BTM у функціональній структурі важливо навчитись використовувати унікальні властивості вірусу. Хоча процес морфології та збірки вірусу було широко та всебічно досліджено, ми акцентуємося на дослідженні «незвичайних» властивостей BTM. BTM - універсальні підкладки, які можуть бути геометрично організовані за допомогою спеціальних умов обробки.

По-перше, природа самозбірки білкового покриття BTM може бути змінена, для отримання нових конфігурацій і BTM також можуть бути об'єднані з кремнеземом і полімерами, де BTM грає роль підкладок для цих матеріалів.

По-друге, деякі із способів позиціонування вже розроблені для BTM, так окремі

частинки ВТМ безпосередньо маніпулюються атомно-силовою мікроскопією, але методи швидкого виготовлення шаблонів ВТМ на великих поверхнях тільки недавно почали реалізовуватися. Деякі з цих методів, такі як конвективне осадження або штампування, безпосередньо управляють частинками, в той час як інші, такі як методи відриву і ДНК-гібридації, контролюють положення за допомогою хімічної обробки.

1.2.1. Самозбірка

Ансамблі нанорозмірних стержнів і дисків можуть бути отримані з білків ВТМ модифікованих гістидином, за допомогою контролю середовища збірки. Гексагістидиновий (Гіс) тег є амінокислотою, яка кріпиться до N- або C-кінців протеїнів і широко використовується в очищенні рекомбінантних білків. Коли ця модифікована версія білку оболонки ВТМ збирається в стрижні або диски, на зовнішній поверхні структури залишається його залишок. Тобто додаванням Гіс-тегу до білку оболонки ВТМ, вони можуть бути контрольовано організовані в волокна, пучки, гексагональні решітки, окремі диски або вертикально складені диски (рис.7). Збірка контролюється маніпулюванням концентрацією фосфатного буфера, рН, і додаванням Ni-NTA (нітрілотриуксусна кислота) комплексу або етанолу. Вважається, що концентрація іонів впливає на екранування поверхневого заряду оболонки білка і таким чином взаємодія при збірці відбувається на зовнішній поверхні шару білка. З іншого боку, рН впливає на збірку білкової оболонки в їх природних переважаючих спіральних структурах. Гіс-тег продукує міжчастинкові взаємодії і дозволяє організацію; однак додавання комплексів Ni-NTA до розчинів інгібує цей ефект.

1.2.2. Направлене позиціонування і структурування

Частинки ВТМ можуть бути зорієнтовані простими процесами в потоці рідини і повітря. У водному розчині частинки ВТМ орієнтуються за допомогою сушки або видаленням краплі за рахунок капілярної сили і фільтрувального паперу. Віруси вирівнюються в напрямку потоку рідини, швидше за все, через поперечні сили поблизу межі поверхні рідини.

Метод нагнітання повітря підходить для поверхонь з сильною взаємодією ВТМ, таких як високополярні поверхні, а метод бічного всмоктування рідини придатний для поверхонь зі слабкою взаємодією ВТМ, наприклад, вуглецю. Характерний час дифузії для частинок ВТМ від краплі до поверхні становить близько 1 год при концентраціях 0.1мг/мл. Це демонструє простий спосіб формування орієнтованих ВТМ без необхідності виготовлення моношару або рідкого кристалу.

Детальне вивчення параметрів процесу конвективного осадження ВТМ виявило різні орієнтації і товщини ВТМ (рис.8). Під час конвективних осаджень, ВТМ осідає з суспензії, яка утримується між рухомим шаром і субстратом.

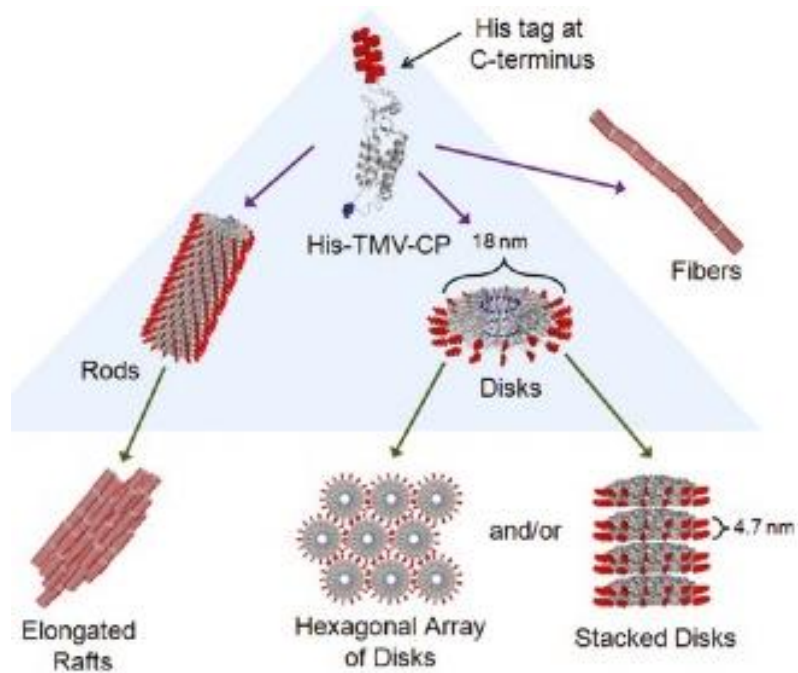


Рис. 7. Самоорганізовані структури ВТМ (Гіс-тег показаний на зовнішній частині кожної білкової оболонки) [51].

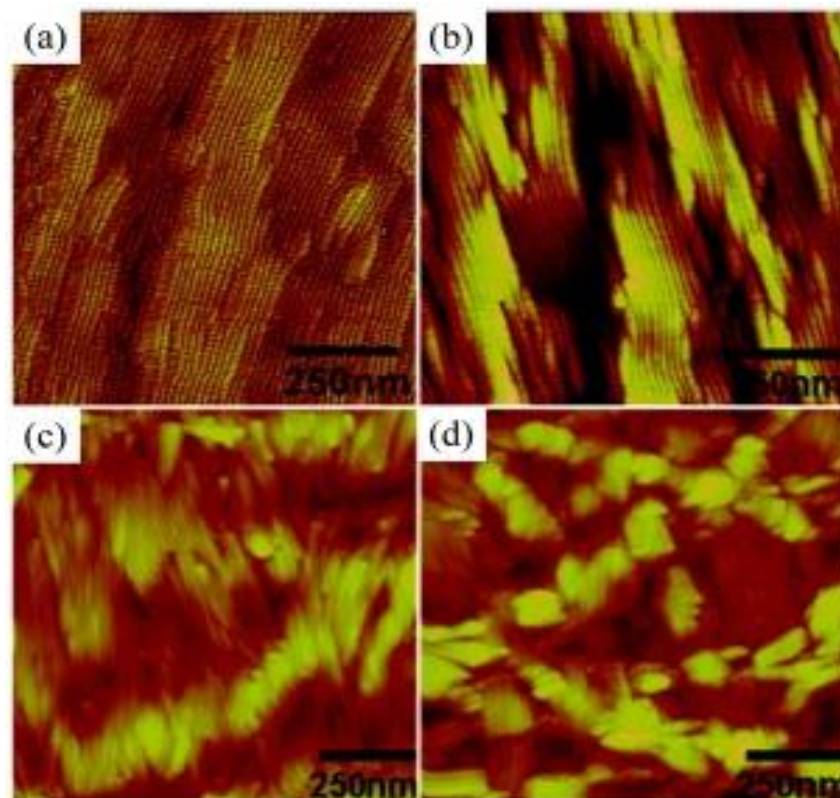


Рис. 8. АСМ зображення ВТМ зібраного на (а) аміні, (b) оксиді-кремнію (с) акрілокси-, і (d) метил-кінцевих поверхнях. Знімки показують сильну залежність вірусного впорядкування від поверхневої енергії підкладки [52].

Сполучення формується на передньому краї рідини, сушка відбувається на задньому краї предметного скла. Шорсткість поверхні кінцевої плівки ВТМ є функцією поверхневої енергії підкладки, де збільшення шорсткості поверхні корелює із збільшенням кута в'язкості води. Орієнтація, щільність упаковки, і товщина контролювано змінюється залежно від концентрації вірусу і швидкості збірки. Спостерігається чотири режими збірки: (1) неповна моношарова з паралельною орієнтацією, (2) моношарова з паралельної орієнтацією, (3) багатошарова з нерегульованою орієнтацією, і (4) багатошарова з антипаралельною орієнтацією.

1.3. Застосування зондування

Віруси тютюнової мозаїки володіють багатьма привабливими рисами, які є вигідними для застосування. ВТМ є наноструктурою, що має високий потенціал для утворення зв'язків. Здатність ВТМ бути генетично модифікованими дозволяє їм не тільки мати високу селективність, але також дає можливість розробки та створення різних конструкцій для широкого спектру аналітичних застосувань. Крім того, його надійність і стійкість до рН дозволяють ВТМ бути легко інтегрованим, як рецептор в сенсорних системах. Тут ми зазначимо використання ВТМ для хімічного та біологічного зондування та їх розвиток у бік мініатюрних платформ. ВТМ використовується як фізіологічна компонента - РНК і білкові оболонки, як зонд для визнання речовин.

Вірусна РНК забезпечує кістяк структури для самозбірки білкової оболонки. Ця РНК також може бути використана як зонд. Такі зонди-датчики досліджені і розроблені з потенційними застосуваннями в виявленні мутацій та генній терапії.

