

# LIFE SCIENCES

at Frank Laboratory of Neutron Physics



НАУКИ  
О ЖИЗНИ

в Лаборатории  
нейтронной физики  
им. И. М. Франка



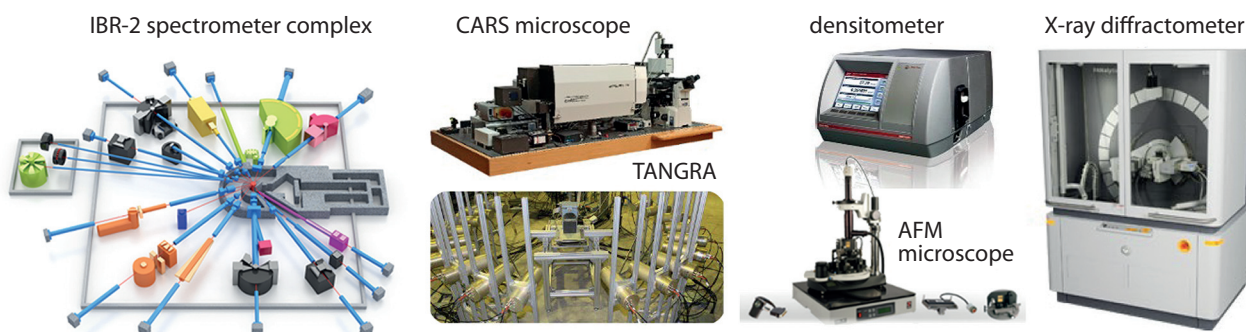
JOINT INSTITUTE  
FOR NUCLEAR RESEARCH

**Life Sciences at Frank Laboratory of Neutron Physics = Науки о жизни в Лабо-**  
L70 ратории нейтронной физики им. И.М. Франка. — Dubna: JINR, 2021. — 52p.

ISBN 978-5-9530-0566-1

Scientific research in general and life sciences in particular have always benefited from the development of large-scale scientific infrastructures. Starting with the first X-ray tubes — coincidentally around the same time as Alzheimer’s disease was identified — and all the way to modern synchrotron radiation sources, neutron sources, and powerful lasers, research approaches based on nuclear physics have been playing a significant role in biology-related investigations. The peculiar properties of neutrons, power of synchrotrons, innovations in optical spectroscopy, including Raman, have their own niche in studies of the chemical composition and structure of condensed matter that possesses a rather high level of disorder — disorder that is believed to be one of the foundations of life.

At the Frank Laboratory of Neutron Physics (FLNP) of the Joint Institute for Nuclear Research (JINR) much attention is paid to life science research for more than half a century now. Owing to advances in research approaches, there is now a better understanding of the relevant mechanisms for health protection and even its recovery. Establishing the regular monitoring of environmental pollution helps to alleviate its negative impact on people and the planet. The examples of notable results obtained by scientists at the FLNP, some of which are presented in this booklet, demonstrate the importance of taking a closer and more detailed look at life sciences through the prism of radiation.



Развитие крупномасштабных научных инфраструктур всегда способствовало развитию исследовательской активности в целом и наук о жизни в частности. Начиная со времен изобретения рентгеновской трубки и первого описания болезни Альцгеймера вплоть до современных источников синхротронного излучения, источников нейтронов и мощных лазерных систем разработки в области ядерной физики играли свою роль в исследованиях биологической направленности. Специфические свойства нейтронов, мощность синхротронов, достижения в оптической спектроскопии, в том числе и рамановской, занимают свою нишу в исследованиях химического состава и структуры конденсированного состояния вещества, которое обладает довольно высоким уровнем разупорядоченности, что считается одной из основ жизни на Земле.

В Лаборатории нейтронной физики им. И. М. Франка (ЛНФ) Объединенного института ядерных исследований (ОИЯИ) уже более полувека придается важное значение исследованиям в области наук о жизни. Благодаря прогрессу в исследовательских подходах в настоящее время мы имеем лучшее понимание соответствующих механизмов охраны здоровья и даже его восстановления. Регулярный мониторинг загрязненности окружающей среды помогает уменьшить ее отрицательное воздействие на человечество и нашу планету. Примеры значимых результатов, полученных учеными в ЛНФ, которые представлены в данном буклете, демонстрируют уместность применения различных видов излучений в науках о жизни.

**Valery Shvetsov**  
Director of FLNP

## Neutrons in search of origins of Alzheimer's disease

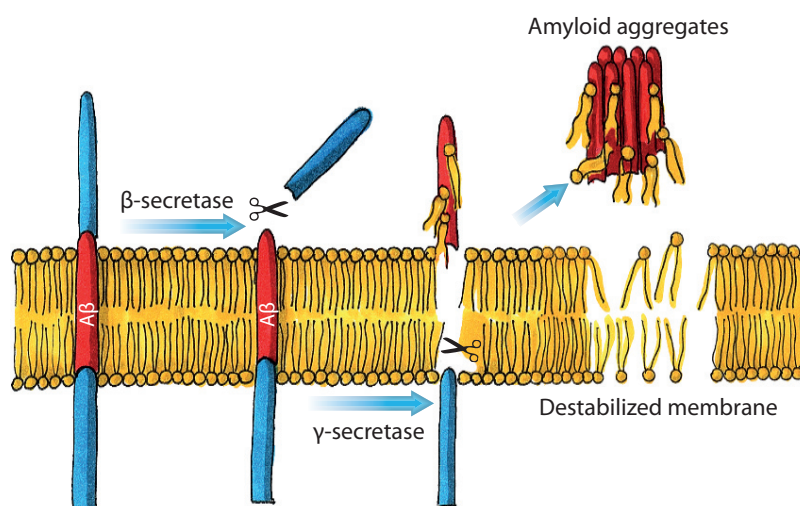
With the development of modern neutron sources and an increase in the power of high-performance computing clusters, a new round of research on Alzheimer's disease, which occupies an important place in biomedical research, has begun. Of course, the investigation of this disease is far from complete, but a number of important results have already been obtained, such as hypotheses describing the causes of the disease, models describing the interactions leading to its onset (Fig. 1) [1]. The most important thing is that there are proposals on possible methods of combating the disease. Perhaps the use of neutron scattering for a

more thorough study of the interaction of the amyloid beta peptide with the membrane will become part of the final solution in the fight against Alzheimer's disease.

Using small-angle neutron (SANS) and X-ray scattering and inelastic neutron scattering, carried out at the YuMO and NERA instruments of the IBR-2 reactor, calorimetry, densitometry and molecular dynamics simulations on the heterogeneous HybriLIT platform, light was shed on the effect of cholesterol and melatonin on peptide-membrane interactions [2]. When cholesterol is added to the membrane, the location of the peptide does not

Fig. 1  
Sketch of the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease.

Рис. 1  
Эскиз амилоидной гипотезы возникновения болезни Альцгеймера.



## Нейтроны в поиске первопричин болезни Альцгеймера

С развитием современных источников нейтронов и увеличением мощностей вычислительных кластеров начался новый виток в изучении болезни Альцгеймера, занимающей важнейшее место в биомедицинских исследованиях. Безусловно, исследование данного заболевания далеко от завершения, однако уже получен ряд важных результатов. Исследования показали, что амилоидные бляшки, которые раньше считались причиной болезни, на самом деле являются следствием нарушений мембран нейронов, вызванных отдельными молекулами амилоида или его маленькими агрегатами (рис. 1) [1]. Следовательно, есть надежда, что такое взаимодействие амилоида с мембраной можно будет контролиро-

вать, управляя свойствами самой мембраны, а именно ее текучестью. Применение методов рассеяния нейтронов для более детального анализа взаимодействия клеточной мембраны и бета-амилоидного пептида, возможно, станет шагом к окончательной победе над болезнью Альцгеймера.

С помощью малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН) и рентгеновских лучей и неупругого рассеяния нейтронов, проводимых на установках ЮМО и НЕРА реактора ИБР-2, калориметрии, денситометрии и моделирования методом молекулярной динамики на гетерогенной платформе HybriLIT было рассмотрено взаимодействие бета-амилоидного пептида с модель-

change much. The addition of melatonin to the membrane, on the contrary, affects the position of the peptide, presumably shifting it towards the water-lipid interface.

At the same time, the effect of the influence of temperature on the rearrangement of the membrane shape (change in the size of spherical vesicles and the formation of nanodisks) was first discovered, which is directly related to the presence of the peptide in the membrane [3]. This process is completely reversible, and in the absence of the peptide, the size of vesicles remains unchanged, which unambiguously indicates the destructive action of the peptide (Fig. 2).

The information obtained in this research on correlations between the structure and functions of

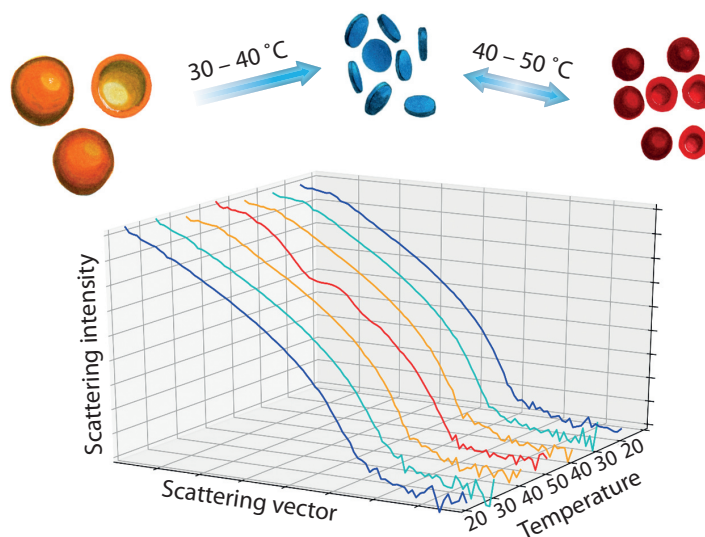
membranes is obviously of interest to the applied and pharmaceutical research that relates to studies of intercellular communication, protein transport, and regulation of cholesterol capture and transport. For example, the obtained results demonstrate the key role of membrane viscosity for the peptide incorporation into it, namely, a significant decrease in the effect of peptide insertion into the membrane that is loaded with melatonin, compared to a neat membrane or a membrane loaded with cholesterol. The results can be used in further studies of the pathogenicity of this amyloid, since they may provide some insight into the molecular mechanism of the protective function of melatonin in Alzheimer's disease.

Fig. 2

SANS curves demonstrating the destructive effect of amyloid beta peptides on the model membrane through the changes in its shape from large vesicles to vesicles of small sizes and nanodisks.

Рис. 2

Кривые МУРН, демонстрирующие деструктивное влияние бета-амилоидного пептида на модельную мембрану посредством изменения ее формы от больших везикул до везикул малого размера и нанодисков.



ными липидными мембранами, содержащими холестерин и мелатонин [2]. При добавлении холестерина в мембрану локализация пептида практически не изменяется. Добавление в мембрану мелатонина, обладающего разжижающим эффектом, оказывает влияние на локализацию пептида, предположительно смещая его в сторону водно-липидной границы.

При этом впервые обнаружен эффект влияния температуры на перестроение формы мембраны (изменение размера сферической везикулы и формирование нанодисков), который непосредственно связан с присутствием пептида в мембране [3]. Этот процесс полностью обратим, и в отсутствие пептида размеры везикул остаются без изменений, что однозначно свидетель-

ствует о разрушающем действии пептида (рис. 2).

Получаемая в ходе данного исследования информация о взаимосвязи структуры и функций мембран представляет несомненный интерес в прикладных и фармацевтических областях. Например, полученные результаты демонстрируют ключевую роль вязкости мембраны при встраивании в нее пептида, а именно значительное уменьшение влияния пептида в мембране с мелатонином по сравнению с модельной мембраной и мембраной с холестерином, и могут быть использованы в дальнейших исследованиях патогенности этого амилоида, поскольку они могут дать некоторое представление о молекулярном механизме защитной функции мелатонина при болезни Альцгеймера.

[2] Murugova T., et al. Gen. Phys. Biophys. 39 (2020). DOI: 10.4149/gpb\_2019054

[3] Ivankov O. I., et al. Sci Rep 11, 21990 (2021). DOI: 10.1038/s41598-021-01347-7

## Dynamics of cell membranes determines their biological function

The biological membrane serves as a selective barrier between the inner contents of the cell and its environment. It is known that it is the properties of the lipid membrane that regulate various cell processes and largely determine the set of biological functions of individual cell components, including membrane proteins. Systematic studies of the features of the collective dynamics of lipid molecules in multicomponent membranes on a picosecond time scale were considered using the inelastic scattering method.

Collective vibrations of lipid molecules in single-component membranes of 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DPPC) were studied [1]. For the first time, the existence of a transverse acoustic phonon mode in the lipid membrane was proved experimentally. It was also shown that when the lipid is heated above the phase transition temperature, the above phonon mode exhibits a gap in the region of small values of the scattering vector.

The observed gap is related to diffusion and relaxation processes occurring in the lipid mem-

Fig. 1. Spontaneous pore formation in the lipid membrane.

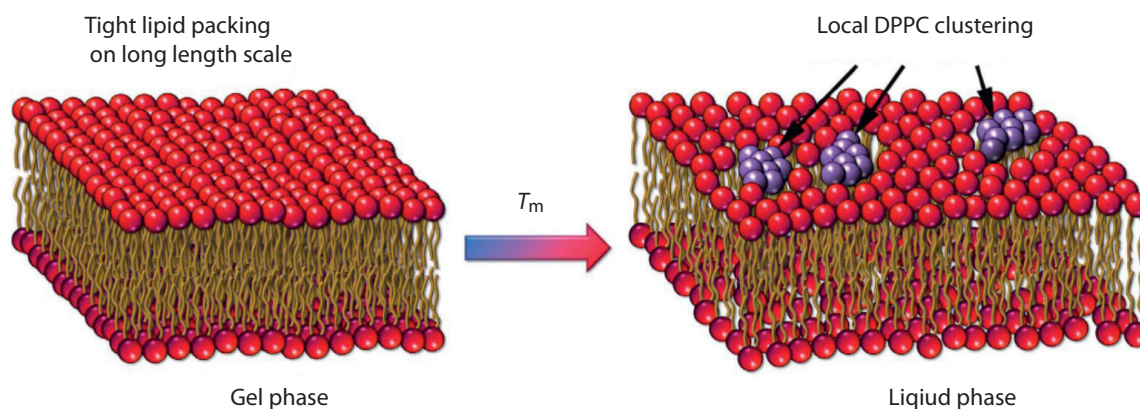


Рис. 1. Спонтанное образование пор в липидной мембране.

## Динамика мембран определяет их биологическую функцию

Биологическая мембрана служит селективным барьером между внутренним содержимым клетки и ее окружением. Известно, что именно свойства липидной мембраны регулируют различные клеточные процессы и во многом определяют набор биологических функций отдельных клеточных компонент, включая мембранные белки. Систематические исследования особенностей коллективной динамики липидных молекул в многокомпонентных мембранах на пикосекундных временных масштабах были рассмотрены с использованием метода неупругого рассеяния.

Были изучены коллективные колебания липидных молекул в однокомпонентных мембранах 1,2-дипальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолин (ДПФХ) [1]. Впервые удалось экспериментально доказать существование поперечной акустической фононной моды в липидной мембране. Также было показано, что при нагревании липида выше температуры фазового перехода указанная фононная мода имеет разрыв в области малых значений вектора рассеяния.

Наблюдаемый разрыв связан с процессами диффузии и релаксации, происходящими в липидной мембране, и является прямым призна-

brane and is a direct evidence of short-lived (on the order of several picoseconds) spontaneous occurrence of nanometer-sized lipid clusters surrounded by voids in the membrane (Fig. 1). These pores determine the mechanism of passive transport of solutes through the lipid membrane.

The use of inelastic X-ray scattering and molecular dynamics simulations made it possible to study in detail the phase separation processes in more complex two- and three-component lipid membranes of DPPC-cholesterol and POPC/DOPC-DPPC-cholesterol [2]. The appearance of optical phonon (OP) modes in the dispersion curves of

these systems suggests the existence of stable (on the picosecond time scale) functional lipid pairs of DPPC, POPC, DOPC and cholesterol molecules that oscillate in antiphase around their centers of mass (Fig. 2).