1.3.1. Зонд РНК і гібридизація ДНК

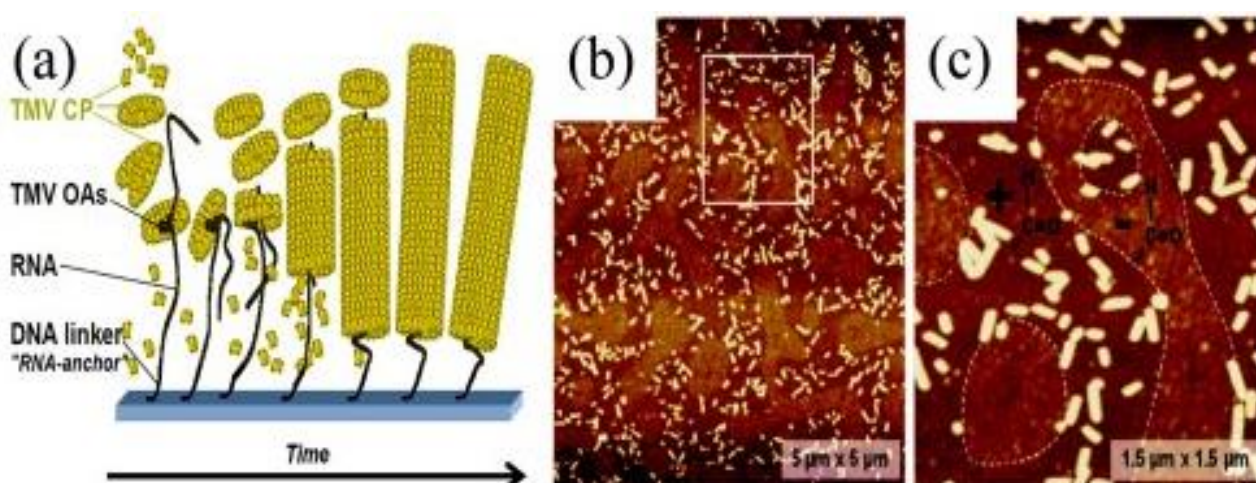


Рис. 9. (а) Схема РНК-спрямованої збірки. (б) АСМ зображення рельєфу стрижнів ВТМ СР. Крупний план (с) [53].

Часткова віріонна розбірка вірусного генома реалізується шляхом регулювання рН до рН 8. Ї [33] вперше продемонстрував, що ВТМ може бути модифікований шляхом

імобілізації комплементарних ДНК зондів. Флуоресцентна томографія, використовується для візуалізації і характеристики збірки ВТМ. Це стало можливим завдяки тіольному маркеру на зовнішній поверхні ВТМ-1Cys. Перевага маркуваних ВТМ в порівнянні зі звичайними ДНК або зондами ДНК є висока густина флуоресцентних міток, які можуть бути реалізовані на поверхні ВТМ, викликаючи більш значний флуоресцентний сигнал на одну ДНК гібридизацію. Це дослідження показало, подвійну здатність ВТМ-1Cys діяти в якості як селективного зонда для гібридизації ДНК, так і прояву флуоресцентного індикатора з покращеними характеристиками.

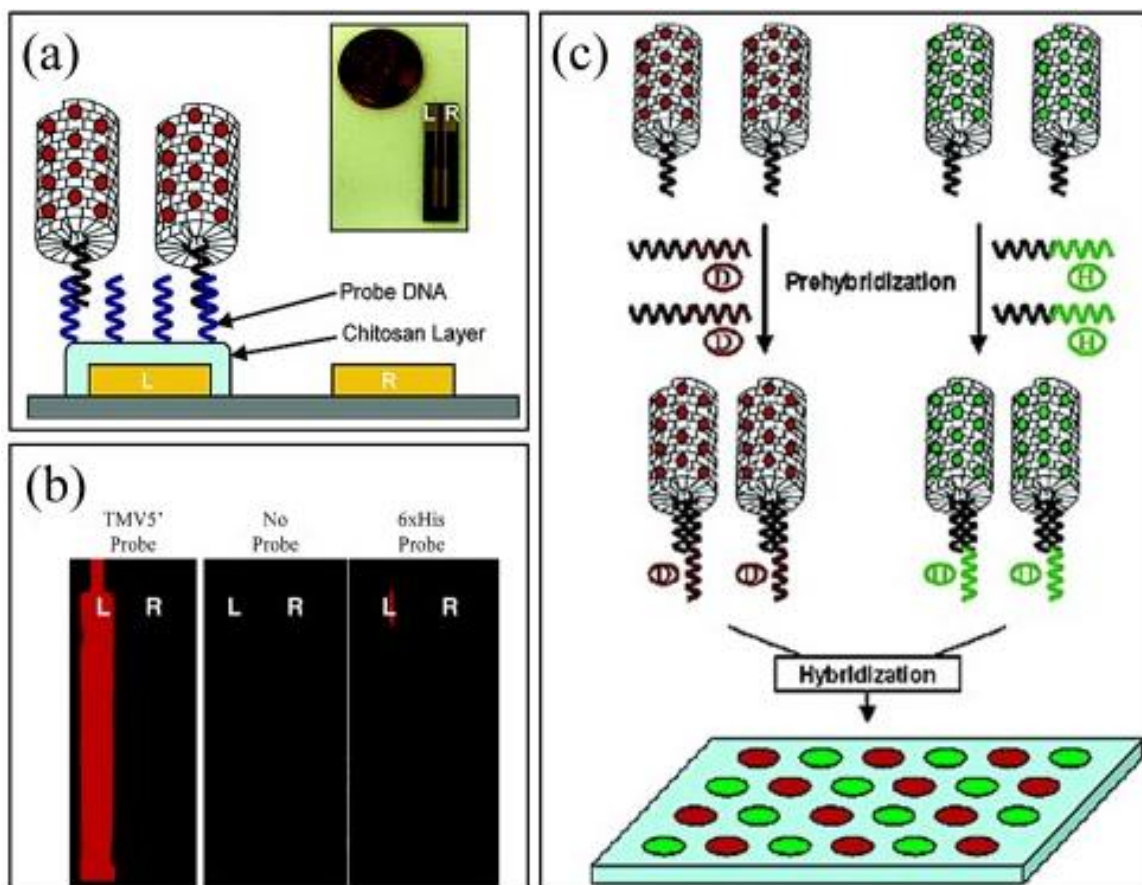


Рис. 10. (а) РНК вибірково гібридизована з ДНК. (с) люмінесцентні зображення. (b) діаграма гібридизації.

Ї показав, що РНК зонд ВТМ-1Cys може бути вдосконалений, якщо використати вірусні нанопідкладки. Використовуючи перевагу частково незахищеного РНК в нанопідкладках ВТМ-1Cys, вірус може бути попередньо гібридизований з ДНК компонуваньником. Компонуваньник ДНК виконує роль доповнювача до відкритої ВТМ-1Cys РНК на першій половині компонуваньника. Інша половина, запрограмована для захоплення послідовності зондів ДНК, що вибірково іммобілізується на поверхні кристалу (рис. 10). Догібридизований ВТМ-1Cys може самозбиратись в адресні ДНК зонди. Щоб відрізнити два різно запрограмовані компонуваньники ДНК спостерігають різну за кольором флуоресценцію.

Щоб мати більшу різноманітність запрограмованої ДНК послідовності без введення додаткової флуоресцентної диференціації міток, були реалізовані різні платформи. Робота показала здатність ВТМ бути повністю інтегрованим в перспективні детектори.

1.3.2. Детектування за допомогою модифікації білка оболонки

РНК ВТМ є місцем ДНК – гібридизації. Зовнішня поверхня білкової оболонки ВТМ має тисячі місць, які можуть бути використані для селективного зв'язування. Бракман та ін. хімічно функціоналізував вільний ВТМ з олігоаніліном (ВТМ:ОАНИ) з метою детектування летючих органічних сполуки (ЛОС). Опір визначався двома електродами, вимірюючи зміну провідність через шар рецепторів ВТМ:ОАНИ. Експерименти показали, що ВТМ:ОАНИ має велику селективність до етанолу і метанолу.

Білковий шар також показав широкий діапазон зв'язків на зовнішній поверхні, в тому числі послідовності олігопептида. Короткі послідовності пептидів є особливо цікавими в зв'язку з їх потенціалом до високої спорідненості та селективності. На сьогоднішній день метод використаний для ідентифікації численних одноланцюгових антитіл, а також рецепторів пептидів, які зв'язуються з численними патогенами і токсинами. Гнучкість та інтеграція є двома важливими факторами в розвитку надійних і універсальних систем зондування. Надійність архітектури та генетичної керованості ВТМ робить його виключно гнучкою платформою для контрольованого детектування пептидних рецепторів на різних підкладках.

ВТМ-TNT (тринітротолуол) також використовується як речовина в електрохімічному сенсорі для детектування. Піковий струм показує лінійну залежність від концентрації TNT в системі. За допомогою введення ВТМ-TNT до розчину TNT, спостерігався менший спад струму (рис.11). Це пов'язано зі зв'язками TNT з пептидом. В результаті чого молекули TNT втрачають рухливість, що призводить до зниження спаду струму. Різниця в піковому струмі між використанням немодифікованого ВТМ і ВТМ-TNT зростає до насиченої різниці 4.5 мкА починаючи з концентрації TNT 4.3 мкг/мл (46% абсолютного пікового струму порівняно з контрольованим). Ця різниця струму може бути використана для детектування TNT.