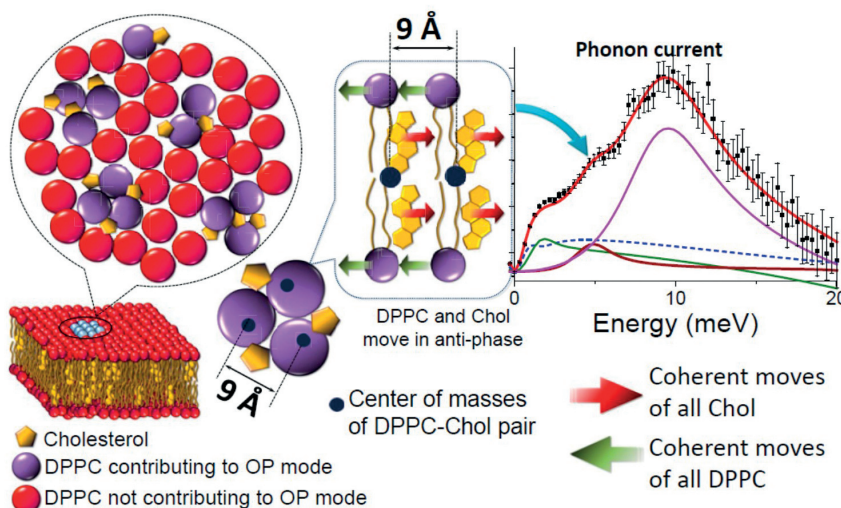
The observed gap in the optical phonon modes is a consequence of the finite size of the regions (nanodomains) formed by these lipid pairs. At the same time, the measured ultrafast dynamics of functional lipid pairs is comparable on the time and energy scale with the processes of relaxation of transmembrane proteins.

Fig. 2

Schematic representation of functional lipid pairs that nucleate into nanodomains.

Рис. 2

Схема изображения функциональных липидных пар, которые формируют нанодомены.



ком кратковременного (порядка нескольких пикосекунд) спонтанного возникновения в мембране липидных кластеров нанометрового размера, окруженных пустотами (рис. 1). Эти поры определяют механизм пассивного транспорта растворенных веществ сквозь липидную мембрану.

Применение метода неупругого рассеяния рентгеновских лучей и компьютерного моделирования методом молекулярной динамики позволило детально изучить процессы фазового разделения в более сложных двух- и трехкомпонентных липидных мембранах ДПФХ-холестерин и ПОФХ/ДОФХ-ДПФХ-холестерин [2]. Возникновение оптических фононных мод на дисперсион-

ных кривых таких систем свидетельствует о существовании в них стабильных (на пикосекундной шкале времени) функциональных липидных пар молекул ДОФХ, ПОФХ, ДПФХ и холестерина, которые колеблются в противофазе вокруг их центра масс (рис. 2).

Наблюдаемый разрыв оптических фононных мод модельных мембран является следствием конечного размера областей (нанодоменов), образованных указанными липидными парами. При этом измеренная сверхбыстрая динамика функциональных липидных пар соизмерима по временной и энергетической шкале с процессами релаксации трансмембранных белков.

[2] Soloviov, D., et al. PNAS 117 (2020). DOI: 10.1073/pnas.1919264117

## Skin health is predetermined by *Stratum corneum* lipid matrix

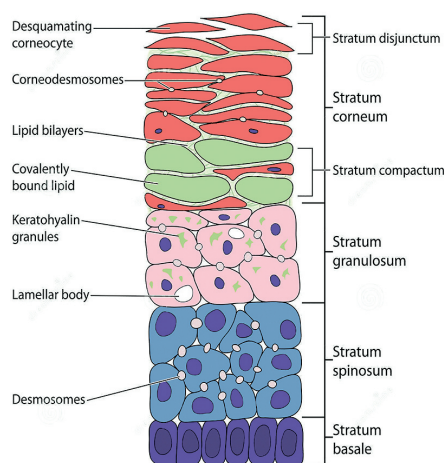
The mammalian and human skin is one of the largest and most unique organs as for its structure and functions. The role of the skin in the vital activity of a living organism should not be underestimated. Since the early 2000s, researchers of the FLNP in cooperation with the Faculty of Pharmacy of the Martin Luther University in Halle (Germany) have started studying the structure and properties of the stratum corneum model lipid matrix using neutron scattering and X-rays [1]. Data on the nanostructure of the *Stratum corneum* (SC) lipid matrix contribute to a deeper understanding of the properties and functions of the natural skin barrier, which is important for achieving progress in the field of dermatology, aesthetic and therapeutic cos-

metology, as well as in the design and creation of transdermal therapeutic systems.

The upper layer of the skin (epidermis) consists of several dozens of cell layers (from 50 to 100) and has a thickness of only 0.05–0.1 mm (Fig. 1). There are 4–5 stratum in it. Gradually ascending to the surface, the “living” epidermal skin cells, keratinocytes, gradually transform into “dead” corneocytes. Corneocytes, surrounded by a lipid matrix, make up the outermost horny layer called the SC. As it was found, it is SC that performs a barrier function, protecting the inner layers from external influences and preventing direct penetration of harmful agents. The chemical composition and structure of the SC lipid matrix largely determine the overall health of the

Fig. 1  
Schematic representation  
of the epidermis.

Рис. 1  
Схематическое  
изображение эпидермиса.



## Здоровье кожи предопределено матрицей *Stratum corneum*

Кожа млекопитающих и человека — один из самых больших и уникальных по своему строению и функциям орган. Роль кожи в жизнедеятельности живого организма нельзя недооценивать. С начала 2000-х годов в ЛНФ совместно с Фармакологическим факультетом Университета Мартина Лютера в Халле (Германия) с помощью рассеяния нейтронов и рентгеновских лучей начали изучать структуру и свойства модельной липидной матрицы *Stratum corneum* (SC) [1]. Данные о наноструктуре липидной матрицы SC способствуют более глубокому пониманию свойств и функций естественного кожного барьера. Это ценно для продвижения в области дерматологии, эстетической и терапевтической косметологии, а также в разработках и создании трансдер-

мальных терапевтических систем.

Верхний слой кожного покрова — эпидермис — состоит из нескольких десятков слоев клеток (от 50 до 100) и имеет толщину всего 0,05–0,1 мм (рис. 1). В нем выделяют 4–5 уровней, продвигаясь вдоль которых вверх «живые» клетки кератиноциты постепенно превращаются в «мертвые» корнеоциты. Ороговевшие корнеоциты, окруженные липидной матрицей, составляют самый верхний — роговой слой, или SC. Как оказалось, именно SC обеспечивает барьерную функцию, защищая внутренние слои от внешних воздействий и предотвращая прямое проникновение вредных веществ. Молекулярный состав и структура липидной матрицы SC во многом определяют здоровье кожи в целом, а также слу-



skin, and also serve as a marker in the diagnosis of pathologies. Even minor changes in its composition can greatly affect the permeability of SC to various substances. This property underlies the creation and development of transdermal delivery nanosystems of pharmaceutical and cosmetic products.

Ceramides are the main component of the SC lipid matrix. Their diversity is now well known. To date, more than 12 classes of various ceramides have been identified. However, the role of individual classes of ceramides, as well as their combination and ratios with other SC components, remains the subject of study for many scientific groups. The class of long-chain ceramides is of particular interest. Their presence is responsible for the integrity of the lipid layers and the prevention of moisture loss [2].

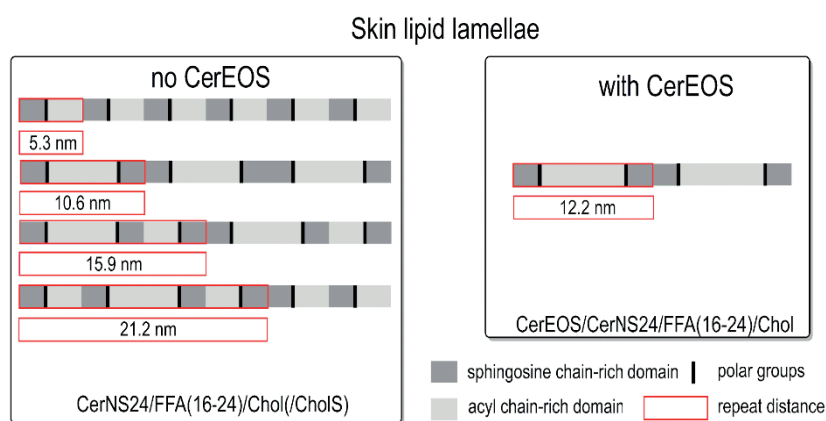
The role of long-chain ceramides in the formation of long-periodicity and short-periodicity phases was also studied in detail in collaboration between FLNP and the Faculty of Pharmacy of Charles University in Hradec Králové (Czech Republic) [3]. Model lipid layers based on short- and long-chain ceramides, simulating both healthy SC and SC with pathology (recessive X-linked ichthyosis), were investigated (Fig. 2). Only in the presence of a short-chain ceramide, the model SC lipid matrix demonstrated the formation of lamellar phases with short, medium and very long repeat distance. The appearance of a long-chain ceramide CerEOS in the model matrix led to a stable long lamellar phase and prevented the formation of a phase with a very long period.

Fig. 2

Simplified repeating phases in SC model membranes based on CerNS24 and CerEOS ceramides.

Рис. 2

Упрощенные повторяющиеся фазы в модельных мембранах SC на основе керамидов CerNS24 и CerEOS.



жат маркером в диагностике патологий. Даже незначительные изменения в ее составе могут сильно влиять на проницаемость SC для различных веществ. Это свойство ложится в основу создания и развития трансдермальных наносистем для доставки фармакологических и косметических средств.

Состав керамидов — основного компонента липидной матрицы SC в настоящее время хорошо известен. На сегодня выделено более 12 классов различных керамидов. Однако роль отдельных классов керамидов, а также их сочетание и соотношение с другими компонентами SC остается предметом исследования многих научных групп. Особый интерес представляет класс длинноцепочечных керамидов. Их присутствие отвечает за целостность липидных слоев и предотвращение потери влаги [2].

В коллаборации ЛНФ — Фармацевтический факультет Карлова Университета в Градец-Кралоуе (Чехия) детально была изучена роль длинноцепочечного керамида в формировании длиннопериодных и короткопериодных фаз [3]. Были исследованы модельные липидные слои на основе короткого и длинного керамидов, имитирующие здоровую SC и SC с патологией (рецессивный X-сцепленный ихтиоз) (рис. 2). Только при наличии короткого керамида модельная липидная матрица SC продемонстрировала образование ламеллярных фаз с короткой, средней и очень длинной повторяемостью. Появление в модельной матрице длинного керамида CerEOS привело к стабильной длиннопериодной фазе и предотвращало образование фазы с очень длинным периодом.

## Cell membranes in the ion environment

One of the most important goals of modern biophysics and pharmaceuticals is the delivery of drugs directly to the affected tissue, the so-called targeted drug delivery. The implementation of this approach allows local and selective destruction of pathological processes in tissue, for example, the eradication of cancer cells or pathogenic microorganisms. Hence, the understanding of drug transport mechanisms across biological membranes is a necessary step towards improving not only sophisticated genetic engineering approaches, but even simple vaccination as well.

The main role in the drug transport is often assigned to liposomes, which are spherical objects consisting of a lipid bilayer, the content of which is

released in a controlled manner due to the interaction of tissue receptors and liposome surface. At the same time, playing indispensable roles in physico-chemical cellular processes, metal ions are membrane-active objects that can change the properties of lipid bilayers, which makes it possible to denote their important roles including those that are in the drug delivery processes. This provides an extensive area for studies of the interactions between lipid bilayers and metal ions considering the model "liposome-ion" systems immersed in the aqueous environment.

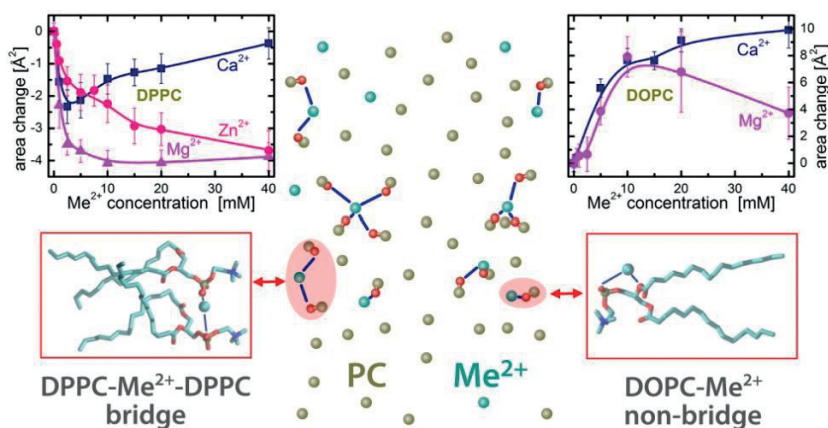
In this regard, the Frank Laboratory of Neutron Physics of JINR in cooperation with the Pharmaceutical Faculty of Comenius University in Bratislava, ac-

Fig. 1

Interactions of divalent cations with model lipid membranes.

Рис. 1

Взаимодействие двухвалентных катионов с модельными липидными мембранами.



## Клеточные мембраны в окружении ионов

Одной из важных задач современной биофизики и фармацевтики является направленная транспортировка лекарственного препарата непосредственно в пораженную ткань, т.е. так называемая адресная доставка лекарств. Осуществление подобного подхода позволяет локально и избирательно уничтожить патологический процесс в ткани, например, раковые клетки или патогенные микроорганизмы. Следовательно, понимание механизмов транспортировки лекарств через биологическую мембрану является необходимым шагом к усовершенствованию не только подходов сложного генетического инжиниринга, но даже и простого вакцинирования.

Главная роль в транспортировке лекарств часто отводится липосомам — состоящим из ли-

пидного бислоя сферическим объектам, из которых содержимое контролируемо высвобождается вследствие взаимодействия рецепторов ткани-мишени и поверхности липосомы. В то же время известно, что ионы металлов, без которых не обходится ни один физико-химический клеточный процесс в организме, являются мембранно-активными объектами, изменяющими свойства липидного бислоя, что позволяет отметить их важную роль в том числе и в процессах доставки лекарств. Это предоставляет обширное поле для исследований взаимодействий липидного бислоя с ионами металлов в модельных системах липосома-ионы, находящихся в водном окружении.

В связи с этим Лаборатория нейтронной физики ОИЯИ совместно с Фармацевтическим фа-

tively participates in these investigations using small-angle neutron scattering and diffraction methods at the YuMO experimental instrument. The experiments have shown that there is a tendency to the destruction of multilamellar liposome structures at certain low concentrations of calcium cations [1]. At the same time, such processes at the molecular level are fundamentally related to the specificity of lipid-ion interactions in a lipid bilayer. One of the important results at this point is the proposed concept of the ion bridge formation during the binding of metal cations to the lipid head groups on the liposome surface [2] (Fig. 1).

Special attention in the research is paid to the consideration of the effect of calcium and magne-

sium ions on the structural organization of lipids and the properties of liposomes themselves, since the processes of ion binding to lipids in a liposome play a key role in model complexes, such as “liposome – DNA (RNA) – ions” in particular (Fig. 2). “Neutron scattering experiments performed in collaboration with FLNP, Dubna, play an essential part in our efforts to understand and develop proper vectors/ vehicles for drug and gene delivery systems. Similar results proved indispensable and timely in the modern vaccination strategies combating COVID-19 pandemic,” said Prof. Daniela Uhríková from Faculty of Pharmacy at Comenius University in Bratislava.

Fig. 2. Targeted drug delivery through the cell membrane in the presence of ions.

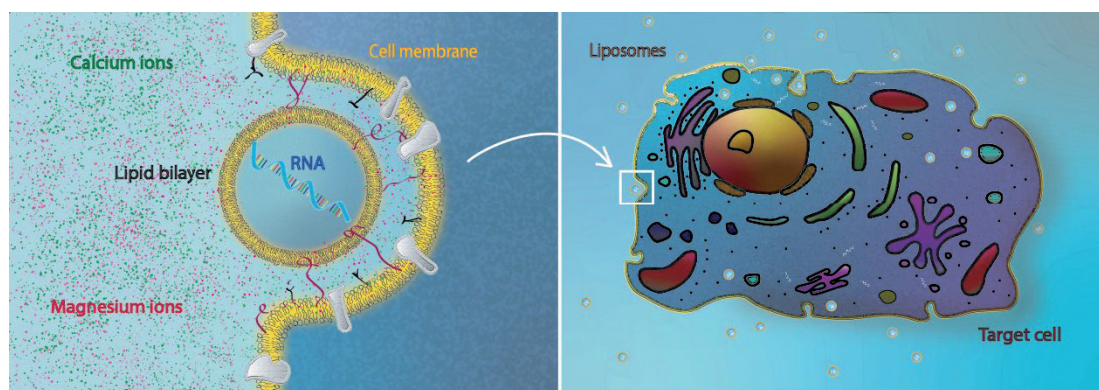


Рис. 2. Адресная доставка лекарств через клеточную мембрану в присутствии ионов.