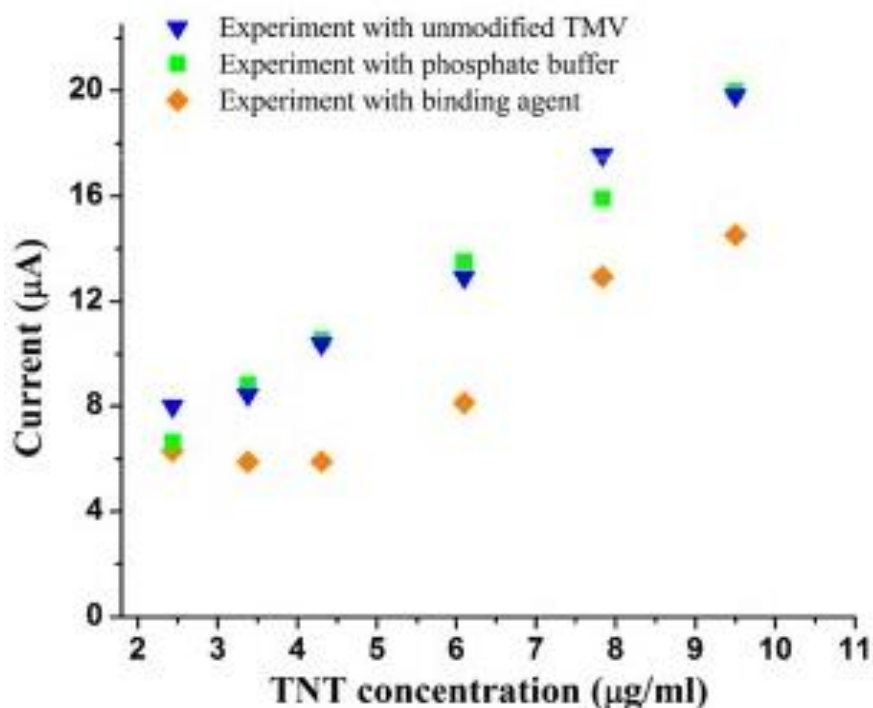


Рис. 11. Пікові струми скорочення TNT, використовуючи фосфат буфера, немодифікований сполучний агент ВТМ і ВТМ-TNT-ВР.

2. ДОСЛІДЖЕННЯ ОПТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВТМ-НАНОЧАСТИКИ БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ

Методика отримання гідрозолей срібла базується на відновленні нітрату срібла таніном у присутності буферного розчину тетраборату натрію і гідроксиду натрію (рН=9.8). У реакційну ємність при кімнатній температурі вводився буферний розчин (рН=9.8) розчин таніну, після, при безперервному перемішуванні, зі швидкістю 1.3 мл/хв вводився розчин AgNO_3 . У синтезі використовували водні розчини нітрату срібла і таніну: 1) у еквімолярних співвідношеннях, 2) у десятикратному надлишку таніну, 3) в десятикратному надлишку нітрату срібла. На рис. 12 наведено оптичні спектри золів у кварцових кюветах з довжиною оптичного шляху 10 мм і діапазоні 350-600 нм. На кривих спостерігається формування плеча, а при надлишку срібла - чітко виражена смуга при $\lambda = 420$ нм

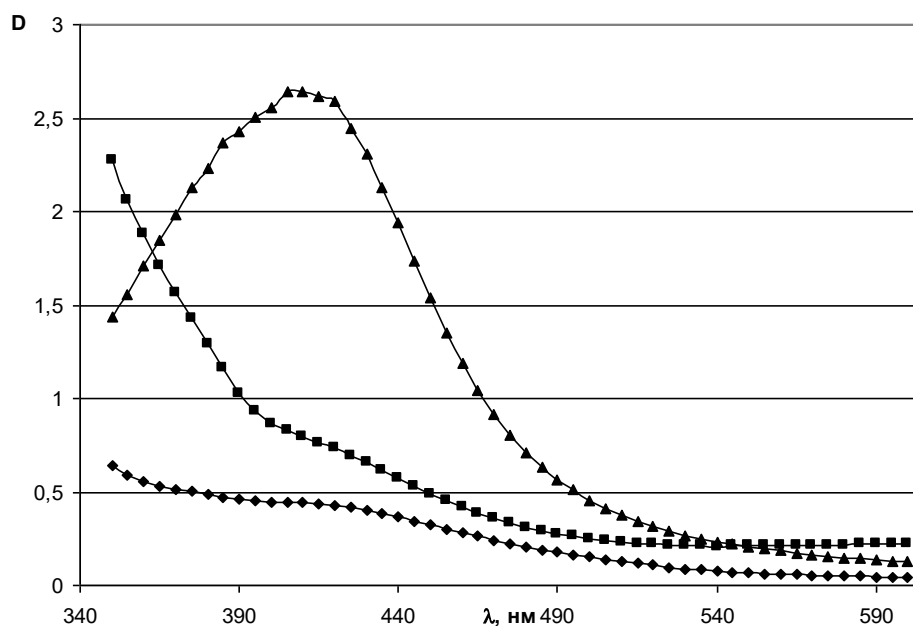


Рис. 12. Оптичні спектри гідрозолей срібла, отриманих: \blacklozenge - у еквімолярних співвідношеннях нітрату срібла і таніну; \blacksquare - у надлишку таніну; \blacktriangle - у надлишку срібла.

З метою дослідження впливу типу розчинника на характеристики золів, синтез нанорозмірних частинок срібла проводили з використанням 96% розчину етанолу. Максимум смуги поглинання оптичного спектру в етанолі зміщений в довгохвильову область порівняно з гідрозолем (рис. 13).

Дослідження отриманих нанодротів було проведено в ультрафіолетовому та видимому діапазоні довжин хвиль на двопроменевому спектрофотометрі SPEKOL. Визначено наявність одного максимуму на 540 нм на графіках залежності оптичної щільності нанодротів, що вказує на оптичну активність нанодротів в цьому діапазоні. Слід зазначити, що для чистих вірусів піки відсутні (рис. 14).

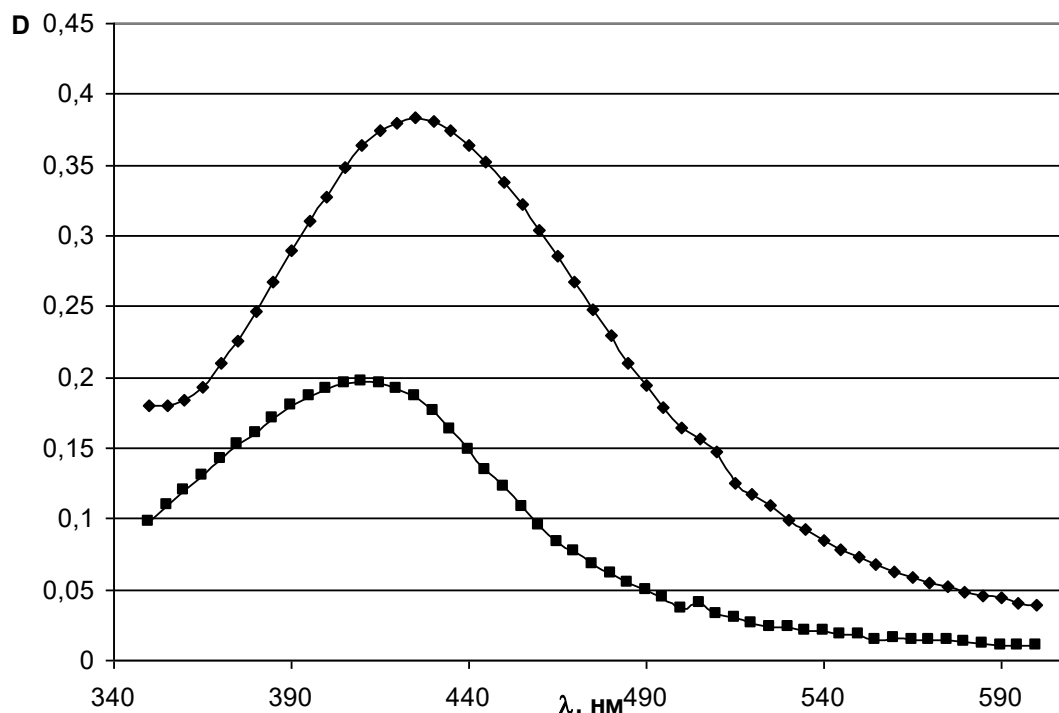


Рис. 13. Оптичні спектри: \blacklozenge - золь срібла в етанолі; \blacksquare – гідрозоль срібла.

Отримані результати підтверджуються даними роботи [54] та вказують на наявність оптичної анізотропії. ВТМ є паличкоподібним вірусом, що складається з правогвинтової однитчастої рибонуклеїнової кислоти та має позитивний пік на спектрі циркулярного дихроїзму (ЦД) при 190 нм і негативний пік при 209 нм які обумовлені збудженням та переходом з π до π^* з оптичними диполями перпендикулярно і паралельно осі відповідно [54].