культетом Университета им. Коменского в Братиславе активно принимает участие в исследованиях с использованием методов малоуглового рассеяния и дифракции нейтронов на экспериментальной установке ЮМО. В экспериментах было показано, что при определенных малых концентрациях катионов кальция проявляется тенденция к разрушению многослойных структур липосом [1]. В то же время подобные процессы на молекулярном уровне фундаментально связаны со спецификой взаимодействий ионов с липидами в бислое. Здесь одним из важных результатов является предложенная концепция формирования ионных мостиков при связывании катионов металлов с головными группами нейтральных фосфолипидов на поверхности липосомы [2] (рис. 1).

Особое внимание в научных исследованиях уделено рассмотрению влияния ионов кальция и магния на структурную организацию липидов и свойства самих липосом, поскольку процессы связывания ионов с липидами в липосоме играют ключевые роли, в частности, в модельных комплексах «липосома – ДНК (РНК) – ионы» (рис. 2). «Эксперименты по рассеянию нейтронов, проведенные в сотрудничестве с ЛНФ, Дубна, играют важную роль в наших усилиях по пониманию и разработке подходящих векторов / носителей для систем доставки лекарств и генов. Подобные результаты оказались незаменимыми и своевременными в современных стратегиях вакцинации против пандемии COVID-19», — проф. Д. Угрикова, Фармацевтический факультет Университета им. Коменского в Братиславе.

## Neutron scattering helps in developing burn wound dressings

Neutron scattering made it possible to obtain comprehensive data on changes in the crystalline and supramolecular structure of cellulose nanogel films at a level from several nanometers to several micrometers at different stages of their hydrolysis during the enzymatic treatment. Cellulose produced by bacteria (BC) in the form of a gelled film with a fine-fiber net structure, has a smaller fiber diameter and an increased surface area compared to those in plant cellulose, and exhibits exceptional properties, including high mechanical strength and elasticity, water and vapor permeability, high water absorption capacity, non-toxicity and good biocompatibility. What is more, BC can promote wound healing. Among already realized and promising applications of BC in medicine are hemostatic agents, implants

and artificial blood vessels, materials for skin tissue engineering and wound healing dressings.

Wound dressings based on bacterial cellulose are becoming a promising alternative to traditional bandaging materials, since the requirements for wound dressings are quite extensive. They should be easy to apply and painless to remove, be biocompatible, non-allergic, protect against bacterial infections and provide a moist environment and effective oxygen circulation, and be able to change shape at a rate matching the formation of new tissue. That is, BC-based wound dressings should have a controlled biodegradation rate, but there are no enzymes in the human body that are capable of catalyzing cellulose degradation.

Fig. 1

A photograph of wound healing dressing.

Рис. 1

Фотография раневой повязки.



## Нейтронное рассеяние помогает создать раневые повязки

Нейтронное рассеяние позволило получить исчерпывающие сведения об изменениях в кристаллической и надмолекулярной структуре целлюлозных наногелевых пленок на уровне от нескольких нанометров до нескольких микрометров на разных стадиях их гидролиза при обработке ферментом. Целлюлоза, производимая бактериями (БЦ) в виде плотной пленки с мелковолоконистой сетчатой структурой, обладает меньшим диаметром волокон и увеличенной площадью поверхности по сравнению с ее растительным аналогом и проявляет особые качества: механическую прочность и эластичность, водо- и паро-проницаемость, гигроскопичность, нетоксичность и биосовместимость. Кроме того, БЦ может способствовать заживлению ран. Уже реализованные и перспективные приложения БЦ в медицине — кровоостанавливающие сред-

ства, имплантаты и искусственные кровеносные сосуды, материалы тканевой инженерии кожи и заживляющие повязки.

Раневые повязки из бактериальной целлюлозы становятся перспективной альтернативой традиционным медицинским средствам, ведь требований к таким повязкам довольно много. Они должны легко наноситься и удаляться, быть биосовместимыми и не вызывать аллергических реакций, защищать от инфекций и обеспечивать влажную среду и доступ кислорода, а также менять свою форму со скоростью образования новой ткани у пациента. То есть повязки должны обладать контролируемой способностью к био-разложению, но в организме человека отсутствуют ферменты, способные катализировать разложение целлюлозы.

To obtain a controlled technology based on enzymatic hydrolysis of cellulose, it is necessary not only to understand the relationships between the structure and the physical and chemical properties of biomaterials, but also to possess tools to change them.

As a variant of such a tool for improving the properties of bacterial cellulose for biomedical applications, scientists from PNPI, in a joint study with specialists from a number of research centers, used the fungal enzyme cellobiohydrolase isolated from yeast-like fungus *Scytalidium candidum* 3C, and for the first time studied the process of BC degradation in detail. One of the reasons why bacterial cellulose is actively used in the engineering of materials for skin and bone regeneration is its morphological similarity on a nanometer scale to collagen, which is the main structural protein with a fibrillar structure found in the body's various connective tissues.

Fibrils of native collagen are larger than fibrils of native bacterial cellulose and have a cylindrical shape, while fibrils of native BC have a lamellar shape. Under the action of enzymes, as shown by neutron scattering methods, the size and shape of the components of BC polymer matrix begin to approach those in natural collagen.

In this study, a wide range of physical and microscopic methods were used, including small-angle neutron scattering, X-ray diffraction and atomic force microscopy (FLNP JINR), ultra-small-angle neutron scattering (Heinz Maier-Leibnitz Zentrum), as well as scanning electron microscopy (Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of RAS). The obtained results will contribute to the creation of biotechnologies for the development of wound dressings with desired properties for the treatment of various skin lesions.

Fig. 2. Structural changes in BC as a result of its treatment with enzyme.

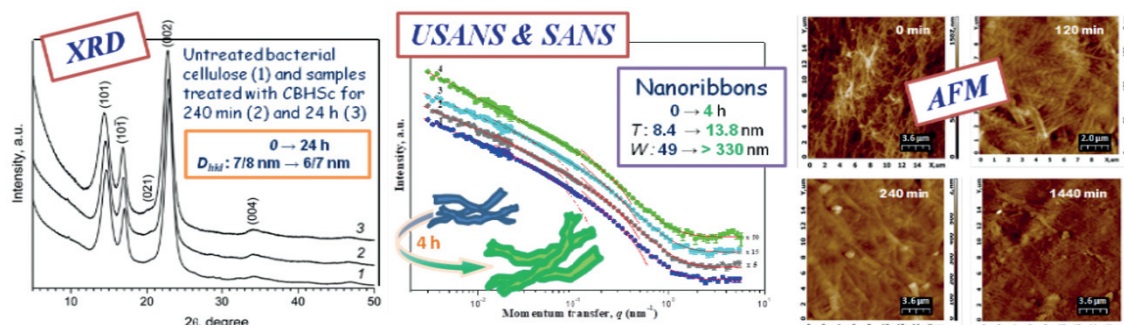


Рис. 2. Структурные изменения БЦ в результате ее обработки ферментом.

Чтобы получить контролируемую технологию, основанную на ферментативном гидролизе целлюлозы, необходимо не только составить картину взаимосвязей между структурой и физическими и химическими свойствами биологических материалов, но и обладать инструментами, которые могут повлиять на их изменения.

В качестве варианта такого инструмента усовершенствования бактериальной целлюлозы для биомедицинских применений ученые ПИЯФ в рамках совместного со специалистами ряда научных центров исследования использовали фермент, целлобиогидролазу, выделенную из дрожжеподобного гриба *Scytalidium candidum* 3C, и впервые проследили за тем, как при этом происходит ее разрушение. Одна из причин, по которой бактериальную целлюлозу используют при разработке материалов для регенерации кожи и костей, вызвана ее сходством в нанометровом масштабе со строением коллагена, фиб-

риллярного белка. Его фибриллы цилиндрической формы больше, чем пластинчатые фибриллы у нативной бактериальной целлюлозы. Под влиянием фермента, как показали методы нейтронного рассеяния, размеры и форма частей полимерной матрицы бактериальной целлюлозы начинают приближаться к размерам нативного коллагена.

В работе использован широкий спектр физических и микроскопических методов, включая малоугловое рассеяние нейтронов, рентгеновскую дифракцию и атомно-силовую микроскопию (ЛНФ ОИЯИ), ультрамалоугловое рассеяние нейтронов (Heinz Maier-Leibnitz Zentrum), а также методы сканирующей электронной микроскопии (ЦКП ИОНХ РАН). Результаты исследований будут способствовать созданию биотехнологий по разработке раневых повязок с заданными свойствами для лечения различных поражений кожи.

## Neutrons reveal the superstructure of signaling systems in nature

Two-component systems (TCS) are responsible for the communication of microorganisms with the environment; they are present in almost all domains of life and are the most abundant signaling systems in nature. TCS receptors are generally transmembrane proteins. Despite the wide interest of the scientific community in the study of TCS, currently high-resolution structures of only fragments of these proteins are described in the literature. Difficulties in studying the structure of full-size TCS receptors are related to the large size and high dynamics of the water-soluble part of transmembrane TCS receptors.

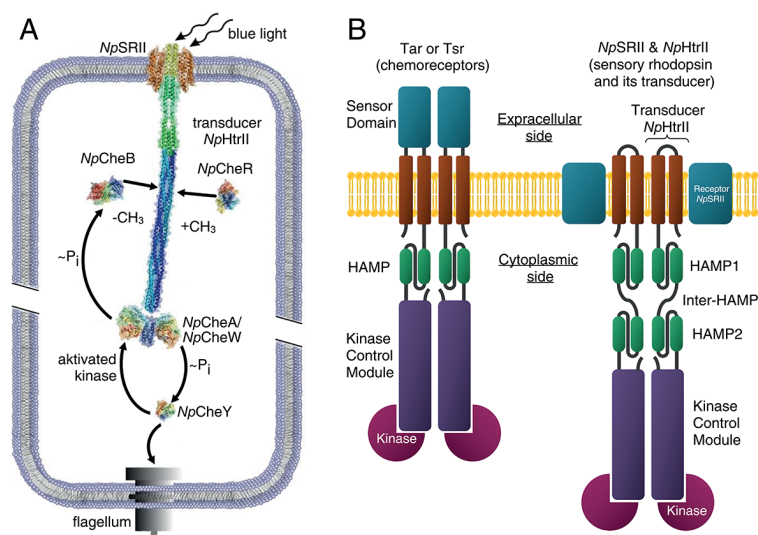
Using small-angle neutron scattering, the structure of the TCS sensor — a full-length photoreceptor complex of sensory rhodopsin with its cognate transducer from the extremophilic archaeon *Natronomonas pharaonis*, was studied on the YuMO spectrometer [1]. Light-activated sensory rhodopsin II (NpSR<sub>II</sub>) induces structural and/or dynamic changes in the transducer (NpHtrII), which are converted by two HAMP domains and conveyed along the 200-Å-long cytoplasmic kinase module to the tip region of the cytoplasmic part of NpHtrII. The transducer-activated histidine kinase CheA (bound to the adapter protein CheW) undergoes autophos-

Fig. 1

(A) Signal transduction pathway in the case of the TCS negative phototaxis of *N. pharaonis* and (B) domain architecture of the chemoreceptor dimer from *E. coli* (left) and of the complex of rhodopsin II with its cognate transducer NpHtrII from *N. pharaonis* (right).

Рис. 1

Схема сигнального каскада (A) в случае ДКС отрицательного фототаксиса *N. pharaonis* и схема доменной архитектуры (B) димера хеморецепторов из *E. coli* (слева) и димера фотосенсорного комплекса родопсина II с его родственником трансдюсером NpHtrII из *N. pharaonis* (справа).



## Нейтроны раскрывают суперструктуру сигнальных систем

Двухкомпонентные системы (ДКС) отвечают за коммуникацию микроорганизмов с окружающей средой; они присутствуют почти во всех доменах и являются наиболее распространенными сигнальными системами в живой природе. Рецепторы ДКС, как правило, являются трансмембранными белками. Несмотря на широкий интерес научного сообщества к изучению ДКС, в настоящее время были описаны в литературе структуры с высоким разрешением только фрагментов этих белков. Трудности изучения структуры полноразмерных рецепторов ДКС связаны с большим размером и высокой динамичностью

водорастворимой части трансмембранных рецепторов ДКС.

С помощью малоуглового нейтронного рассеяния на спектрометре ЮМО изучалась структура сенсора ДКС — полноразмерного фоторецепторного комплекса сенсорного родопсина с его родственником трансдюсером из экстремофильной археи *Natronomonas pharaonis* [1]. Активированный при воздействии света сенсорный родопсин II (NpSR<sub>II</sub>) индуцирует структурные и/или динамические изменения в трансдюсере (NpHtrII), которые преобразуются двумя HAMP-доменами и передаются вдоль цитоплазматиче-

phorylation and further transfers the phosphate group to the response regulators CheY or CheB. CheY affects the rotational bias of the flagellar motor, while the methyltransferase CheB, along with the methyltransferase CheR, controls the adaptation mechanism.

The general scheme of the molecular mechanism of signal transduction involves successive dynamic changes in cytoplasmic domains. Both chemoreceptors and sensory rhodopsin transducers demonstrate different dynamics in adjoining modules, which correlates with the signal transfer along the cytoplasmic rod. Homodimers of chemoreceptors (or rhodopsin-transducer complexes) in the cell membrane form trimers that constitute the functional units. The trimers of dimers form the struc-

tural and functional unit in the formation of two-dimensional signaling arrays — compact membrane supercomplexes responsible for amplifying the incoming stimulus.

A molecular model of a hexamer (trimer of dimers) constructed using the combination of small-angle scattering data and molecular modeling, was proposed. It was shown that the dimers of NpSR<sub>II</sub>/NpHtr<sub>II</sub> in the hexamer associate solely through contacts between their cytoplasmic regions, whereas the transmembrane regions of the dimers remain unconnected, i.e. this is a “tripod”-shaped model, which differs from the “O”- and “Y”-shaped models proposed earlier in the literature.

Fig. 2

Images of transmembrane domains of the NpSR<sub>II</sub>/NpHtr<sub>II</sub> complex: (A) fragment of hexagonal packing of “O”-shaped trimers of dimers; (B) “tripod”-shaped model of the trimer of dimers.

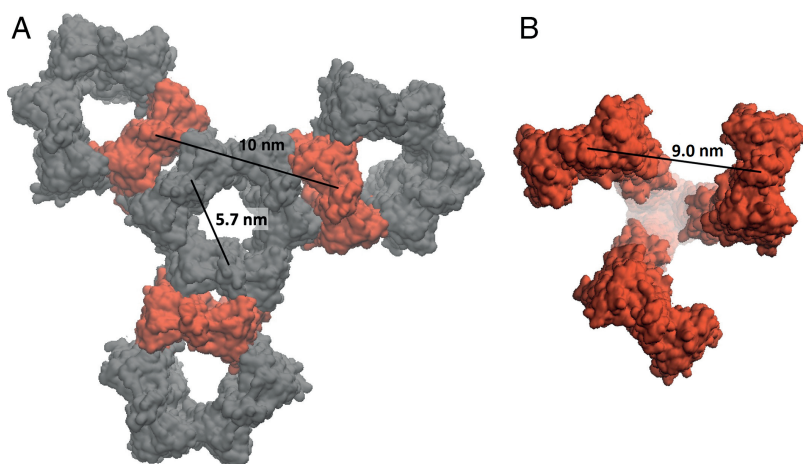


Рис. 2

Изображения трансмембранных доменов комплекса NpSR<sub>II</sub>/NpHtr<sub>II</sub>: (A) фрагмент гексагональной упаковки “O”-образных тримеров димеров; (B) изображение “tripod”-образного тримера димеров.

ского киназного модуля длиной 200 Å до крайней области цитоплазматической части NpHtr<sub>II</sub>. Активированная трансдюсером гистидинкиназа CheA (связанная с адаптерным белком CheW) подвергается автофосфорилированию и дополнительно переносит фосфатную группу в регуляторы ответа CheY или CheB. CheY влияет на смещение вращения жгутика, в то время как метилэстераза CheB наряду с метилтрансферазой CheR контролирует механизм адаптации.

Общая схема молекулярного механизма передачи сигнала предполагает последовательные динамические изменения в цитоплазматических доменах. Как хеморецепторы, так и трансдюсеры сенсорных родопсинов демонстрируют различную динамику в соседних модулях, что коррелирует с передачей сигнала вдоль цитоплазматического «стержня». Гомодимеры хеморецепто-

ров (или комплексов родопсин-трансдюсер) в клеточной мембране образуют тримеры, составляющие функциональные единицы. Тримеры димеров образуют структурно-функциональную единицу при образовании сигнальных двумерных массивов — компактных мембранных суперкомплексов, отвечающих за усиление входящего сигнала.

Представлена молекулярная модель гексамера (тримера димеров), построенная с помощью комбинации методов малоуглового рассеяния и молекулярного моделирования. Таким образом, показано, что контакт между димерами NpSR<sub>II</sub>/NpHtr<sub>II</sub> в гексамере опосредован только цитоплазматическими частями, трансмембранные части димеров при этом не контактируют друг с другом, то есть имеет место “tripod”-образная модель, отличная от предложенных ранее в литературе “O”- и “Y”-образных моделей.

## Biological activity of fullerenes and anticancer therapies

A comprehensive study of water-soluble forms of fullerenes using wide characterization, including neutron scattering methods, opens up prospects for using the biological activity of fullerenes in a number of therapies of oncological diseases. Fullerenes, along with soot, graphite and diamond, are an allotropic form of carbon combining high-molecular stable compounds C<sub>60</sub>, C<sub>70</sub>, etc. At present, the formation of specific complexes of fullerenes with solvent molecules in solutions is being actively studied. Along with the fundamental interest in this issue, an important role is played by the practical aspect associated with the use of the biological ac-

tivity of fullerenes. Thus, fullerenes are the most powerful antioxidants known today. A natural requirement for the use of fullerenes in biology and medicine is to obtain their water-soluble forms. In this regard, important areas of research are related to the mechanisms of cluster stabilization in fullerene solutions and the synthesis of aqueous fullerene solutions with the possibility to control the cluster size. The medical and biological properties of aqueous solutions of fullerenes strongly depend on the synthesis technique used, the choice of the primary solvent, the size of the aggregates, the electrokinetic potential on their surface, etc. Thus,

Fig. 1. Structure of biologically active solutions of C<sub>60</sub> and C<sub>70</sub> fullerenes according to the data of atomic force microscopy and small-angle neutron scattering.

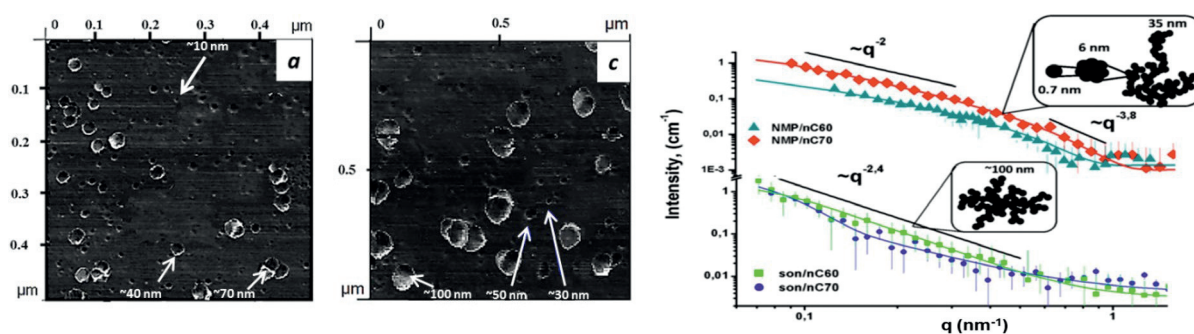


Рис. 1. Структура биологически активных растворов фуллеренов C<sub>60</sub> и C<sub>70</sub> по данным атомно-силовой микроскопии и малоуглового рассеяния нейтронов.

## Биоактивность фуллеренов и противоопухолевые терапии

Комплексное изучение водорастворимых форм фуллеренов с применением широкой характеристики, включающей методы рассеяния нейтронов, открывает перспективы использования биологической активности фуллеренов в ряде терапий онкологических заболеваний. Фуллерены, наряду с сажей, графитом и алмазом, представляют собой аллотропную форму углерода и объединяют в себе высокомолекулярные устойчивые соединения C<sub>60</sub>, C<sub>70</sub> и т.д. В настоящее время активно изучается образование специфических комплексов фуллеренов с молекулами растворителей в растворах. Наряду с фундаментальным интересом к данному вопросу важную роль играет и практический аспект, связан-

ный с использованием биологической активности фуллеренов. Так, фуллерены являются мощнейшими антиоксидантами, известными на сегодняшний день. Естественным требованием для применения фуллеренов в биологии и медицине является получение их водорастворимых форм. В этой связи важными направлениями исследований являются механизмы стабилизации кластеров в растворах фуллеренов и синтез водных растворов фуллеренов с возможностью регулирования размеров кластеров. Медико-биологические свойства водных растворов фуллеренов в значительной степени зависят от используемой методики синтеза, выбора первичного растворителя, размеров агрегатов, электрокинети-



fullerene solutions in N-methyl-2-pyrrolidone (NMP) are promising systems for obtaining clusters of fullerenes with specified sizes in aqueous media, since NMP is miscible with water.

Researchers at FLNP JINR in cooperation with the Taras Shevchenko National University of Kyiv (Ukraine) are actively working on the study of the mechanism of interaction of fullerenes with polar NMP molecules and the use of the resulting complexes in the development of the synthesis of aqueous solutions of fullerenes for medical and biological purposes. Along with extensive structural diagnostics, the cytotoxicity of new solutions and their interaction with various drugs, including those used in the therapy of oncological diseases (doxorubicin, cisplatin, landomycin A), are studied. The re-

sults of the structural analysis of fullerene solutions in systems of different polarities are to be used in the future to improve the synthesis of experimental samples of practical aqueous solutions of fullerenes and in the corresponding biological tests. For structural characterization of solutions, the approach combining various methods is applied. It includes small-angle neutron and X-ray scattering, mass spectrometry, dynamic light scattering, atomic force microscopy, nuclear magnetic resonance, ultraviolet and optical spectroscopy, etc. Experimental neutron data used in these works were obtained at the YuMO small-angle instrument (IBR-2, FLNP, JINR); X-ray data were collected at the P12 BioSAXS station (PETRA III, EMBL/DESY, Hamburg, Germany).

Fig. 2. Calculated electron densities for possible complexes of C70 fullerene and anticancer berberine-based drug.

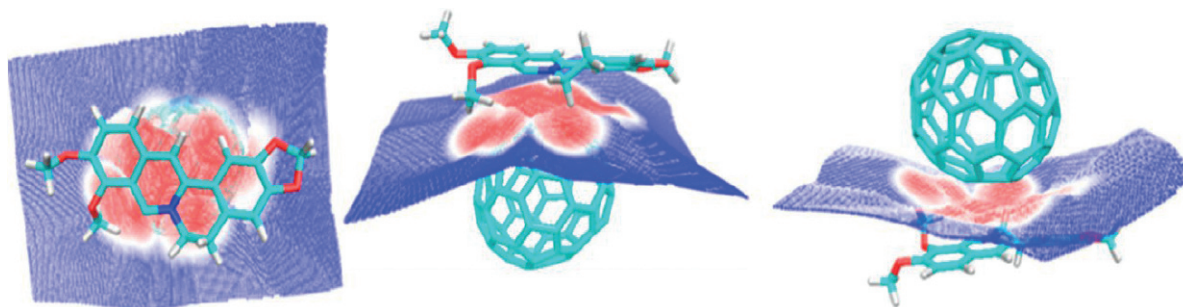


Рис. 2. Расчетные электронные плотности при возможном комплексообразовании фуллерена C70 и противоракового препарата на основе берберина.

ческого потенциала на их поверхности и др. Перспективными системами для получения кластеров фуллеренов с заданными размерами в водных средах являются растворы фуллеренов в N-метил-2-пирролидоне (NMP), так как NMP смешивается с водой.

В ЛНФ ОИЯИ в сотрудничестве с Киевским национальным университетом им. Тараса Шевченко (Украина) активно ведутся работы по изучению механизма взаимодействия фуллеренов с полярными молекулами NMP и использованию результирующего комплексообразования в развитии синтеза водных растворов фуллеренов медико-биологического назначения. Наряду с обширной структурной диагностикой исследуется цитотоксичность новых растворов и их взаимодействие с различными препаратами, в том числе применяемыми в терапиях онкологических заболеваний (доксорубицин, цисплатин, ландоми-

цин А). Результаты структурного анализа растворов фуллеренов в системах разной полярности используются в дальнейшем для улучшения синтеза опытных образцов практических водных растворов фуллеренов и в соответствующих биологических тестированиях. Для структурной характеристики растворов используется комплексный подход с использованием следующих методов: малоугловое рассеяние нейтронов и рентгеновских лучей, масс-спектрометрия, динамическое светорассеяние, атомно-силовая микроскопия, ядерный магнитный резонанс, спектроскопия ультрафиолетового и оптического диапазонов и др. Экспериментальные нейтронные данные, используемые в этих работах, получены на малоугловой установке ЮМО (ИБР-2 ЛНФ ОИЯИ); рентгеновские данные получены на станции P12 BioSAXS (PETRA III, EMBL/DESY, Гамбург, Германия).

## Supramolecular organization of visual pigment rhodopsin

The visual pigment rhodopsin is a prototypical member of the large family of G-protein coupled receptors (GPCR). GPCRs are known to form dimers or oligomers in membranes. However, for rhodopsin and all class A rhodopsin-like GPCRs, the functional role of rhodopsin dimers has not yet been established. The supramolecular organization of rhodopsin in photoreceptor membranes is currently the subject of heated debates.

As part of the investigation of the supramolecular organization of native photoreceptor membranes, small-angle neutron scattering with contrast variation and small-angle X-ray scattering experi-

ments were carried out. The use of two complementary methods allows us to make an assumption about the monomeric state of rhodopsin in the photoreceptor membrane.

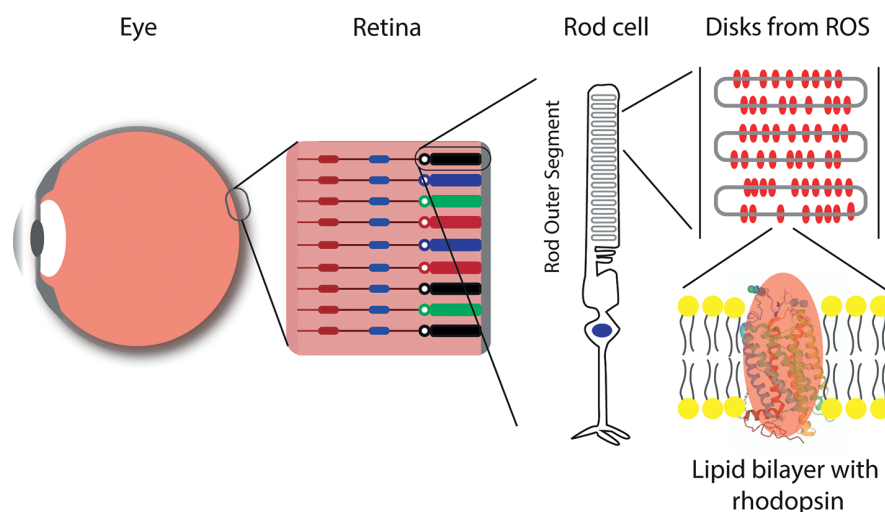
It is known that the photoreceptor disc membrane is a two-component system consisting of approximately 40% lipids and 60% proteins, of which about 85% is rhodopsin. The experiments were performed with samples of photoreceptor discs (approximately 1  $\mu\text{m}$  in diameter) isolated from outer segments and rod outer segments themselves from bovine retina. Small-angle neutron scattering experiments were carried out on the YuMO small-

Fig. 1

Schematic of supra-molecular organization of rhodopsin in photoreceptor membranes.

Рис. 1

Схема супрамолекулярной организации родопсина в фоторецепторных мембранах.



## Супрамолекулярная организация зрительного пигмента родопсина

Зрительный пигмент родопсин является типичным представителем огромного семейства рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCR). GPCR в мембране функционируют в димерном или олигомерном состоянии. Однако для родопсина и всего класса А родопсинподобных GPCR функциональная роль димерного состояния до сих пор не установлена. Супрамолекулярная организация родопсина в фоторецепторных мембранах является в настоящее время предметом острой дискуссии.

В рамках исследования супрамолекулярной организации фоторецепторной мембраны в нативных условиях в ЛНФ были проведены экспе-

рименты методами малоуглового рассеяния нейтронов с вариацией контраста и малоуглового рассеяния рентгеновских лучей. Использование двух комплементарных методов позволяет сделать предположение о мономерном состоянии родопсина в фоторецепторной мембране.

Известно, что мембрана фоторецепторного диска представляет собой двухкомпонентную систему, которая включает в себя примерно 40% липидов и 60% белков, из которых около 85% приходится на долю родопсина. Для проведения экспериментов были получены образцы фоторецепторных дисков (примерно 1  $\mu\text{m}$  в диаметре) из наружных сегментов и непосредственно на-

angle neutron scattering spectrometer under dim red illumination.

Differences in scattering densities between lipids and proteins in the photoreceptor disc membrane made it possible to exclude the influence of the lipid matrix on the pattern of small-angle scattering from the membrane and to reveal structural information about the relative disposition of rhodopsin within the membrane. The use of a synchrotron X-ray source allowed improving the background conditions and the resolution of the obtained data. This information made it possible both to determine the parameters of the arrangement of rhodopsin inside the membrane and to show the presence of disc packing in the outer segments of photoreceptor cells. Also, the use of synchrotron-

based small-angle X-ray scattering made it possible to confirm the results obtained by the SANS method and to show that this arrangement of rhodopsin is retained not only in systems with isolated photoreceptor discs, but also in native rods of the photoreceptor membrane.

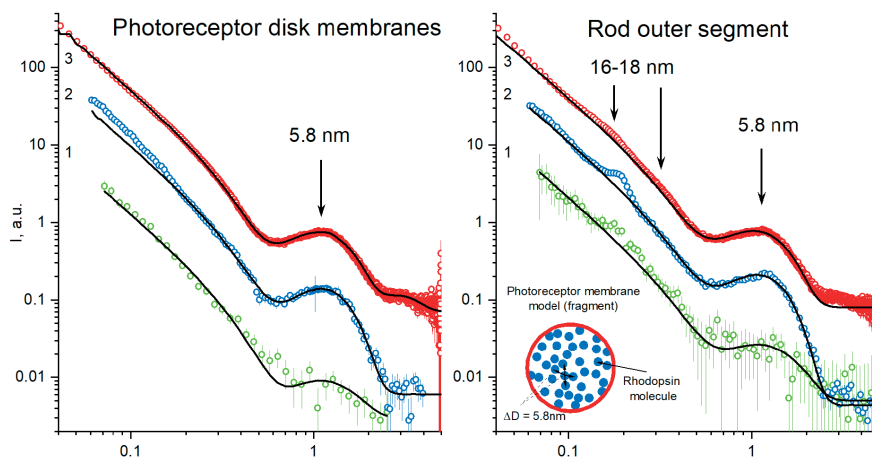
From the obtained data, it was shown that the packing density of rhodopsin molecules in the photoreceptor membrane is unusually high: the distance between the centers of the molecules is approximately 56 Å [1, 2]. Taking into account the diameter of the molecule itself, the average distance between two neighboring rhodopsin molecules obtained from the results suggests the monomeric state of rhodopsin molecules.

Fig. 2

SANS curves revealing the organization of rhodopsin inside the photoreceptor membrane.

Рис. 2

Кривые МУРН, раскрывающие организацию родопсина в фоторецепторной мембране.



ружные сегменты фоторецепторных клеток сетчатки быка. Эксперименты по малоугловому рассеянию нейтронов были проведены на спектрометре малоуглового рассеяния нейтронов ЮМО при низкой интенсивности красного света.

Различия в плотности рассеяния нейтронов между белками и липидами в мембране фоторецепторного диска позволили исключить влияние липидного матрикса на картину малоуглового рассеяния от мембраны и выявить структурную информацию о расположении родопсина внутри мембраны. Использование синхротронного источника рентгеновского излучения позволило улучшить фоновые условия и разрешение полученных данных. Данная информация позволила как определить параметры расположения родопсина внутри мембраны, так и показать наличие упаковки дисков в наружных сегментах

фоторецепторных клеток. Также использование метода малоуглового рассеяния рентгеновских лучей с использованием синхротронного источника позволило подтвердить результаты, полученные методом МУРН, и показать, что такое расположение родопсинов сохраняется не только на системах с выделенными фоторецепторными дисками, но и в неразрушенных палочках фоторецепторной мембраны.

Из данных было показано, что плотность упаковки молекул родопсина в фоторецепторной мембране необычайно высока: расстояние между центрами молекул составляет примерно 56 Å [1, 2]. С учетом диаметра самой молекулы среднее расстояние между двумя молекулами родопсина можно оценить равным 21 Å. Отсюда видно, что белок находится в мономерном состоянии.

## The problem of antibiotic resistance and innovative biocomposites

The antibiotic resistance of pathogenic microorganisms is one of the key problems in global public health care. Existing antibiotics turn out to be ineffective against new bacterial strains, the emergence of new drugs is too slow and humanity has come close to the threshold beyond which is a return to the “pre-antibiotic era”, the transformation of seemingly defeated infections into deadly threats.