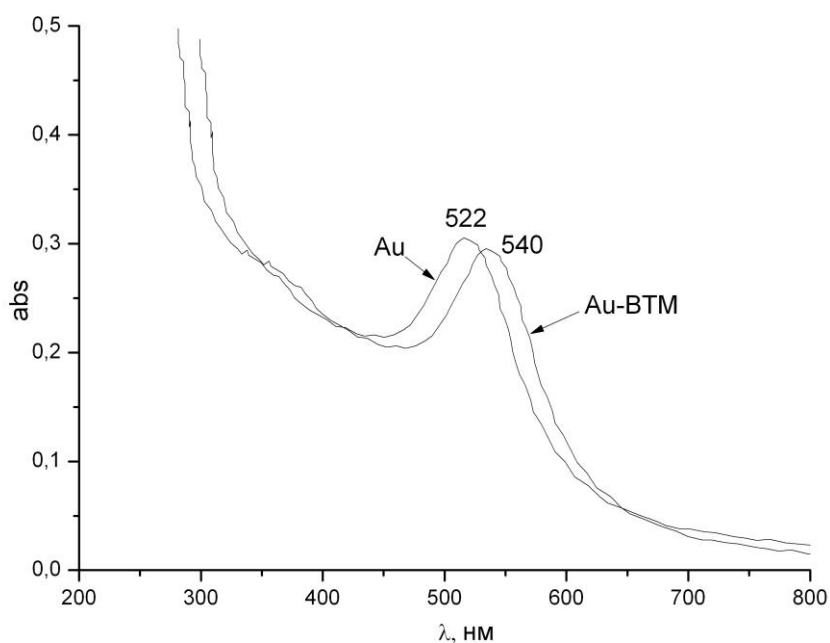


Рис. 14. Оптичні спектри чистих наночастинок та нанодотів ВТМ-Аu.

Піки для наночастинок золота на спектрах ЦД в області 200-300 нм не спостерігаються. А для комплексу ВТМ-Аu спостерігається негативний пік ЦД на 222 нм та максимум на 540 нм на оптичних спектрах. Це вказує на кореляцію циркулярного дихроїзму та спектрів плазмонного резонансу ВТМ-Аu та кореляцію плазмонного резонансу та оптичної активності, а також на наявність в комплексі ВТМ-Аu двох типів хіральних структур: правих амінокислот, та правих α -спіралей з амінокислот. Якщо розглянути ВТМ-Аu як хіральне середовище, в якому показники заломлення для правосторонньої та лівосторонньої поляризації в напрямку поширення $+x \in n_+$; n_- , відповідно. Враховуючи, що показники заломлення залежать від напрямку розповсюдження: правостороннє (лівостороннє) поляризоване світло в напрямку $-x$ відповідно n_+ (n_-). Така різниця показників заломлення грає істотну роль в отриманих результатах - хіральне середовище відноситься до нормального середовища з показником заломлення n . Довжина нормальної та кіральної складової середовища l і $L-l$, відповідно. Відношення коефіцієнта пропускання для правосторонньої поляризації t_+ і лівосторонньої поляризації t_- розраховується методом матриць переносу. Відношення t_- / t_+ виражається як

$$\frac{t_-}{t_+} = e^{-2i(\theta_+ - \theta_-)} \times \frac{A_{+-}}{A_{-+}} \quad (1)$$

Де

$$A_{+-} = (\cos \theta - \frac{i}{n} \sin \theta) \times \left[n_+ e^{i\alpha_{+-}} + n_- e^{-i\alpha_{+-}} + n_+ n_- (e^{i\alpha_{+-}} - e^{-i\alpha_{+-}}) \right]$$

$$+ (\cos \theta - n i \sin \theta) \times (e^{i\alpha_{+-}} - e^{-i\alpha_{+-}} + n_- e^{i\alpha_{+-}} + n_+ e^{-i\alpha_{+-}})$$

$$\text{з } \theta = kl / n, \theta_{+,-} = kl / n_{+,-} \text{ та } \alpha_{+-} = kl / n_+ - kL / n_-.$$

Перший фактор правої частини рівняння (1), $e^{-2i(\theta_+ - \theta_-)}$, дає оптичну активність без впливу нормального середовища. Другий фактор, A_{+-} / A_{-+} відповідає ефекту приєднання нормального середовища до кірального середовища, та відображає оптичну активність. $A_{+-} / A_{-+} \neq 1$ означає модифікацію оптичної активності. Плазмонна частота A_{+-} / A_{-+} є значно більшою через плазмонний резонанс, що приводить до значного підвищення оптичної активності. З іншого боку, в УФ-області, $A_{+-} / A_{-+} \sim 1$, що повинно підвищити оптичну активність комплексу. Оптична активність комплексу в УФ-області, не менша, ніж у кірального середовища. Ця проста модель забезпечує несуперечливе пояснення отриманих експериментальних результатів та відкриває можливість використання комплексів ВТМ-Аu для створення 3D метаматеріалів.

3. ДОСЛІДЖЕННЯ ЕЛЕКТРОННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАНОДРОТІВ ВТМ-Аu

Методом зондової тунельної мікроскопії та спектроскопії було проведено дослідження електронних властивостей вірусів та нанокompatитів на основі ВТМ та наночастинок золота. Експерименти проводились на приладі фірми JEOL (JEOL 4500).

Дослідження електронних властивостей отриманих нанодротів (рис. 15) дозволили встановити, що при скануванні в інтервалі від 0 до 6 Вольт виникають спонтанні і індуквані переходи в стан з відносно високою електропровідністю. Причому для чистих ВТМ цей ефект не спостерігається.

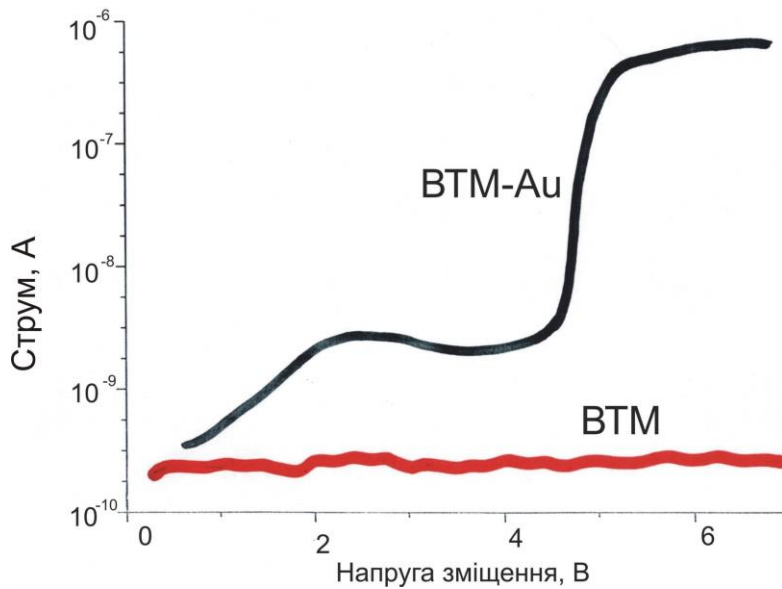


Рис. 15. Залежність I-V для нанодоту BTM-Au та чистого вірусу BTM.

Вольт-амперні характеристики нанодотів BTM-Au показують різке зміщення при прикладанні напруги 3.1 В та наступну стабілізацію у новому значенні (рис. 16). До досягнення напруги 3.1 В струм зростає поступово. При зменшенні напруги до -2.4 В система повертається до початкового стану (рис. 16).

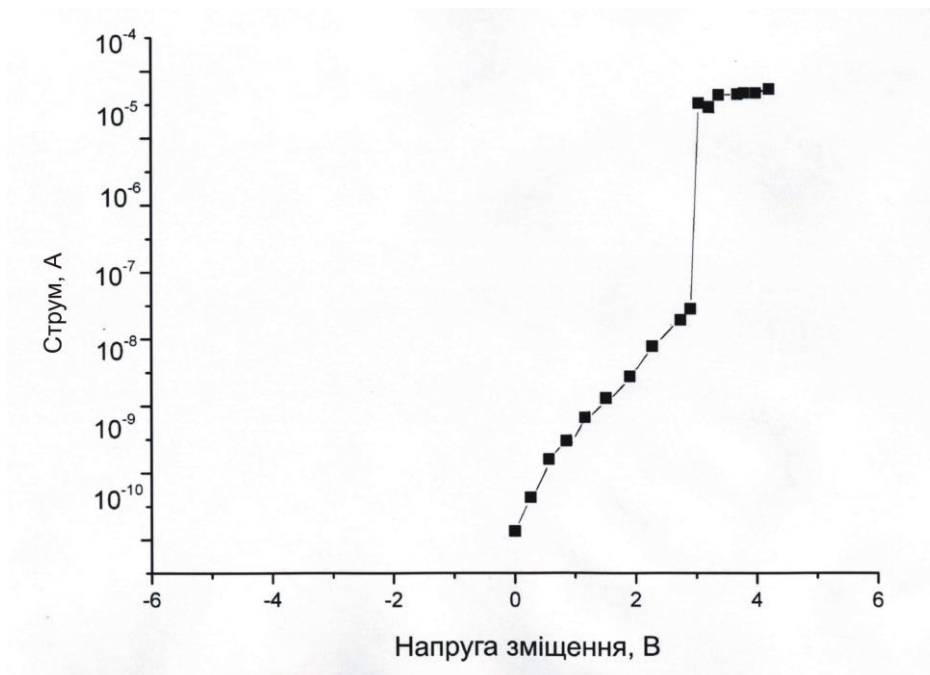


Рис. 16. Вольт-амперні характеристики нанодотів BTM-Au.