A team of scientists from Russia, Romania, Serbia, Poland and the Czech Republic is engaged in research on antimicrobial properties of new biocompatible nanocomplexes consisting of soy lecithin

in liposomes, chitosan and silver/silver chloride nanoparticles (NPs). It is important to note that in order to reduce the toxicity of nanoparticles, “green” synthesis was used in the study — the production of NPs from plant extracts. Morphological (AFM, SEM) and structural (SAXS, SANS) methods of analysis confirmed the nanoscale size of components of the produced biocomposites. The presence of hybrid Ag/AgCl nanoparticles synthesized from turmeric rhizomes or grape and mint leaves was determined by XRD and EDS methods. The formation of stable biohybrid nanocomplexes was con-

Fig. 1. General concept of “green” synthesis nanoparticles.

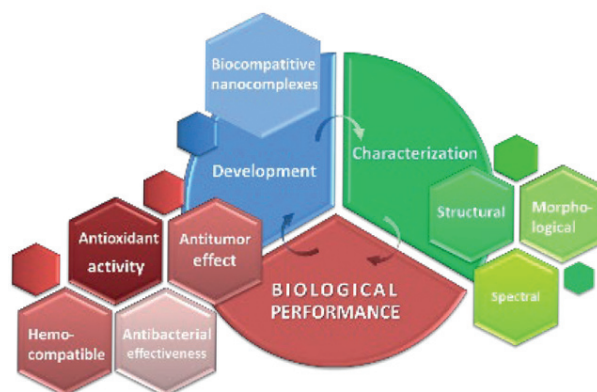
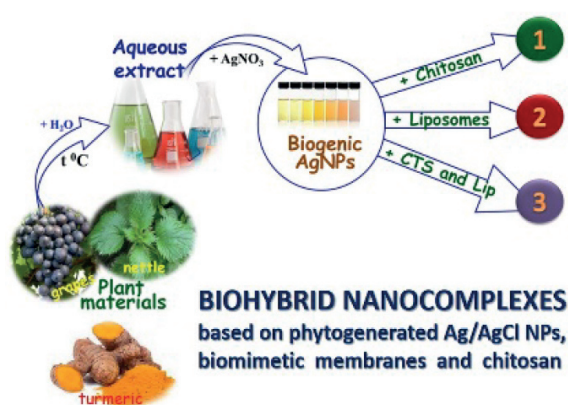


Рис. 1. Общая концепция наночастиц «зеленого» синтеза.

## Антибиотикорезистентность и инновационные биоконпозиты

Проблема устойчивости болезнетворных микроорганизмов является одной из ключевых в мировом здравоохранении. Существующие антибиотики оказываются неэффективными в отношении новых бактериальных штаммов, появление новых препаратов происходит слишком медленно, и человечество вплотную подошло к порогу, за которым — возврат в «доантибиотиковую эру», превращение казавшихся побежденными инфекций в смертельно опасные.

Коллектив ученых из России, Румынии, Сербии, Польши и Чехии исследует антимикробные свойства новых биосовместимых нанокомплек-

сов, состоящих из липосом соевого лецитина, хитозана и наночастиц (НЧ) серебра/хлорида серебра. Важно отметить, что для уменьшения токсичности наночастиц в работе был применен «зеленый» синтез — получение НЧ из экстрактов растений. Морфологические (AFM, SEM) и структурные (SAXS, SANS) методы анализа подтвердили наноразмерный масштаб компонентов полученных биоконпозитов. Присутствие гибридных Ag/AgCl НЧ, синтезированных из корня куркумы или листьев винограда и мяты, было определено методами XRD и EDS. С помощью оптической спектроскопии (UV-Vis absorp-

firmed by optical spectroscopy (UV-Vis absorption and FTIR) and zeta potential measurements. All of the above studies were aimed at developing highly effective biocompatible complexes with a wide potential for application in various fields of medicine.

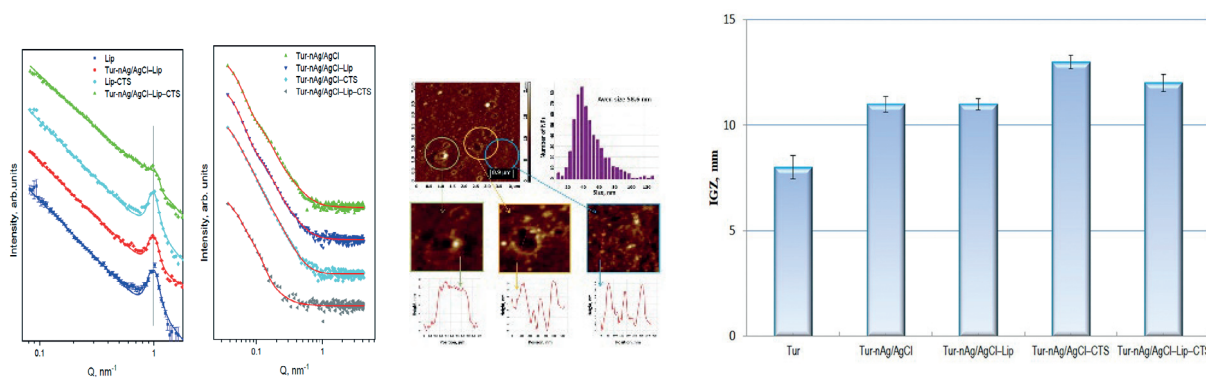
The developed innovative drugs have demonstrated high antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis* bacterium — one of the most problematic pathogens in terms of selection of antibiotics, as well as against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

The results of the study show that the biosynthesis of nanoparticles is of decisive importance for

the properties of the studied biocomposites, in particular, their antimicrobial activity, which is also a consequence of the synergistic effect of the biocomposite components, each showing similar activity.

It is interesting to note that the synthesized and investigated materials also exhibit pronounced activity against cancer cells, which is confirmed in this study in *in vitro* experiments with HT-29 and HepG2 cells. At the same time, the highest efficiency (and the absence of hemolytic activity) was demonstrated only by composites containing bio-similar lipid bilayers.

**Fig. 2.** Structural and morphological characteristics of biohybrids (from left to right: SANS, SAXS and AFM) and their antibacterial effect against *Enterococcus faecalis*.



**Рис. 2.** Структурно-морфологические характеристики биогридов (слева направо: SANS, SAXS и AFM) и их антибактериальный эффект на *Enterococcus faecalis*.

tion и FTIR) и измерения дзета-потенциала были подтверждены образование стабильных биогридных наноконплексов. Все перечисленные выше исследования были нацелены на разработку высокоэффективных биосовместимых комплексов, имеющих широкий потенциал применения в различных областях медицины.

Разработанные инновационные препараты продемонстрировали высокую антимикробную активность в отношении *Enterococcus faecalis* bacterium — одного из наиболее проблемных в плане подбора антибиотиков патогена, — а также в отношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*.

Результаты исследования показывают, что биосинтез наночастиц имеет определяющее зна-

чение для свойств изучаемых биоконпозитов, в частности их антимикробной активности, которая также является следствием синергетического эффекта компонентов биоконпозита, каждый из которых проявляет подобную активность.

Интересно, что полученные и исследованные материалы также имеют значительную активность против раковых клеток, которая подтверждена в данной работе в *in vitro* экспериментах с клетками HT-29 и HepG2. При этом наиболее высокую эффективность (и отсутствие гемолитической активности) продемонстрировали лишь конпозиты, имеющие в составе биоподобные липидные бислои.

## Biosensing: ultrasensitive detection of organic molecules

The development of biosensing techniques to overcome the problem of unreliable detection of diverse bioorganic molecules at ultralow concentrations is an urgent objective of specialists. Discovery of surface-enhanced Raman scattering (SERS) has paved a way to detection of essential organic molecules from solutions at concentrations attributed to single molecules, i.e. below  $10^{-15}$  M. A special interest of SERS-spectroscopy has been paid to the detection and study of bioorganic macromolecules, in particular, to proteins that possess antiseptic properties, as they are prospective in the development of nanomaterials for the prevention and therapy of bacteria/virus-induced diseases. The success-

ful combination of a highly sensitive Raman microspectrometer "CARS" at FLNP with SERS-active substrates developed at BSUIR (Belarus), made it possible to register SERS spectra of bioorganic molecules adsorbed on a silvered porous silicon (por-Si) from  $10^{-6}$ – $10^{-18}$  M solutions.

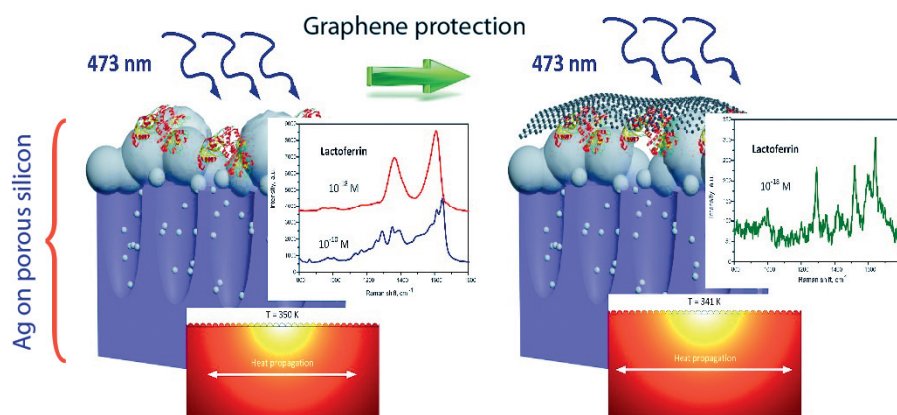
Lactoferrin is a non-heme mammalian iron-binding glycoprotein, belonging to the transferrin family. In addition to the iron transport, lactoferrin modulates immune responses, has antioxidant activity and anti-inflammatory properties, and participates in the regulation of cell growth and differentiation. Recently, it was reported that exogenous lactoferrin can affect the rate of tumor cells growth.

Fig. 1

Sketch of the analyte molecules graphene protection.

Рис. 1

Эскиз защитного действия графена на молекулы аналита.



## Биосенсорика: ультрачувствительное обнаружение молекул

Разработка методов биосенсорики для надежного обнаружения различных биоорганических молекул в сверхнизких концентрациях является актуальной задачей исследователей. Открытие гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) проложило путь к обнаружению жизненно важных органических молекул из растворов в концентрациях, соотносящихся с единичными молекулами, т.е. ниже  $10^{-15}$  M. Особое внимание в ГКР-спектроскопии уделяется обнаружению и изучению биоорганических макромолекул, в частности белков, обладающих антисептическими свойствами, поскольку они перспективны при разработке наноматериалов для профилактики и терапии заболеваний, вызванных бактериями/вирусами. Успешное сочетание высокочувствительного рамановского микроспектро-

метра «КАРС» в ЛНФ с ГКР-активными подложками, разработанными в БГУИР (Беларусь), позволило регистрировать ГКР-спектры биоорганических молекул, адсорбированных на посеребренном пористом кремнии (por-Si) из растворов с концентрациями  $10^{-6}$ – $10^{-18}$  M.

Лактоферрин представляет собой негемовый железосвязывающий гликопротеин млекопитающих, принадлежащий к семейству трансферринов. Помимо транспорта железа, лактоферрин модулирует иммунные ответы, обладает антиоксидантной активностью и противовоспалительными свойствами, а также участвует в регуляции роста и дифференцировки клеток. В последнее время было выявлено, что экзогенный лактоферрин может влиять на скорость роста опухолевых клеток. Таким образом, мони-

Monitoring the changes of the amount of this protein at submolar level in liquids is thus of great interest to research areas related to biomedicine, as well as to the life sciences in general. The ultrahigh sensitivity in the registration of the SERS spectra of lactoferrin at very low concentrations of  $10^{-18}$  M was indeed achieved using the beneficial cooperative effect from the SERS-active substrates based on a silvered por-Si and the protection of the analyte molecules with graphene (Fig. 1) [1].

Further, Raman-imaging of the single TNB molecule was demonstrated with the SERS-active silver dendrites kept in the attomolar DTNB solution, which is a vital compound for chemical and biomedical analysis. 3D dendritic substrates exhibit an extremely developed morphology that possesses much more hot spots compared to the 2D NPs. A

great number of the hot spots is extremely important for a practical implementation of the SERS-active substrates because this will provide the SERS activity even in case of relatively low laser power including portable instrumentation. In contrast to generally accepted belief about adsorption of only uniform monomolecular TNB layer on surface of silver nanostructures, it was shown the coating constituted of TNB layer and DTNB nanoclusters on the dendrites' surface at  $10^{-6}$ – $10^{-12}$  M concentrations [2]. DTNB concentrations below  $10^{-14}$  M resulted in adsorption of TNB molecules in separated spots on the surface of silver nanostructures. Fig.2 shows SERS maps of analyte molecules at concentrations of  $10^{-12}$  –  $10^{-18}$  M.

Fig. 2. SERS maps of the (a) DTNB/TNB and (b–d) TNB adsorbed on the silver dendrites from DTNB solutions of (a)  $10^{-12}$  M, (b)  $10^{-14}$  M, (c)  $10^{-16}$  M and (d)  $10^{-18}$  M concentrations.

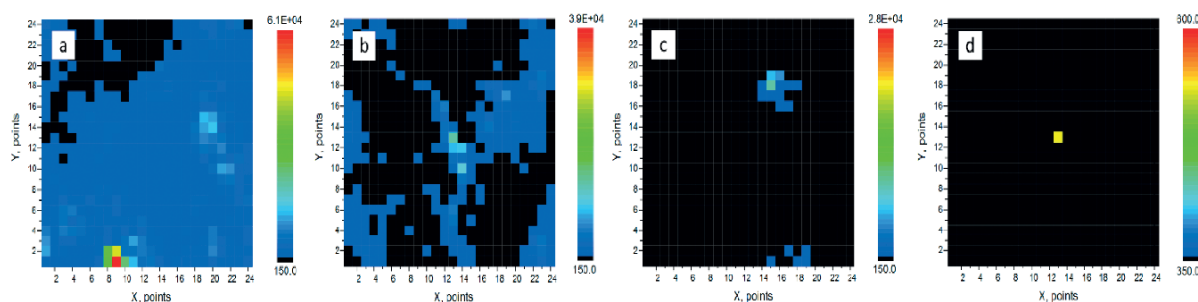


Рис. 2. ГКР-карты: (a) DTNB/TNB и (b–d) TNB адсорбированных на дендритах серебра из растворов DTNB с концентрациями (a)  $10^{-12}$  M, (b)  $10^{-14}$  M, (c)  $10^{-16}$  M and (d)  $10^{-18}$  M.

торинг изменений количества этого белка на субмолярном уровне в жидкостях представляет большой интерес для областей исследований, связанных с биомедициной, а также для наук о жизни в целом. Сверхвысокая чувствительность регистрации ГКР-спектров лактоферрина при очень низких концентрациях  $10^{-18}$  M была достигнута за счет совместного эффекта от ГКР-активных подложек на основе посеребренного пористого кремния и защиты молекул анализируемого вещества графеном (рис. 1) [1].

Кроме того, была продемонстрирована рамановская визуализация единичной молекулы тионитробензойной кислоты (TNB) с помощью ГКР-активных подложек на основе дендритов серебра, содержащихся в аттомолярном растворе DTNB, которая является жизненно важным соединением для химического и биомедицинского анализа. Трехмерные дендритные субстраты де-

монстрируют чрезвычайно развитую морфологию, в которой гораздо больше «горячих точек» по сравнению с двумерными наночастицами. Большое количество «горячих точек» чрезвычайно важно для практического применения ГКР-активных подложек, поскольку это обеспечит ГКР-активность даже в случае относительно низкой мощности лазера, включая портативные приборы. В отличие от общепринятого понимания процесса адсорбции только однородного мономолекулярного слоя TNB на поверхности серебряных наноструктур показано покрытие, состоящее из слоя TNB и нанокластеров DTNB на поверхности дендритов при концентрациях DTNB  $10^{-6}$ – $10^{-12}$  M [2]. Концентрации DTNB ниже  $10^{-14}$  M приводили к адсорбции молекул TNB в отделенных пятнах на поверхности серебряных наноструктур. На рис. 2 представлены ГКР-карты молекул аналита при концентрациях  $10^{-12}$  –  $10^{-18}$  M.

## Study of the structure of “live” functioning mitochondria

At FLNP, in collaboration with the A.N. Belozersky Institute of Physical and Chemical Biology (Moscow State University), for the first time, small-angle neutron scattering (SANS) experiments were conducted on live functioning mitochondria. A mitochondrion is a cell organelle found in almost all eukaryotic organisms. Dysfunction of mitochondria leads to fatal diseases.

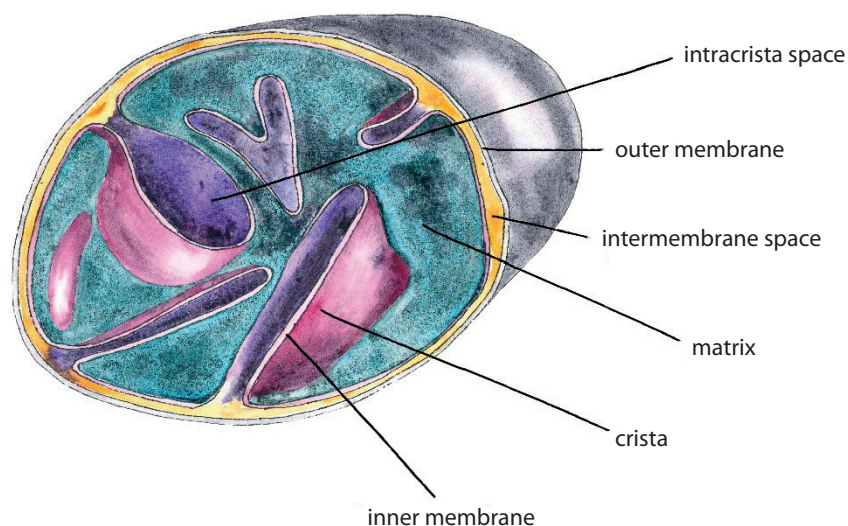
The mitochondrion consists of two membranes that divide its space into three compartments: matrix, intermembrane space and intercris-  
tae space (Fig. 1). The inner mitochondrial mem-

brane consists of 80% proteins and 20% lipids. This membrane has a large area and forms numerous folds called cristae. The SANS method allows one to easily change the sample environment, such as buffer composition, active additives that affect mitochondrial function, and temperature.

It was shown that under certain conditions the inner mitochondrial membrane forms ordered structures with a fixed distance between the membranes. Under normal (isotonic) conditions, the cristae of rat liver mitochondria have a “bag-like” shape, no ordering is observed. However, when the

Fig. 1  
Structure of a mitochondrion.

Рис. 1  
Строение митохондрии.



## Исследование структуры «живых» митохондрий

В ЛНФ совместно с Институтом физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского (Московский государственный университет) впервые были проведены эксперименты по малоугловому рассеянию нейтронов (МУРН) на живых функционирующих митохондриях. Митохондрия — клеточная органелла, присутствующая практически во всех эукариотических организмах. Нарушения в работе митохондрий приводят к фатальным заболеваниям.

Митохондрия образована двумя мембранами, которые разграничивают её пространство на три компартмента: матрица, межмембранное пространство и внутрикристное пространство (рис. 1). Внутренняя митохондриальная мем-

брана на 80% состоит из белков и на 20% из липидов. Эта мембрана имеет большую площадь, поэтому образует много складок, которые называются кристами. Метод МУРН позволяет легко менять условия среды, такие как состав буфера, активные добавки, влияющие на функции митохондрий, а также температуру.

Было показано, что в определенных условиях внутренняя митохондриальная мембрана формирует упорядоченные структуры с фиксированным расстоянием между мембранами. В нормальных (изотонических) условиях кристы митохондрии печени крысы имеют «мешкообразную» форму, упорядочения не наблюдается. Однако при набухании матрицы (путем помеще-



matrix swells (when placing mitochondria in a hypotonic medium), mitochondrial cristae form double-membrane structures with a fixed distance between the membranes (Fig. 2a) [1]. It should be noted that under these conditions, mitochondria produce energy more efficiently, respiratory proton pumps and ATP synthetase work as a single membrane enzymatic complex. Apparently, the reorganization of the structure of the cristae is interrelated with the structural organization of the entire system of oxidative phosphorylation of mitochondria [2, 3].

In contrast to liver mitochondria, heart mitochondria already have highly ordered cristae under normal conditions (Fig. 2b). Obviously, this is due to the high energy demand of the heart tissue and, as

a consequence, a high load on the mitochondria. As conditions change from normal to hypotonic, changes occur in the packing of cristae. The analysis of the data suggests the possibility of two variants of packing of the inner membrane: the formation of an inverted hexagonal phase by the membrane (Fig. 2c) or the formation of a multilamellar structure with two characteristic distances (Fig. 2d) [1].

The existence of two structural (and functional) states of mitochondria studied in this work opens up new possibilities for the search for mitotropic drugs that selectively interact with such structures that can occur *in vivo* during swelling of mitochondria, which is often observed in certain diseases and under stress.

Fig. 2. Structure of a liver mitochondrial crista under conditions of (a) matrix swelling (hypotonic conditions), and heart mitochondrial cristae in (b) normal (isotonic) conditions and (c, d) hypotonic conditions.

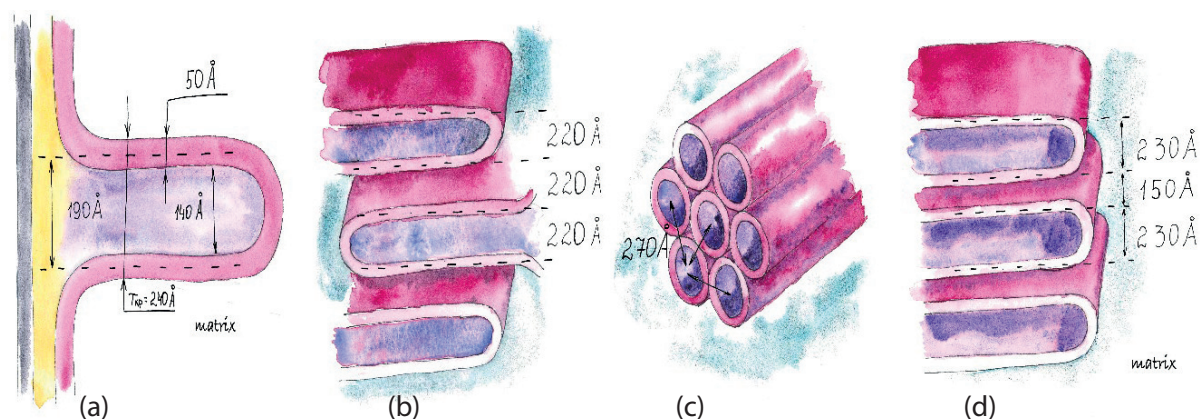


Рис. 2. Строение кристы митохондрии печени в условиях (а) набухания матрицы (гипотонических условиях) и кристы митохондрий сердца в (b) нормальных (изотонических) условиях и (c, d) гипотонических условиях.

ния митохондрий в гипотоническую среду) кристы митохондрий формируют двухмембранные структуры с фиксированным расстоянием между мембранами (рис. 2a) [1]. Стоит отметить, что в этих условиях митохондрии вырабатывают энергию более эффективно, дыхательные протонные помпы и АТФ-синтетаза работают как единый мембранный ферментативный комплекс. Видимо, реорганизация структуры крист взаимосвязана со структурной организацией всей системы окислительного фосфорилирования митохондрий [2, 3].

В отличие от митохондрий печени, митохондрии сердца уже в нормальных условиях имеют высокоупорядоченные кристы (рис. 2b). Очевидно, это связано с высокой энергетической потребностью сердечной ткани и, следовательно, высокой нагрузкой на митохондрии. При

переходе к гипотоническим условиям происходят изменения в упаковке крист. Интерпретация данных говорит о возможности двух вариантов упаковки внутренней мембраны: формирование мембраной инвертированной гексагональной фазы (рис. 2c) или образование мультимембранной структуры с двумя характерными расстояниями (рис. 2d) [1].

Существование исследованных в работе двух структурных (и функциональных) состояний митохондрий открывает новые возможности поиска митотропных активных препаратов, избирательно взаимодействующих с такими структурами, которые могут возникать *in vivo* при набухании митохондрий, часто наблюдаемом при определенных заболеваниях и при стрессовых воздействиях.

[2] Byvshev, I. M., et al. Biophysics 63 (2018). DOI: 10.1134/S0006350918040048

[3] Moiseeva, V. S., et al. Biochem. Moscow Suppl. Ser. A 11 (2017). DOI: 10.1134/S1990747817040079

## Nanoparticles fighting amyloids: under scrutiny of neutrons

Neutron scattering makes it possible to trace at the nanoscale the structural transformations of amyloid fibrils harmful to living cells during their interaction with nanoparticles. Amyloidosis is the leading cause of death after cardiovascular and cancer diseases. For unclear reasons, the normal folding of proteins and peptides is disrupted in the body, which leads to the accumulation of harmful formations — amyloid fibrils — in various organs and tissues. The resulting aggregates have a toxic effect on the surrounding cells and cause a number of diseases, including Alzheimer's and Parkinson's. In each disease, the misfolding of different proteins occurs, but the fibrils formed in each case have a common structure and properties. How to prevent

the formation of fibrils, detect them in advance and prescribe effective treatment? In recent years, in search of a promising strategy for the treatment of amyloidosis, researchers are increasingly paying attention to the neuroprotective properties of nanoparticles (sizes in the range of 1–100 nm) and their anti-amyloid activity.

Nanoparticles can affect amyloid fibrillation in different ways, depending on their size, charge, shape and composition. In this regard, an important task is to study structural transformations during the interaction of nanoparticles with amyloid fibrils. This problem is actively studied at FLNP JINR. Our study pursued two goals: we aimed to evaluate the anti-amyloid activity of aqueous solutions of differ-

Fig. 1. Model amyloid fibrils of lysozyme and adsorption of magnetic nanoparticles (magnetite) on them under an electron microscope.

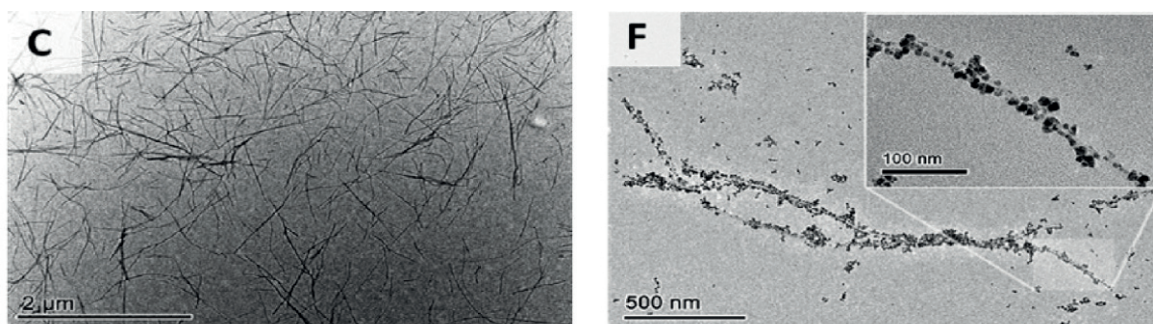


Рис. 1. Модельные амилоидные фибриллы лизоцима под электронным микроскопом и адсорбция на них магнитных наночастиц (магнетит).

## Наночастицы против амилоидов: под контролем нейтронов

Нейтронное рассеяние позволяет на наноразмере проследить структурные преобразования вредных для живых клеток амилоидных фибрилл при их взаимодействии с наночастицами. Амилоидозы — главная причина смерти после сердечно-сосудистых и раковых заболеваний. По не выясненным пока причинам в организме нарушается нормальное сворачивание белков и пептидов, что приводит к накоплению в разных органах и тканях вредных образований — амилоидных фибрилл. Последние оказывают токсическое действие на окружающие клетки, вызывая ряд заболеваний, в частности болезни Альцгеймера и Паркинсона. При каждом заболевании нарушается свертывание различных бел-

ков, но образуемые при этом фибриллы имеют общую структуру и свойства. При выборе перспективной стратегии для лечения амилоидозов в последние годы все чаще обращают внимание на нейропротекторные свойства наночастиц (с размером в диапазоне 1–100 нм) и их антиамилоидную активность.

В зависимости от размера, заряда, формы и состава наночастицы могут по-разному влиять на амилоидную фибрилляцию. В этой связи важной задачей становится изучение структурных преобразований при взаимодействии наночастиц с амилоидными фибриллами. Данной проблемой активно занимаются в ЛНФ ОИЯИ. Наша работа преследует две цели: мы оцениваем ан-

ent nanoparticles (fullerenes, magnetic metallic particles in complexes with surfactants and polymers including peptides) and to analyze the mechanism of amyloid disassembly. These are important issues for further successful use of nanoparticles in the treatment of diseases associated with the formation of amyloid fibrils. For this purpose, the scientists used a combination of several biophysical and biochemical techniques, including small-angle neutron scattering, as well as previous results of joint investigations performed together with the research teams of Peter Kopčanský from the Institute of Experimental Physics of the Slovak Academy of Sciences (IEP SAS) and Leonid A. Bulavin from the Taras Shevchenko National University of Kyiv. By choosing experimental conditions in a special way, in particular, the contrast between the solvent and

nanoparticles, scientists are trying to ensure that the signal from neutron scattering is related either to particles or to amyloid fibrils, which makes it possible to accurately determine changes in the structure of the solution when the concentration of nanoparticles and other conditions vary. “Our work demonstrates how important scattering techniques are for studying the formation and growth of amyloid aggregates as well as their destruction. Our experimental data provide valuable information on the molecular mechanism by which nanoparticles are able to disassemble unwanted amyloid aggregates. Therefore, they can be used to design nano-sized materials with a potent anti-amyloid effect”, summed up Andrey Musatov, a researcher from the Department of Biophysics of IEP SAS.

Fig. 2. Changes in model amyloid solutions of lysozyme and insulin upon addition of fullerenes based on the results of structural studies, including small-angle neutron scattering and atomic force microscopy.

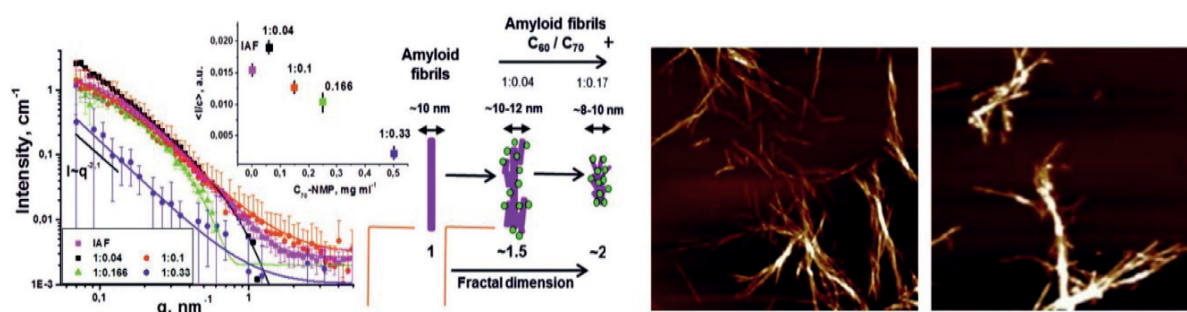


Рис. 2. Изменения в модельных амилоидных растворах лизоцима и инсулина при добавлении фуллеренов по результатам структурных исследований, в том числе методами МУРН и АСМ.

тиамилоидную активность водных растворов различных наночастиц (фуллеренов, магнитных металлических частиц в комплексах с поверхностно-активными веществами и полимерами, включая пептиды) и анализируем механизм разборки амилоида. Это ключевые моменты для дальнейшего успешного использования наночастиц в лечении заболеваний, связанных с амилоидозами. Наряду с различными биофизическими и биохимическими методами активно используется малоугловое рассеяние нейтронов и рентгеновских лучей, применяя наработки предыдущих совместных исследований с группами Петера Копчанского из Института экспериментальной физики Словацкой академии наук (ИЭФ САН) и Леонида Булавина из Киевского национального университета им. Тараса Шевченко. Подобрать специальным образом условия экспе-

римента, в частности контраст между растворителем и наночастицами, ученые добиваются, чтобы сигнал от рассеяния нейтронов был связан либо с частицами, либо с амилоидными фибриллами, что позволяет точно определять изменения в структуре раствора при изменении концентрации наночастиц и других условий. «Наша работа показывает, насколько важную роль играют методы рассеяния при исследовании разрастания амилоидных скоплений и разрушения фибрилл. Данные экспериментов представляют ценные сведения о молекулярном механизме разрушения вредных амилоидных фибрилл и поэтому используются при создании наноразмерных материалов с антиамилоидным эффектом», — профессор Андрей Мусатов из биофизического отдела ИЭФ САН.

[2] Kopčanský P., et al. J. Magn. Magn. Mater. 377 (2015) 267-271. DOI: 10.1016/j.jmmm.2014.10.017

[3] Sipošova K., et al. ACS Appl. Mater. Interfaces 12(29) (2020) 32410-32419. DOI: 10.1021/acsami.0c07964

## Photoaging and biomarker of NETosis

Over the past few years, Raman spectroscopy has become a powerful diagnostic tool in the life sciences. The present research activities are devoted to the application of Raman microspectroscopy for distinction of neutrophils transformed during NETosis and the quantitative determination of the level of their transformation based on the analysis of the neutrophil Raman spectra.