Спостережуване «перемикання провідності» в подальшому може бути використане для створення цифрових записуючих пристроїв з високою щільністю запису інформації. Принцип дії такого пристрою буде базуватися на передачі заряду від оболонки вірусу до наночастинки при ввімкненні зовнішнього електричного поля. Кожна така гібридна одиниця BTM-Au може працювати як енергонезалежний

запам'ятовуючий пристрій, при цьому її провідність може перемикатися між високим та низьким рівнем, що відповідає логічним «нулю» та «одиниці». Однак необхідно провести підбір шару, який буде стабілізувати захоплений заряд, що дозволить зберігати інформацію.

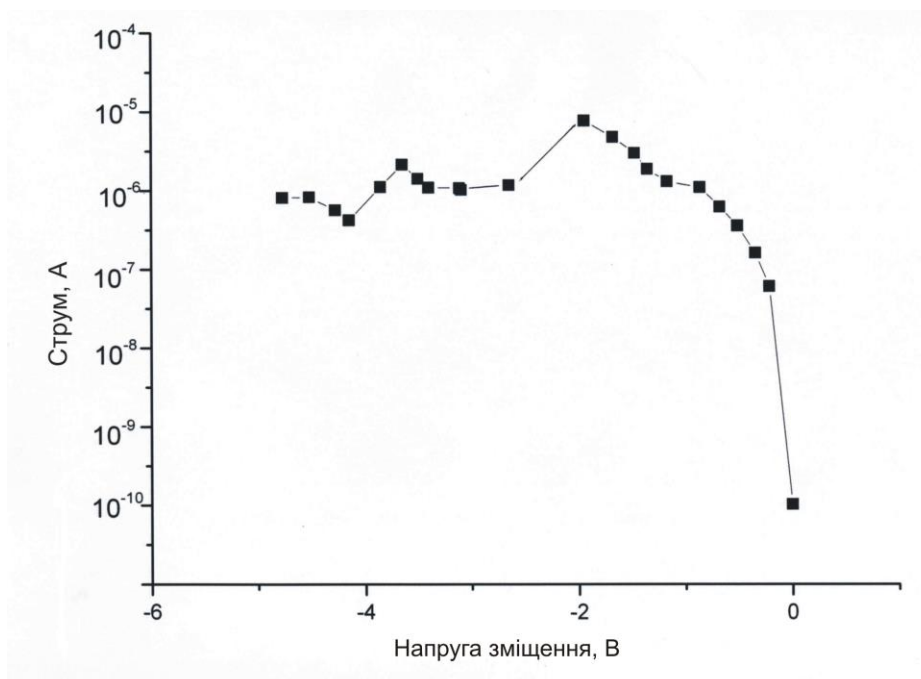


Рис. 17. Вольт-амперні характеристики нанодротів ВТМ-Au.

4. ДОСЛІДЖЕННЯ АДГЕЗІЙНИХ ТА ОКИСЛЮВАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВІРІОНІВ ВТМ НА ПОВЕРХНІ МОНОКРИСТАЛУ КРЕМНІЮ

Методами атомно-силової мікроскопії досліджено адгезійні властивості вірусу тютюнової мозаїки на поверхні кремнію з напиленням золота. Встановлено суцільне покриття поверхні ВТМ наночастинками золота. На відміну від наночастинок золота, отриманих хімічним синтезом, які розташовуються поблизу вірусів, знаходяться переважно у їх кінців, рідше – по краях від вірусів. Висота отриманих дротів, обрахована по даним отриманих зображень, становила 10.5 ± 0.9 нм, що у межах похибки вимірювання добре співпадає зі значенням діаметру частинки ВТМ, обрахованим іншими методами (рис. 18).

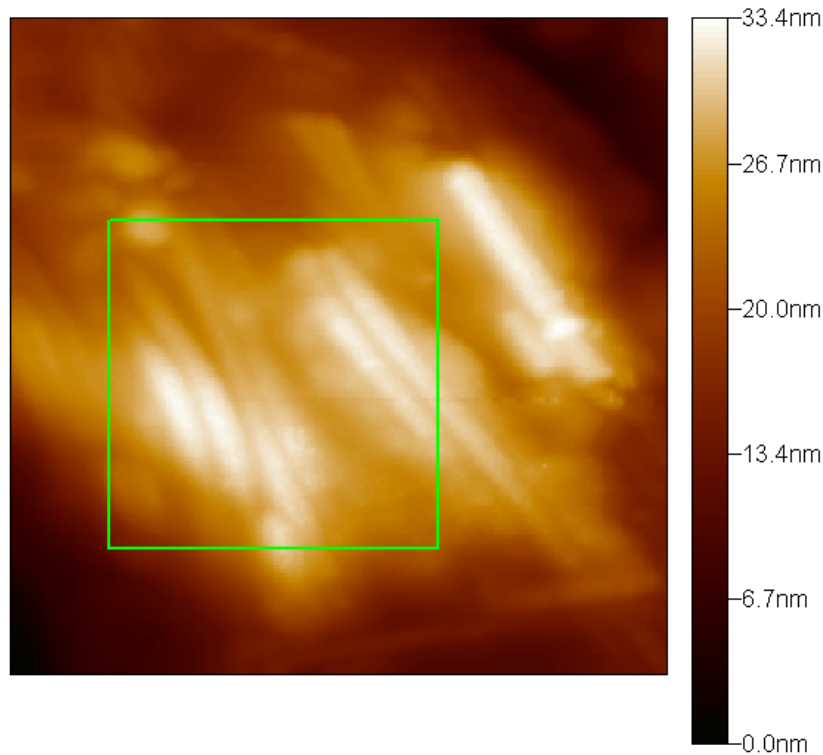


Рис. 18. АСМ знімок нанодотів ВТМ-золото на монокристалі Si (111).

Встановлено наявність частинок, довжина яких приблизно у два рази більша за значення, що припадає на максимум (300 нм), що свідчить про здатність віріонів стикуватися «торець в торець». При підвищенні концентрації ВТМ разом зі стиковкою «торець в торець» спостерігається також агрегація вірусних частинок «бік у бік», причому у такій взаємодії можуть брати участь до десятка частинок (рис. 19).

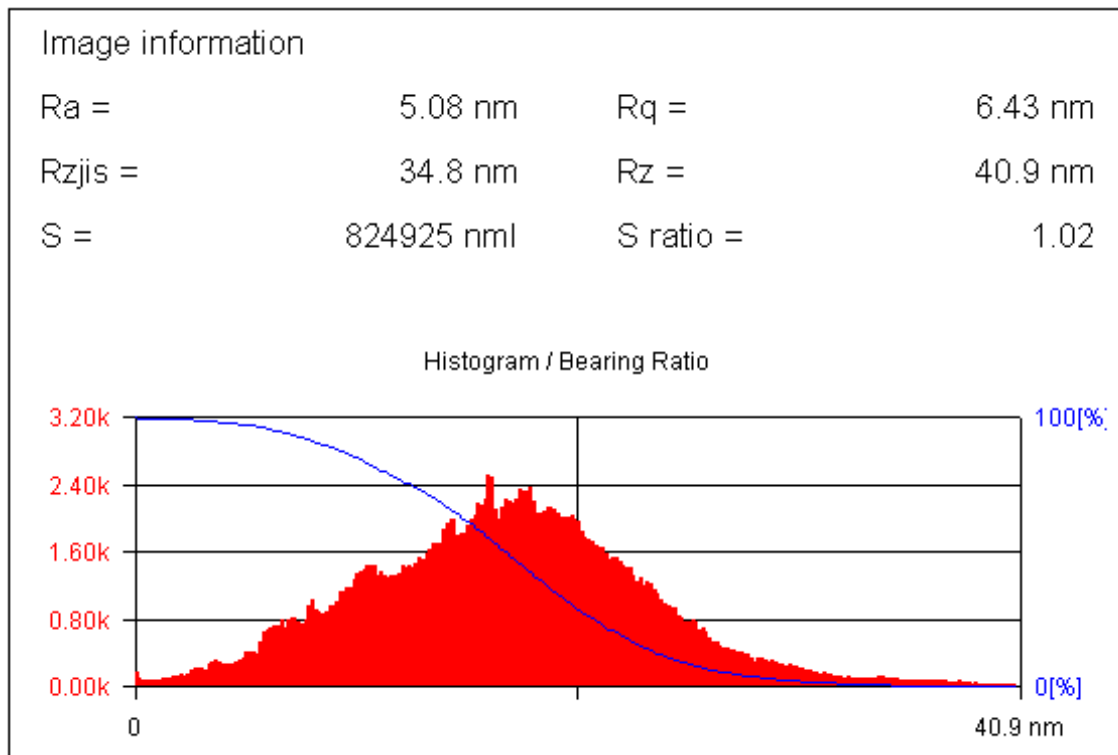


Рис. 19. Переважне розташування нанодотів у зеленому квадраті на рис. 18.

Наявність подібних агрегатів у вигляді острівців на підкладинці з кремнію дає підстави припустити кооперативний механізм такого зв'язування вірусних частинок між собою. Встановлено пріоритетний напрямок в орієнтації частинок ВТМ на поверхні кремнію, який співпадає з направленістю кристалографічних осей кремнію.

Після отримання нанодротів при використанні термічного методу нанесення золота, було проведено визначення міцності зв'язування вірусів з поверхнею металів та напівпровідників за допомогою атомно-силової мікроскопії.

Після видалення ВТМ з поверхні золота, проведено дослідження морфології поверхні методом атомно-силової мікроскопії. Дослідження вимірювання показали істотну зміну рельєфу золота.