Kinetic analysis with highly sensitive vibrational spectroscopy applied for this study at FLNP, revealed in the low-frequency range of the neutrophil cells Raman spectrum the growth of the citrulline peak within 30–40 minutes after the beginning of the inflammatory process, which can be

classified as an early diagnosis of NETosis (Fig. 1) [1]. Because the peak with the Raman shift of  $\sim 170\text{ cm}^{-1}$  is practically absent in inactivated neutrophils and increases significantly after activation, one can assume that it is associated with the accumulation of citrulline in the cell, the spectrum of which also has a characteristic peak around  $170\text{ cm}^{-1}$ . Normally, citrulline is practically absent in human cells because it is not one of the 20 basic amino acids from which the proteins of our body are built. However, it is known that during NETosis, citrulline could be produced by transformation of histones.

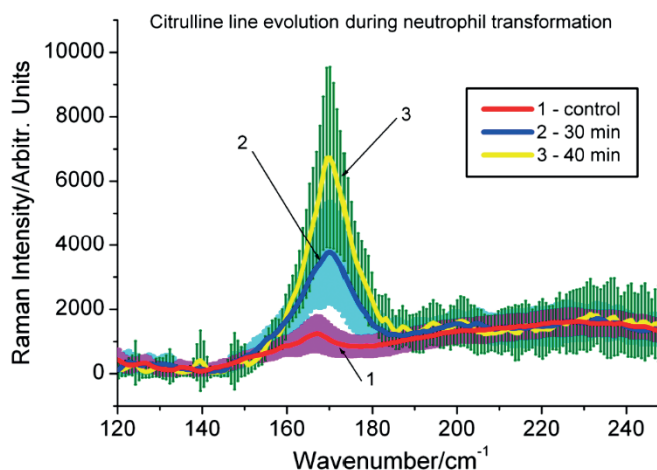
Neutrophils are the most common human blood leukocytes, which are the most important

Fig. 1

Low-frequency region of Raman spectra of neutrophils: citrulline line evolution (growth) indicating the pre-activation of NETosis.

Рис. 1

Низкочастотная область КР-спектра нейтрофилов: эволюция (рост) интенсивности линии цитруллина, указывающая на преактивацию нетоза.



## Фотостарение и биомаркер нетоза

За последние несколько лет спектроскопия комбинационного/рамановского рассеяния стала мощным диагностическим инструментом в науках о жизни. Настоящие научно-исследовательские работы посвящены применению рамановской микроспектроскопии для распознавания нейтрофилов, трансформированных при нетозе, а также количественному определению уровня их трансформации на основе анализа спектров комбинационного рассеяния (КР) нейтрофилов.

Кинетический анализ с использованием высокочувствительной колебательной спектроскопии, применяемый для данного исследования в ЛНФ, позволил выявить в низкочастотном диапазоне спектра комбинационного рассеяния нейтрофильных клеток рост пика цитруллина в течение 30–40 минут после начала воспалитель-

ного процесса, который можно классифицировать как раннюю диагностику нетоза (рис. 1) [1]. Поскольку пик с рамановским сдвигом  $\sim 170\text{ cm}^{-1}$  практически отсутствует у инактивированных нейтрофилов и значительно увеличивается после активации, можно предположить, что он связан с накоплением цитруллина в клетке, в спектре которой также присутствует характерный пик около  $170\text{ cm}^{-1}$ . Цитруллин отсутствует в клетках человека, поскольку он не входит в число 20 основных аминокислот, из которых построены белки нашего организма. Однако известно, что во время процесса нетоза цитруллин может вырабатываться путем трансформации гистонов.

Нейтрофилы являются наиболее распространенными лейкоцитами крови человека и важной частью врожденного иммунитета, обес-

part of the innate immunity and carry out a fast response to microbial invasion. NETosis is a process of the programmed neutrophil cell death which differs from apoptosis or necrosis. Apart from the role in the first line defense within the innate immune system, the dysregulation of NETosis appears to be involved in the pathology of various diseases such as rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, psoriasis, thrombosis, atherosclerosis, and cancer. The activation mechanisms and underlying cascades of NETosis depend highly on the particular stimulus. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) are produced by neutrophilic granulocytes and consist of decondensed chromatin decorated with antimicrobial peptides. They defend the organism against

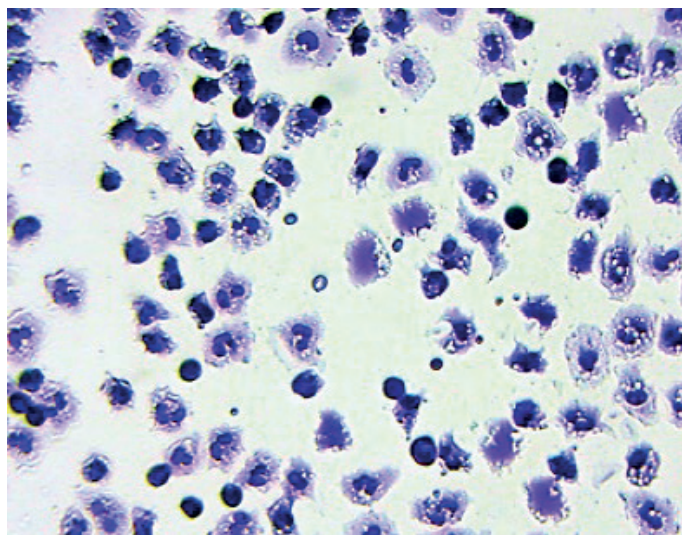
intruders and are released upon various stimuli including pathogens, mediators of inflammation, chemical triggers, ultraviolet (UV) radiation and others. As for the latter, it's well known that prolonged exposure of the skin to UV light leads to its damage and loss of protective properties. Many cells of the immune system, including neutrophils, are involved in the photoaging process. The presence of neutrophils in the skin exposed to UV irradiation is known; however, the mechanism of neutrophil activity at these conditions remains unclear and currently poorly studied. Thus, this is another goal of this project currently being in a progress at FLNP by the use of immunofluorescent microscopy (Fig. 2) combined with Raman microspectroscopy.

Fig. 2

UV(A) light-induced formation of NETs.

Рис. 2

Образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (ВНЛ) под воздействием УФ(А) излучения.



печивая быструю реакцию на микробную инвазию. Нетоз — это процесс запрограммированной гибели нейтрофильных клеток, отличающийся от апоптоза или некроза. Кроме роли первой линии защиты во врожденной иммунной системе, нарушение регуляции нетоза, по-видимому, связано с патологией различных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, системная красная волчанка, псориаз, тромбоз, атеросклероз и рак. Механизмы активации и лежащие в основе каскадные процессы нетоза сильно зависят от конкретного стимула. Нейтрофильные внеклеточные ловушки (ВНЛ) вырабатываются нейтрофильными гранулоцитами и состоят из деконденсированного хроматина, декорированного антимикробными пептидами. Они защищают организм от чужеродных тел и высвобождаются в

присутствии различных возбудителей, включая патогены, медиаторы воспаления, химические триггеры, ультрафиолетовое (УФ) излучение и другие. Что касается последнего, то хорошо известно, что длительное воздействие УФ-излучения на кожу приводит к ее повреждению и потере защитных свойств. Многие клетки иммунной системы, включая нейтрофилы, участвуют в процессе фотостарения. Известно о наличии в коже нейтрофилов, подвергшихся УФ-облучению; однако механизм их активации в таких условиях остается неясным и в настоящее время малоизученным. Таким образом, это еще одна цель данного проекта, который в настоящее время реализуется в ЛНФ с использованием иммунофлуоресцентной микроскопии (рис. 2) в сочетании с рамановской микроспектроскопией.

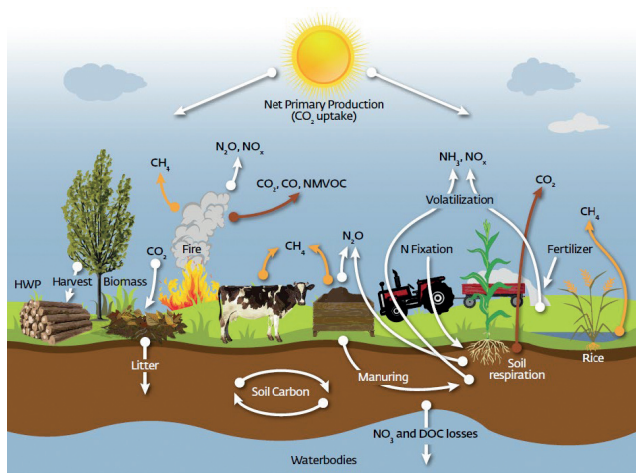
## Neutron technologies for carbon test sites

The monitoring of soil organic carbon (SOC) content is one of the major challenges in the global climate change mitigation policy, as well as in the development and implementation of measures aimed at reducing greenhouse gas emissions. The task of developing new technologies for industrial agriculture that would be adapted to region-specific conditions and at the same time provide an increase in the possibilities for carbon sequestration in soils and its efficiency, implies a new level of refinement and updating of SOC data.

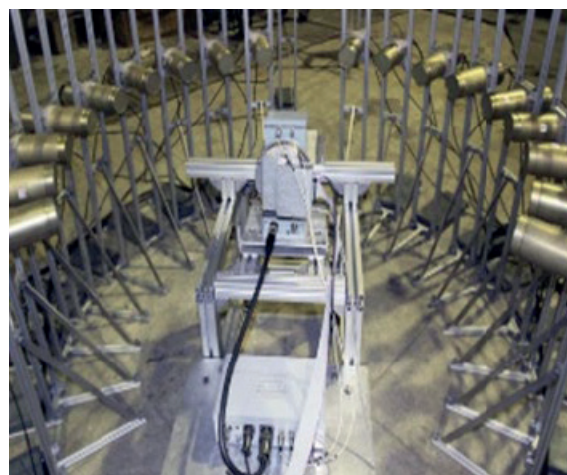
The existing methods of analysis involve mainly field sampling and measurements in laboratory conditions. The advantages of the tagged neutron method (TNM) allowing prompt nondestructive

elemental analysis of various substances and materials (in some cases without removing samples from their natural environment) are well known and widely used in security systems, mining industry, etc. The technique uses 14-MeV neutrons having a high penetrating power. The use of portable tagged neutron generators makes it possible to carry out field measurements without preliminary preparation of samples under study. In the case of soil analysis, this can mean on-site field analysis without the need to extract soil samples from the ground and transport them to the laboratory (perhaps even the analysis in motion).

At FLNP, within the framework of the TANGRA project, experiments were started to determine the



FAO, 2020, <https://doi.org/10.4060/cb0509en>



## Нейтронные технологии для карбоновых полигонов

Мониторинг содержания органического углерода (SOC) в почвах является важнейшей задачей в проблематике глобальных климатических изменений, в выработке и реализации мер, направленных на сокращение выбросов парниковых газов. Задача разработки новых технологий агроиндустрии, адаптированных к условиям конкретного региона и обеспечивающих одновременно увеличение секвестрационного потенциала почв и их продуктивности, предполагает новый уровень детализации и обновления данных о SOC.

Существующие методы анализа предполагают, в основном, отбор объемных проб и работу в условиях лаборатории. Преимущества метода меченых нейтронов (ММН) в быстром неразрушающем элементном анализе различных ве-

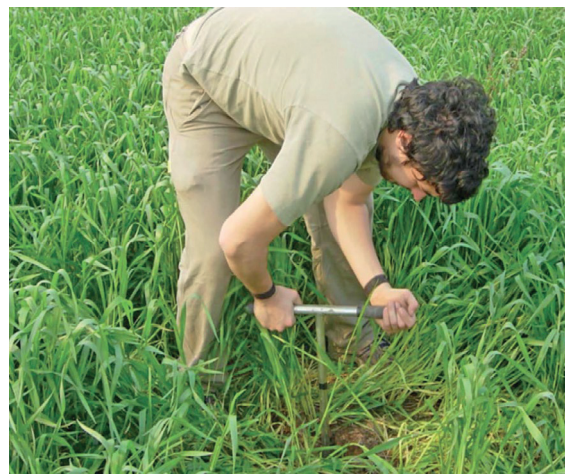
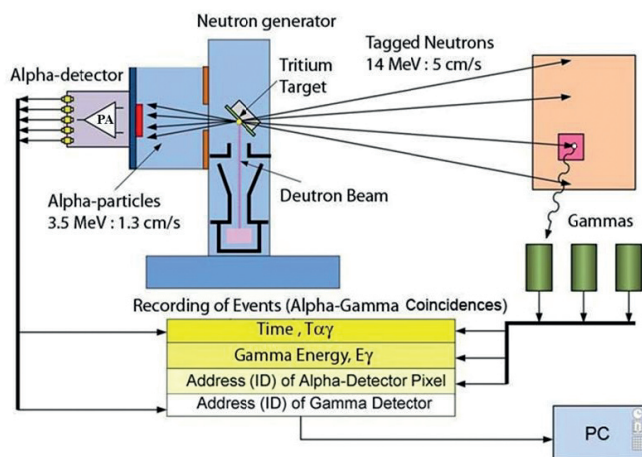
ществ и материалов, в ряде случаев — без извлечения образца из характерных для него условий, хорошо известны и применяются в системах безопасности, в горнорудной промышленности и т.п. В методе применяются нейтроны с энергией 14 МэВ, обладающие большой проникающей способностью. Использование портативных генераторов меченых нейтронов позволяет проводить полевые измерения без предварительной подготовки исследуемых образцов. Применительно к анализу почвы это может означать анализ «в поле», без извлечения объемной пробы и её транспортировки в лабораторию. Возможно, даже в движении.

В ЛНФ в проекте TANGRA стартовали эксперименты по определению параметров метода в

parameters of the method in the task of determining SOC content and their dependence on the soil composition, conditions of a particular place, as well as to select the optimal configuration of the detector system (detectors based on BGO, NaI, LaBr<sub>3</sub>, HPGe, etc.), geometry of the mobile setup.

“Today the problem of environmental and, in particular, the carbon footprint of products is gaining more and more ‘practical’ significance. Not only the competitiveness of, for example, our grain, but also the very possibility of maintaining its place on the world market will depend on what this footprint is, whether we are able to confirm the declared values within the framework of internationally recognized regulations. The problem of efficiency, coverage and detailing of monitoring of the state and

dynamics of various carbon reservoirs comes to the fore. Of course, the future, to a large extent, belongs to remote sensing techniques. But for their development today, as well as at least for verification/calibration of results obtained with their help, it is extremely important to have mobile/field instruments. In assessing the SOC content, prospects are pinned on various variants of spectroscopy methods. And among them, the main expectations are placed on TNM (analysis of samples of significant volume and from various depths without extracting them);” N.D. Durmanov, Deputy Chairman of the Expert Council on Carbon Balance Technologies under the Russian Ministry of Science and Higher Education.



FAO, 2020, <https://doi.org/10.4060/cb0509en>

задаче определения SOC и их зависимости от состава почвы, условий конкретной локации, а также по выбору оптимальной конфигурации детектирующей системы (детекторы на основе BGO, NaI, LaBr<sub>3</sub>, HPGe, другие), геометрии мобильной установки.

«Сегодня вопрос экологического и, в частности, «карбонового» следа продукции приобретает всё более «практическое» значение. От того, каков этот след, способны ли мы в рамках признаваемых на международном уровне регламентов подтвердить заявленные значения, будет зависеть не только конкурентоспособность, например, нашего зерна, но и сама возможность сохранения его позиций на мировых рынках. На передний план выходит проблема оперативности, охвата и детализации мониторинга состоя-

ния и динамики различных резервуаров углерода. Конечно, будущее, в значительной степени, за методами ДЗЗ. Но для их разработки сегодня, а также, как минимум, для верификации/калибровки получаемых с их помощью результатов крайне важно иметь мобильные/полевые приборы. В оценке SOC перспективы связаны с различными вариантами методов спектроскопии. И в этом ряду основные ожидания от ММН — анализ пробы значительного объема/глубины без её «извлечения», — Н.Д. Дурманов, заместитель председателя Экспертного совета при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации по вопросам научного обеспечения развития технологий контроля углеродного баланса.