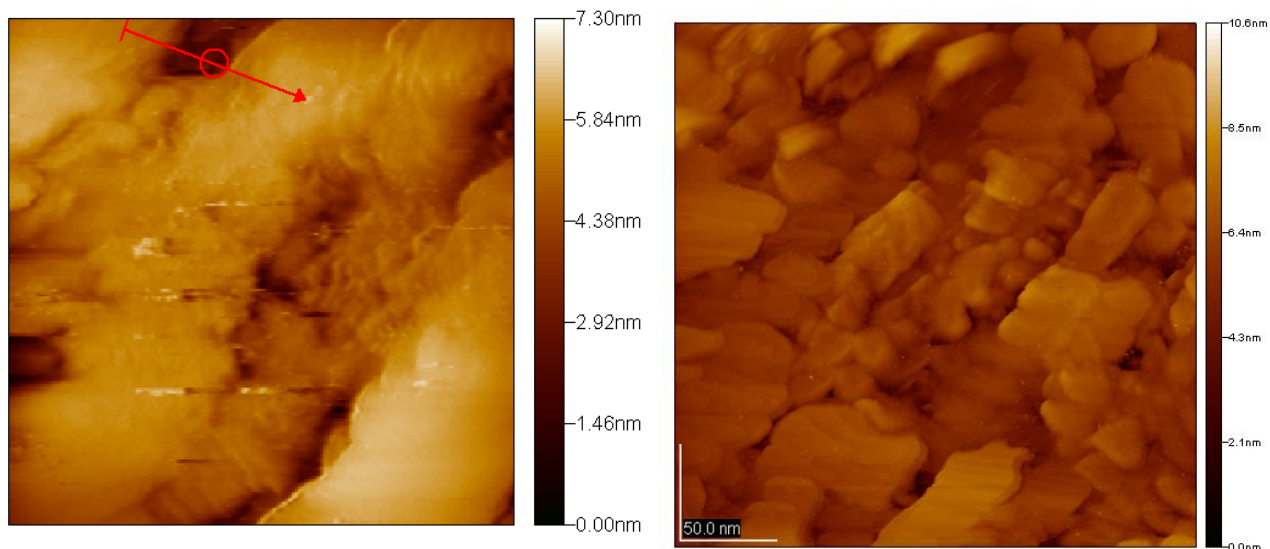


Рис. 20. Зображення поверхні золота після видалення ВТМ

Глибина каверн, що утворилися, досягала 2 нм, а ширина – 18 нм, що дозволяє передбачити, що вони утворені вірусами (рис. 20). Цей результат важливий, враховуючи низьку пасивацію золота. Є декілька припущень відносно характеру взаємодій віріонів з золотом. Існує два види адсорбції, фізична і хімічна. Фізична полягає у дії ван-дер-ваальсових сил, створенні водневих і інших зв'язків електростатичного характеру. Хімічна виникає за рахунок хімічних взаємодій між речовинами.

Наявність характерних канавок від віріонів свідчить про високу хімічну активність віріонів ВТМ (рис. 21).

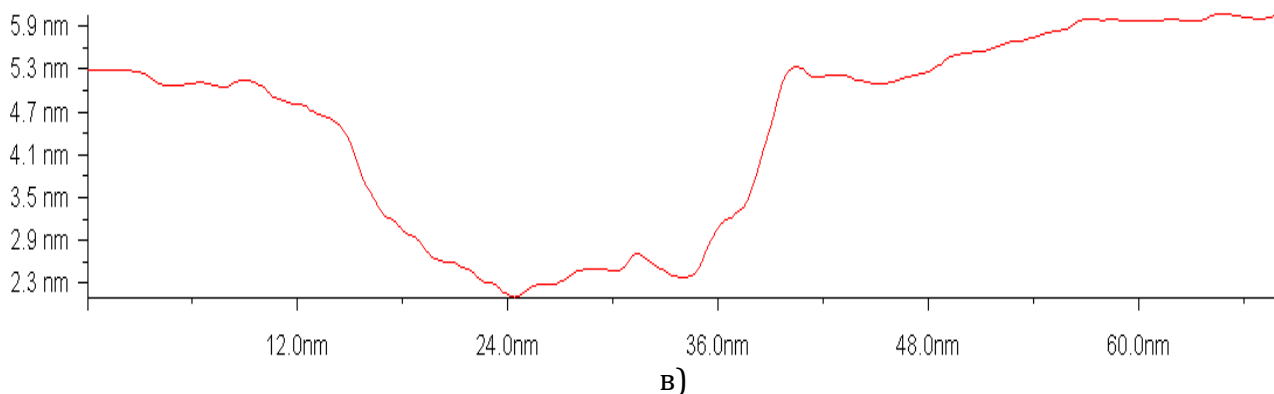


Рис. 21. Характерний профіль перерізу каверн поверхні золота після видалення віріонів ВТМ.

5. ПОВЕДІНКА ВІРУСІВ ВТМ ТА ВМЛ ПРИ ВЗАЄМОДІЇ З АНТИТІЛАМИ

Віруси складаються з нуклеїнової кислоти і глобулярних білкових молекул та є найпростішими формами живих організмів. Вірусна частинка не має власного апарату відтворення, однак, проникаючи в клітину, забезпечує власну реплікацію за рахунок синтезу інфікованою клітиною вірусних білків. Розміри вірусних частинок коливаються у межах від 15 до 1200 нм. Окрім біологічних ознак (здатність до відтворення, інфекційність) віруси мають багато інших властивостей. Зокрема, вірусні частинки здатні утворювати кристали з корисними оптичними властивостями. Наявність великої кількості зарядів на внутрішній і зовнішній поверхнях віріонів дозволяє отримувати наночастинки матеріалів за допомогою біоміметичного методу. Здатність вірусів проникати до клітини може бути використана для створення новітніх внутрішньоклітинних нанозондів та наносенсорів. Найбільш перспективними для застосування у нанотехнології є віруси рослин, оскільки вони є безпечними для людини та тварин, можуть бути отримані у великій кількості та здатні витримувати модифікації.

Для дослідження поведінки палочкоподібних вірусів, що мають спіральну симетрію, згідно якої облаштовані їх білкові субодиниці, зокрема, вірусів тютюнової мозаїки та вірусу мозаїки люцерни (ВМЛ) було використано метод зондової мікроскопії високої роздільної здатності.

Були використані суспензії ВТМ з концентрацією 12 мг/мл та ВМЛ з концентрацією 10 мг/мл. Суспензії наносились на поверхню монокристала кремнію Si(111) за допомогою мікрошприца. Висушування поверхні Si(111) проводилось у струмені сухого азоту, після чого зразок вносився до робочої камери атомно-силового мікроскопу (АСМ). Залишковий тиск у камері зондування становив 3.0×10^{-8} Па. Для зондування поверхні використовували кантилевери виготовлені з нітриду кремнію - Si₃N₄. Дослідження вірусу на поверхні монокристалу проводилось в безконтактному режимі АСМ з атомною роздільною здатністю.

Під час експерименту було досліджено взаємодію ВТМ з поверхнею Si (111) при нанесенні свіжої суспензії вірусів та через 4 місяці після її приготування. Отримані результати були порівняні з результатами дослідження взаємодії ВМЛ з ідентичною поверхнею.

Найбільш цікавим залишається питання механізму протидії агрегації віріонів. Для цього нами було досліджено поведінки вірусів на поверхнях монокристалу кремнію з попереднім щепленням їх з антитілами. На рис.22 приведено поведінки вірусів ВМЛ на монокристалічній поверхні кремнію (111).

Нанесення суспензії віріонів ВМЛ на поверхню Si (111) супроводжувалось агрегацією віріонів у щільні скупчення та зменшенням їхньої висоти з 19 нм до 9 нм. При цьому переважно спостерігалось утворення багатошарових неупорядкованих скупчень віріонів (Рис. 22).

Існує два типи адсорбції: 1) фізична – відбувається за рахунок дисперсійних (Ван-дер-Ваальсових) сил, утворення водневих та інших взаємодій електростатичного характеру; 2) хімічна – за рахунок утворення хімічних зв'язків між адсорбатом та адсорбентом. Як відомо, зовнішня та внутрішня поверхні капсиду вірусів є протилежно зарядженими, що зумовлене наявністю позитивно та негативно заряджених груп у складі бічних радикалів амінокислот. Однак, поверхня Si(111) не є зарядженою, і, очевидно, що взаємодія капсиду з даною поверхнею не зумовлюється електростатичним притяганням, а тому роль подібних взаємодій є виключеною. Хімічна адсорбція також виключається, оскільки кремній не утворює хімічних зв'язків із жодним компонентом вірусних капсидів. Тому, найбільш імовірними процесами при адсорбції віріонів на поверхні Si(111) є Ван-дер-Ваальсові взаємодії та утворення водневих зв'язків із поверхнею. Ван-дер-Ваальсові взаємодії переважають при адсорбції віріонів на поверхні графіту, оскільки даний матеріал має гідрофобні властивості і утворення більш міцних

водневих зв'язків є неможливим. Енергія даних взаємодій є найнижчою (~ 2 кДж), а тому Ван-дер-Ваальсові взаємодії є дуже слабкими і не супроводжуються значними змінами конформації молекул. Наслідком цього є відсутність змін висоти віріонів ВТМ на поверхні графіту.

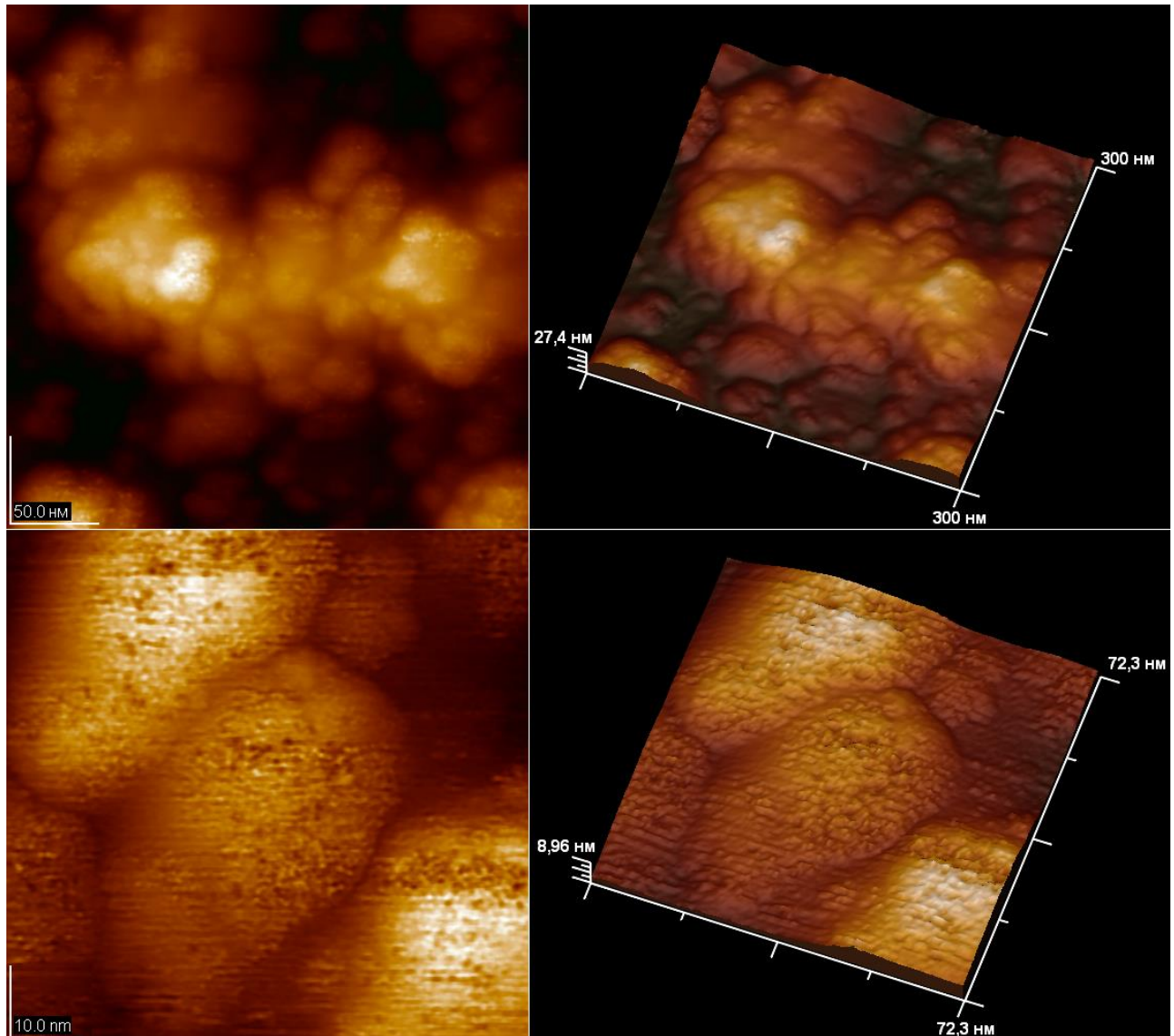


Рис. 22. Віріони ВМЛ на поверхні Si (111) при нанесенні свіжої суспензії віріонів.

Адсорбція віріонів ВТМ на поверхні Si(111), навпаки, супроводжується значними змінами їхньої конформації та зменшенням висоти віріонів до 11.7 нм. Подібний результат було отримано при дослідженні поведінки вірусу мозаїки люцерни (ВМЛ) на даній поверхні. Адсорбція віріонів ВМЛ супроводжувалась зменшенням їхньої висоти з 19.0 нм до 9.0 нм.

Очевидно, що такі зміни конформації віріонів обумовлені амінокислотним складом зовнішньої поверхні капсиду. Оскільки на зовнішній поверхні зосереджені негативно заряджені амінокислотні залишки, які містять гідроксильні та карбоксильні групи (серин, треонін, тирозин, аспарагінова та глютамінова кислоти), то вони можуть забезпечувати адгезію віріонів шляхом утворення водневих зв'язків із поверхнею. Якщо порівняти вміст амінокислот, бічні ланцюги яких несуть вищезгадані групи, у капсидних

білків ВМЛ та ВТМ (AMV-CP та TMV-CP, відповідно), то помітно, що вміст таких амінокислот у AMV-CP є більшим - таблиця 1.

Таблиця 1.

Вміст амінокислот, що несуть гідроксильні та карбоксильні групи у капсидних білках ВТМ та ВМЛ

АМІНОКИСЛОТА	AMV-CP	TMV-CP
Серин	15	16
Треонін	13	16
Аспарагінова кислота	11	8
Глутамінова кислота	11	6
Тирозин	4	4

Таким чином, адсорбція вірусу тютюнової мозаїки та вірусу мозаїки люцерни на поверхні Si(111) супроводжується змінами конформації віріонів внаслідок утворення водневих зв'язків та Ван-дер-Ваальсових взаємодій. Зміна конформації полягає у зменшенні висоти віріонів внаслідок взаємодії амінокислотних залишків на зовнішній поверхні капсиду з атомами силіцію на поверхні Si(111). Адсорбція віріонів ВТМ супроводжується утворенням одношарових плівок, у той час, як при адсорбції ВМЛ на поверхні Si(111) відбувається нашарування декількох віріонів.

Дослідження суспензії віріонів ВМЛ та комплексів антитіл на поверхні Si (111) показали, що антитіла специфічно зв'язуються на поверхні віріонів ВМЛ (рис. 23). Це зв'язування супроводжується агрегацією віріонів у щільні скупчення та зменшенням їхньої висоти з 19 нм до 9 нм. При цьому переважно спостерігалось утворення багатшарових неупорядкованих скупчень віріонів. Тобто, зв'язування антитіл перешкоджало агрегації віріонів, про що свідчить їх розміщення на поверхні Si(111) та зменшення висоти вірусних часток на знімку.

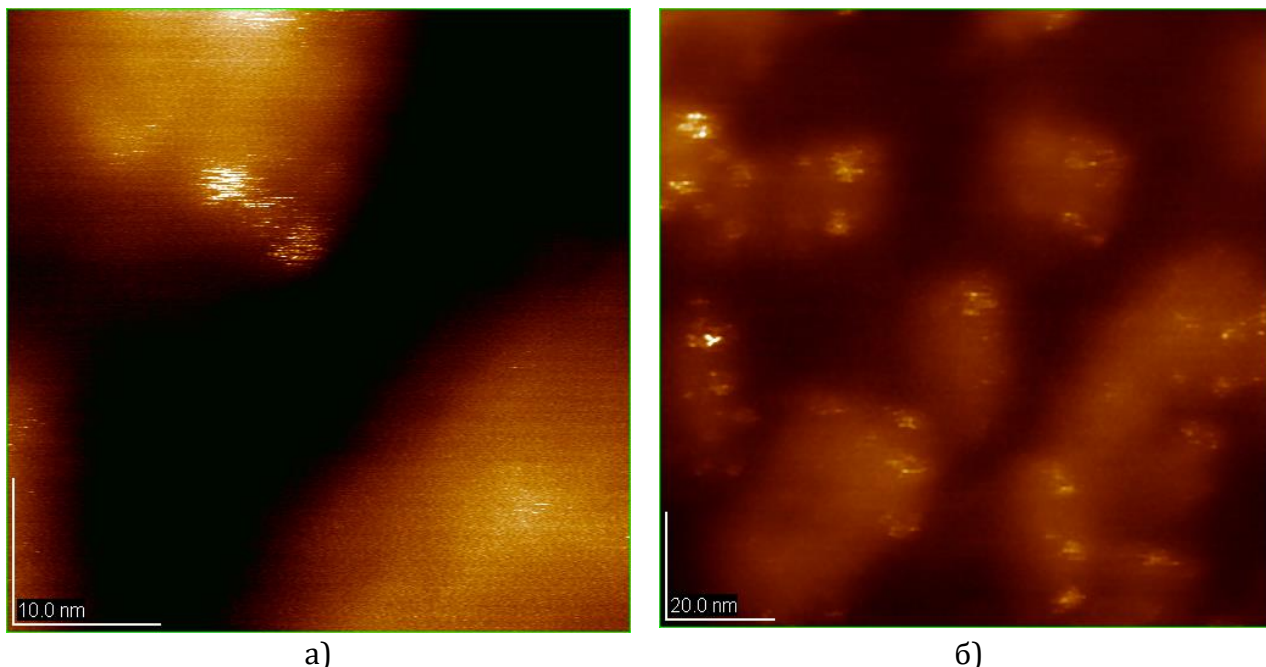


Рис. 23. Суспензії віріонів ВМЛ та комплексів антитіл на поверхні Si (111).

ВИСНОВКИ

Проведено дослідження фізичних, фізико-хімічних властивостей та морфології отриманих нанодротів методами зондової мікроскопії та спектроскопії атомної роздільної здатності. Показано, що геометрією ВТМ частинок можна управляти шляхом підготовки та варіювання хімії та механіки середовища.

Встановлена оптична активність комплексу ВТМ-Au з максимумом на 540 нм. Спостерігається залежність інтенсивності спектрів оптичного поглинання від орієнтації вектора поляризації. Наявність циркулярного дихроїзму, відкриває можливість використання комплексів ВТМ-Au для створення метаматеріалів.

При дослідженні електронних властивостей нанодротів методом зондової тунельної спектроскопії встановлено, що в інтервалі від 0 до 6 Вольт виникають спонтанні і індуковані переходи в стан з відносно високою електропровідністю. Для чистих ВТМ цей ефект не спостерігається.

У зв'язку з генетичною програмованістю оболонки ВТМ, похідні ВТМ можуть бути виготовлені з підвищеною селективністю до неорганічних матеріалів або поверхні підкладок. Останній факт дозволяє отримувати ефективні самозбірки нанорозмірних біоструктур в функціональних мікроприладах.

Показано, що взаємодія досліджуваних рослинних вірусів з антитілами призводить до відсутності агрегації і кластеризації наночастинок композиту.

Показана поверхнева руйнація золота після видалення наночастинок вірусу ВТМ з поверхні золота.

Запропонована методика синтезу нанодротів надає перспективи розробки вітчизняних технологій отримання наноматеріалів на основі рослинних вірусів. Вміння поєднувати ВТМ з неорганічними і органічними матеріалами відкриває перспективу розробки широкого кола цікавих композитів і гібридних матеріалів, подібних до розглянутих. Крім того, надійність ВТМ-шаблонів дозволяє проводити обробку при жорстких умовах поза межами можливостей біологічних молекул.

Литература

1. M. Sarikaya, C. Tamerler, A. Jen, *Nature Materials*, **2**, 577, (2003).
2. K. Kordas, A.E. Pap, J. Vahakangas, A. Uusimaki, S. Leppavuori, *Appl. Surf. Sci.*, **252**, 1471, (2005).
3. J.H. Wang, P.Y. Su, M.Y. Lu, L.J. Chen, C.H. Chen, C.J. Chu, *Electrochem. Solid-State Lett.*, **8**, 9, (2005).
4. S. Sun, D. Yang, G. Zhang, E. Sacher, J.-P. Dodelet, *Chem. Mater.*, **19**, 6376, (2007).
5. B. Xiang, P. Wang, X. Zhang, S.A. Dayeh, D.P.R. Aplin, C. Soci, D. Yu, D. Wang, *Nano Lett.*, **7**, 323, (2007).
6. L. Durrer, T. Helbling, C. Zenger, A. Jungen, C. Stampfer, C. Hierold, *Sens. Actuators B*, **132**, 485, (2008).
7. D.Q. Zhang, J. Yang, Y. Li, *Small*, **9**, 1284, (2013).
8. X. Feng, K. Shankar, O.K. Varghese, M. Paulose, T.J. Latempa, C.A. Grimes, *Nano Lett.*, **8**, 3781, (2008).
9. T. Ghoshal, S. Biswas, S. Kar, A. Dev, S. Chakrabarti, S. Chaudhuri, *Nanotechnology*, **19**, 065606, (2008).
10. V.L. Karbivskiy, T.A Korniyuk, *Ukrainica Bioorganica Acta.*, **2**, 7, (2009).
11. Z. Dengand, C. Mao, *Nano Lett.*, **3**, 1545 (2003).
12. Y. Ma, J. Zhang, G. Zhang, and H. He, *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 7097(2004).
13. Y. Hashimoto, Y. Matsuo, and K. Ijiro, *Chem. Lett.* **34**, 112 (2005).
14. Q. Gu, C. Cheng, T. Gonela, S. Suryanarayanan, S. Anabathula, K. Dai, and D.T. Haynie, *Nanotechnology* **17**, R14 (2006).
15. H. Kudo and M. Fujihira, *IEEE Trans. Nanotechnol.* **5**, 90 (2006).
16. J.M. Kinsella and A. Ivanisevic, *Langmuir* **23**, 3886 (2007).
17. M. Reches and E. Gazit, *Science* **300**, 625 (2003).
18. B. Zhang, S.A. Davis, N.H. Mendelson, and S. Mann, *Chem. Commun.* **2000**, 781.
19. R. Mogul, J.J.G. Kelly, M.L. Cable, and A.F. Hebard, *Mater. Lett.* **60**, 19 (2005).
20. X. Liang, J. Liu, S. Li, Y. Mei, and W. Yanqing, *Mater. Lett.* **62**, 2999 (2008).
21. M.T. Kumara, B.C. Tripp, and S. Muralidharan, *J. Phys. Chem.C* **111**, 5276 (2007).
22. D.J. Evans, *J. Mater. Chem.* **18**, 3746 (2008).
23. K. Namba, R.K. Pattanayek, and G.R. Stubbs, *J. Mol. Biol.* **208**, 307 (1989).
24. R.K. Pattanayek and G.R. Stubbs, *J. Mol. Biol.* **228**, 516(1992).
25. H.Wang and G.R.Stubbs, *J.Mol.Biol.* **239**, 371 (1994).
26. H. Wang, J.N. Culver, and G.R. Stubbs, *J. Mol. Biol.* **269**, 769 (1997).
27. A. Durham, J. Finch, and A. Klug, *Nature* **229**, 37 (1971).
28. W.O. Dawson, D.L. Beck, D.A. Knorr, and G.L. Grantham, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **83**, 1832 (1986).
29. J.N. Culver, W.O. Dawson, K. Plonk, and G. Stubbs, *Virology* **206**, 724 (1995).
30. J.N. Culver, *Annu. Rev. Phytopathol.* **40**, 287 (2002).
31. K. Gerasopoulos, M. McCarthy, P. Banerjee, X. Fan, J.N. Culver, and R. Ghodssi, *Nanotechnology* **21**, 055304 (2010).
32. E. Royston, S.-Y. Lee, J.N. Culver, and M.T. Harris, *J. ColloidInterface Sci.* **298**, 706 (2006).
33. H. Yi et al., *Nano Lett.* **5**, 1931(2005).
34. K. Gerasopoulos, X. Chen, J. Culver, C. Wang, and R. Ghodssi, *Chem. Commun.* **46**,7349 (2010).
35. K. Gerasopoulos, M. McCarthy, E. Royston, J.N. Culver, and R. Ghodssi, *J. Micromech. Microeng.* **18**, 104003 (2008).
36. Niu Zhongwei et al., *Nano Letters*, **12**, 3729, (2007).
37. Jung-Sun Lim et al., *Journal of Nanomaterials*, **4**, 620505, (2010).
38. E. Dujardin et al., *Nano Letters*, **3**, 413, (2003).

39. M.A. Correa-Duarte et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 4375, (2005).
40. H. Wang et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 12924, (2007).
41. Keith M. Bromley et al., *J. Mater. Chem.*, **18**, 4796, (2008).
42. J. Fang, *Ency of Nanoscience & Nanotechnology*, **5**, 3953, (2004).
43. L. Y. Zhang et al., *Nano-Micro Letters*, **1**, 49, (2009).
44. Tzu-Chun Tseng et al., *Nature Chemistry*, **2**, 374, (2010).
45. M. Sumser, A. M. Knez, M. Sumser, A. M. Bittner, C. Wege, H. Jeske, T. P. Martin, and K. Kern, *Adv. Funct. Mater.* **14**(2), 116 (2004). Copyright 2004, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
46. M. Knez, M. Sumser, A. M. Bittner, C. Wege, H. Jeske, T. P. Martin, and K. Kern, *Adv. Funct. Mater.* **14**(2), 116 (2004). Copyright 2004, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
47. E. Royston, A. Ghosh, P. Kofinas, M. T. Harris, and J. N. Culver, *Langmuir* **24**(3), 906 (2008). Copyright 2008, American Chemical Society.
48. A. K. Manocchi, S. Seifert, B. Lee, and H. Yi, *Langmuir* **26**(10), 7516 (2010). Copyright 2010, American Chemical Society.
49. M. Knez, A. Kadri, C. Wege, U. Gesele, H. Jeske, and K. o Nielsch, *Nano Lett.* **6**(6), 1172 (2006). Copyright 2006, American Chemical Society.
50. Atanasova, D. Rothenstein, J. J. Schneider, R. C. Hoffmann, S. Dilfer, S. Eiben, C. Wege, H. Jeske, and J. Bill, *Adv. Mater.* **23**(42), 4918 (2011). Copyright 2004, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
51. M. A. Bruckman, C. M. Soto, H. McDowell, J. L. Liu, B. R. Ratna, K.V. Korpany, O. K. Zahr, and A. S. Blum, *ACS Nano* **5**(3), 1606 (2011). Copyright 2011, American Chemical Society.
52. S. P. Wargacki, B. Pate, and R. A. Vaia, *Langmuir* **24**(10), 5439 (2008). Copyright 2008, American Chemical Society.
53. A. Mueller, F. J. Eber, C. Azucena, A. Petershans, A. M. Bittner, H. Gliemann, H. Jeske, and C. Wege, *ACS Nano* **5**(6), 4512 (2011). Copyright 2011, American Chemical Society.
54. *Circular dichroism : principles and applications*, 2nd Ed., Edt. N. Berova, K. Nakanishi, and R. W. Woody (Wiley-VCH, N.Y., 2000).