## Assessment of heavy metal deposition by moss monitoring

The moss biomonitoring method in combination with analytical nuclear physics and chemical methods of analysis has been regularly used for the last 30 years in Western European countries to study atmospheric deposition of heavy metals, and over the past 15 years it has become widespread in Eastern Europe. Within the framework of the international program “Atmospheric Deposition of Heavy Metals in Europe — Assessment Based on Moss Analysis” under the auspices of the United Nations, the European Atlas of Atmospheric Deposition of Heavy Metals is published every 5 years. The aim of this program is to qualitatively and quantitatively

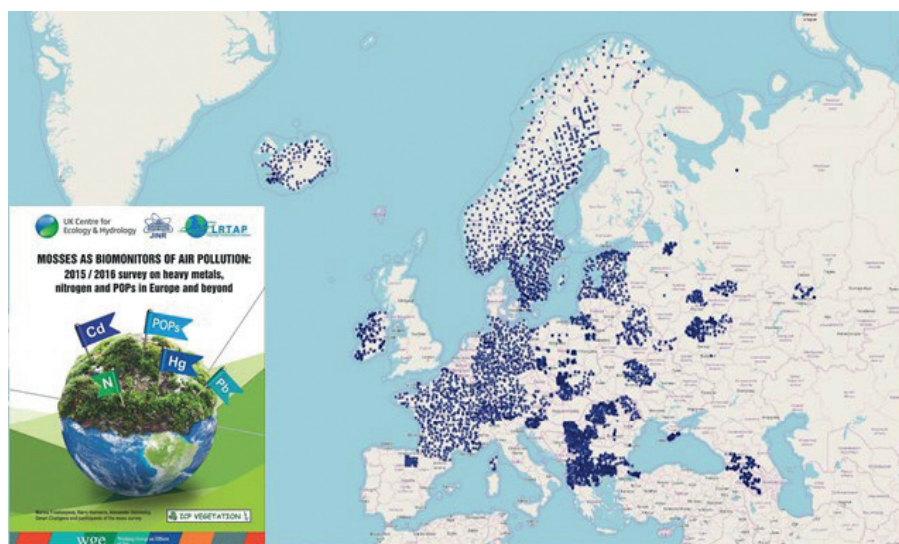
characterize the distribution of regional atmospheric depositions in Europe and now in Asia, to identify the location of important sources of heavy metal pollution and provide a retrospective picture of comparison with similar studies repeated every 5 years. Concentrations of heavy metals in mosses correlate well with atmospheric precipitation, and the transition to absolute values of heavy metal concentrations in air through calibration based on the total amount of precipitation is quite simple. The choice of mosses for the assessment of atmospheric deposition of heavy metals and other trace elements is determined by the fact that mosses ef-

Fig. 1

Map of sample collection sites of moss biomonitors in 2015–2016.

Рис. 1

Карта пробоотбора мхов-биомониторов в 2015–2016 гг.



## Оценка осаждения тяжелых металлов методом мхов-мониторов

Метод мхов-биомониторов, в сочетании с ядерно-физическими и химическими аналитическими методами анализа, регулярно используется в течение последних 30 лет в странах Западной Европы для изучения атмосферных выпадений тяжелых металлов, а за последние 15 лет он нашел распространение и в странах Восточной Европы. В рамках международной программы «Атмосферные выпадения тяжелых металлов в Европе — оценки на основе анализа мхов-биомониторов» с периодичностью в 5 лет под эгидой ООН издается Европейский атлас атмосферных выпадений тяжелых металлов. Цель этой программы — качественно и количественно охарактер-

изировать распределение региональных атмосферных выпадений в Европе, а теперь и в Азии, выделить местоположение важных источников загрязнения тяжелыми металлами и дать ретроспективную картину сравнения с такими же исследованиями, повторяющимися каждые 5 лет. Концентрации тяжелых металлов во мхах хорошо коррелируют с атмосферными выпадениями, а переход к абсолютным величинам содержания тяжелых металлов в воздухе через калибровку по общему количеству осадков достаточно прост. Выбор мхов для оценки атмосферных выпадений тяжелых металлов и других микроэлементов определяется тем, что мхи эффективно концент-



fectively concentrate pollutants from the air and precipitation. Moreover, they do not have a root system and, therefore the contribution of sources other than atmospheric deposition is in most cases limited. Mosses can be analyzed using a variety of analytical methods.

Since 1995, the Sector of Neutron Activation Analysis of FLNP JINR has been taking part in the European program “Atmospheric Deposition of Heavy Metals in Europe — Assessment Based on Moss Analysis”. The first contribution to the Atlas for 1995/1996 was the results for the Eastern Carpathians, Romania. The Atlas for 2015-2016 includes results for 36 countries, including fifteen JINR Member States: Azerbaijan, Armenia, Belarus, Bulgaria, Czech Republic, Georgia, Kazakhstan, Moldova, Mongolia,

Poland, Romania, Russia, Slovakia, Ukraine and Vietnam. A total of 5,156 samples of moss biomonitors were collected (Fig. 1) and analyzed using various analytical techniques.

At FLNP, neutron activation analysis (NAA) is used, which allows the determination of up to 45 elements. The elements Cd, Cu, Pb, which are important from an environmental point of view, are additionally determined by atomic absorption spectrometry.

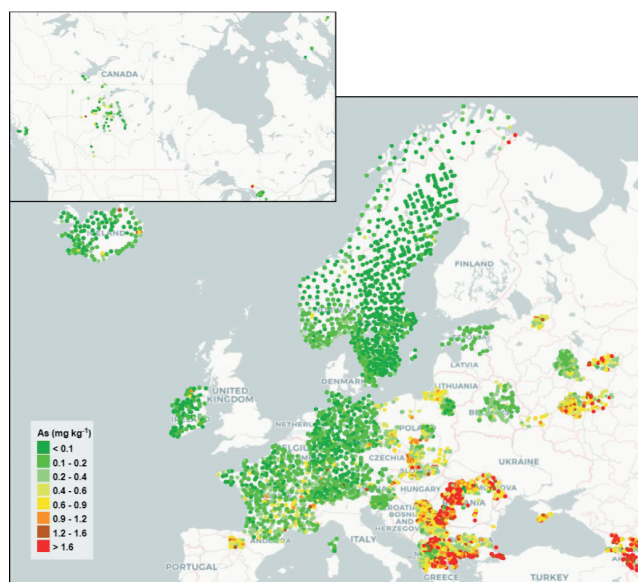
As an illustration, a map of arsenic distribution is presented (Fig. 2). High levels of arsenic were observed in southern and eastern countries such as Tajikistan, northern Turkey, Kazakhstan, Mongolia, Armenia, northern Greece, Azerbaijan and Romania.

Fig. 2

Map of arsenic distribution from the report for 2015-2016.

Рис. 2

Карта распределения содержания мышьяка из отчета 2015-2016 гг.



рируют загрязняющие вещества из воздуха и осадков. Более того, они не имеют корневой системы и, следовательно, вклад других источников, кроме атмосферных выпадений, в большинстве случаев ограничен. Анализ мхов может проводиться различными аналитическими методами.

Начиная с 1995 года сектор нейтронного активационного анализа ЛНФ ОИЯИ принимает участие в Европейской программе «Атмосферные выпадения тяжелых металлов в Европе — оценки на основе анализа мхов». Первым вкладом в Атлас 1995/1996 года были результаты по Восточным Карпатам, Румыния. В Атлас 2015/2016 гг. вошли результаты по 36 странам, среди которых 15 стран-участниц ОИЯИ: Азербайджан, Армения, Беларусь, Болгария, Вьетнам, Грузия,

Казахстан, Молдова, Монголия, Польша, Россия, Румыния, Словакия, Украина и Чехия. В общей сложности были собраны 5156 образцов мхов-биомониторов (рис. 1), анализ которых проводили различными аналитическими методами.

В ЛНФ для анализа используют метод НАА, который позволяет определять до 45 элементов. Важные с экологической точки зрения элементы Cd, Cu, Pb определяются дополнительно, методом атомной абсорбционной спектроскопии.

В качестве примера приведена карта распределения мышьяка (рис. 2). Высокие уровни мышьяка наблюдались в южных и восточных странах, таких как Таджикистан, северная Турция, Казахстан, Монголия, Армения, северная Греция, Азербайджан и Румыния.

## Carbon nanoplatforms for drug delivery in oncotherapy

Nanomaterials possess unique optical, magnetic and electrical properties, which stimulates their wide research in various fields of science. Of particular interest is the use of nanomaterials in biomedical applications such as molecular imaging, tissue engineering, biosensors and targeted drug delivery systems. The application of innovative solutions related to targeted drug delivery is very promising for successful treatment of cancer. The aim of this project is to design carbon nanocarriers that can safely and effectively deliver anticancer agents to diseased tissues.

Cancer is a group of many different diseases in which some cells grow uncontrollably and spread to other parts of the body. Cancer is currently one of the most frequent causes of death in the world. Commonly used cytostatics cause several toxic side effects that can be mitigated by using nanocarriers in cancer treatment. The application of nanoparticles in cancer therapy makes it possible to selectively target the tumor without adversely affecting the surrounding tissues. What is more, appropriate manipulations with the size and surface properties of nanomaterials make it possible to create a system

Fig. 1. Schematic of modification of carbon nanotubes and doxorubicin adsorption.

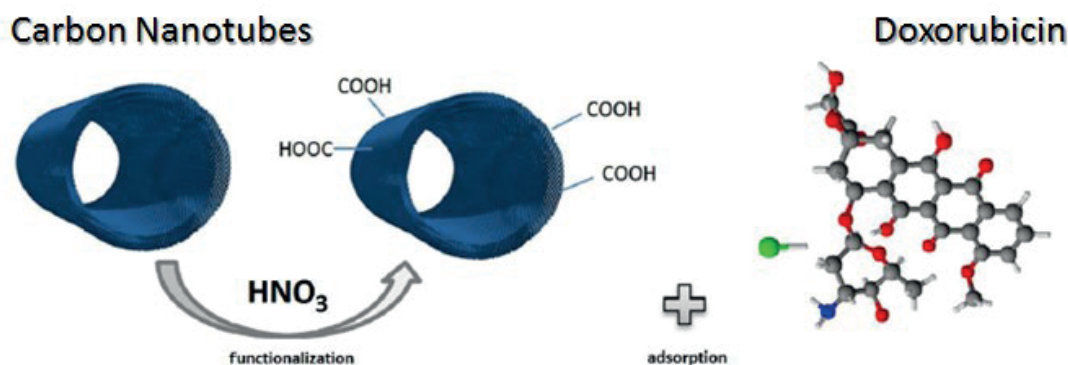


Рис. 1. Схема модификации углеродных нанотрубок и адсорбции на них доксорубицина.

## Углеродные наноплатформы для доставки лекарств

Нanomaterialы обладают уникальными оптическими, магнитными и электрическими свойствами, что стимулирует их широкое исследование в различных научных областях. Особенно интересным представляется использование наноматериалов в биомедицинских приложениях, таких как молекулярная визуализация, тканевая инженерия, биосенсоры и системы адресной доставки лекарств. Применение инновационных решений, связанных с адресной доставкой лекарств, очень перспективно для успешного лечения онкологических заболеваний. Целью настоящих исследований является создание углеродных наноносителей, которые могут безопасно и эффективно доставлять противораковые агенты к пораженным тканям.

Рак — это группа различных заболеваний, при которых некоторые клетки бесконтрольно растут и распространяются на другие части тела. Сегодня рак — одна из самых частых причин смерти в мире. Обычно используемые цитостатики вызывают ряд побочных токсических эффектов, которые можно уменьшить, используя так называемые наноносители лекарств. Применение наночастиц в терапии рака позволяет избирательно попадать в опухоль без негативного воздействия на окружающие ткани. Более того, соответствующие манипуляции с размером и свойствами поверхности частиц позволяют создавать системы, которые могут высвобождать лекарство контролируемым образом. В рамках настоящих исследований исследуются углерод-

that can release a drug in a controlled way. Within the framework of the project, carbon nanomaterials (carbon nanotubes, activated carbon and carbon fibers) were studied as carriers of the anticancer drug doxorubicin. These carbon matrices were also oxidized to optimize the adsorption and release process compared to pristine carbon nanomaterials.

To describe the properties of nanocarriers, adsorption/desorption mechanisms and interactions between the anticancer drug and surface of modified and pristine carbon nanomaterials, experimental techniques (scanning electron microscopy, transmission electron microscopy, UV-visible spectroscopy, Fourier-transform infrared spectroscopy,

Raman spectroscopy, energy-dispersive spectroscopy, thermogravimetry, differential scanning calorimetry, X-rays) and simulation methods (Molecular dynamics) were used.

Based on the obtained results, it could be concluded that: surface modification increases the adsorption capacity of carbon materials; drug adsorption on modified carbon nanomaterials depends on both the types of adsorbent and adsorbate; the release process is effective at acidic pH, and at neutral pH, no release process occurs; the mechanism of adsorption and release processes of the drug from the hydrophobic surface of carbon nanomaterials can be determined by using kinetics models.

Fig. 2. SEM images of modified a) carbon nanotubes b) activated carbon and c) carbon fibers with adsorbed doxorubicin.

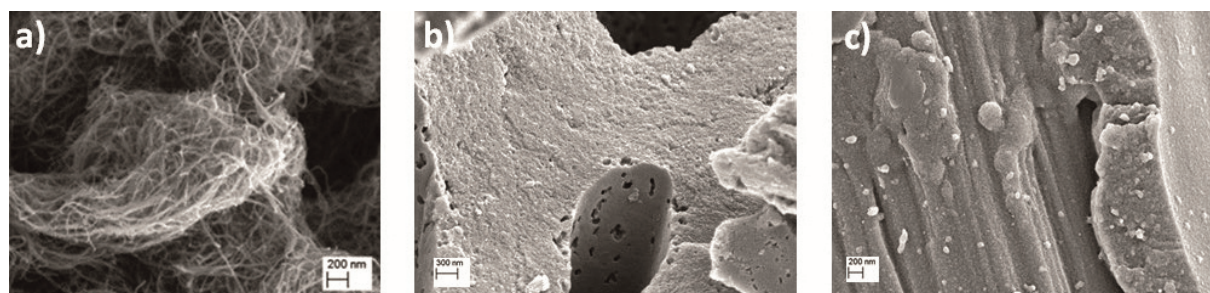


Рис. 2. Изображения со сканирующего электронного микроскопа (SEM) модифицированных а) углеродных нанотрубок и б) активированного угля, а также с) углеродных волокон с адсорбированным доксорубицином.

ные наноматериалы (углеродные нанотрубки, активированный уголь и углеродные волокна) в качестве носителей противоопухолевого препарата доксорубицина. Для оптимизации процесса адсорбции и высвобождения лекарства углеродные носители окисляются.

Для описания свойств наноносителей, механизмов адсорбции/десорбции и взаимодействия между противоопухолевым препаратом и поверхностью начальных и модифицированных углеродных наночастиц использовались различные экспериментальные методы (сканирующая электронная микроскопия, просвечивающая электронная микроскопия, УФ-видимая спектроскопия, инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье, спектроскопия комбинационного рассеяния света, энергодисперсионная

спектроскопия, термогравиметрия, дифференциальная сканирующая калориметрия, рентгеновское рассеяние) и методы моделирования (молекулярная динамика).

На основании полученных результатов показано, что: модификация поверхности посредством окисления увеличивает адсорбционную способность углеродных материалов; адсорбция лекарства на модифицированных углеродных наноматериалах зависит как от типа адсорбента, так и от адсорбирующего агента; процесс высвобождения эффективен в кислых средах, в то время как в нейтральной среде он подавляется. Механизм процессов адсорбции и высвобождения лекарства с гидрофобной поверхности углеродных наночастиц можно определить с помощью кинетических моделей.

## Vibrational and nonlinear optical bioimaging

A new advanced and highly sensitive approach of the imaging of protein crystals that is based on polarization-sensitive coherent anti-Stokes Raman scattering (P-CARS) has been successfully developed at FLNP on the base of the laser-scanning microspectrometer "CARS" with fast data acquisition and highly contrast vibrational imaging. Along with the vibrational imaging, SONICC (second order nonlinear imaging of chiral crystals) was also developed as a contrast imaging technology for identifying chiral crystals and relies on nonlinear second harmonic generation (SHG) techniques. In cooperation with the Moscow Institute of Physics and Technology and the Institute of Complex Sys-

tems: Structural Biochemistry (ICS-6), Research Centre Jülich, Germany, studies at FLNP were performed with in meso grown bacteriorhodopsin (bR) crystals (Fig. 1) [1]. High three-dimensional (3D) resolution is achieved with two collinearly overlapped near infrared picosecond beams and a water-immersion objective with a high numerical aperture.

It's worth to mention, that serial crystallography at last generation X-ray synchrotron sources and free electron lasers enabled data collection with micrometer and even sub-micrometer size crystals, which have resulted in a remarkable progress in structural biology. However, imaging of small crystals, which although is highly demanded,

Fig. 1. Micrograph (a), Raman (b) and P-CARS (c), images of bR crystal.

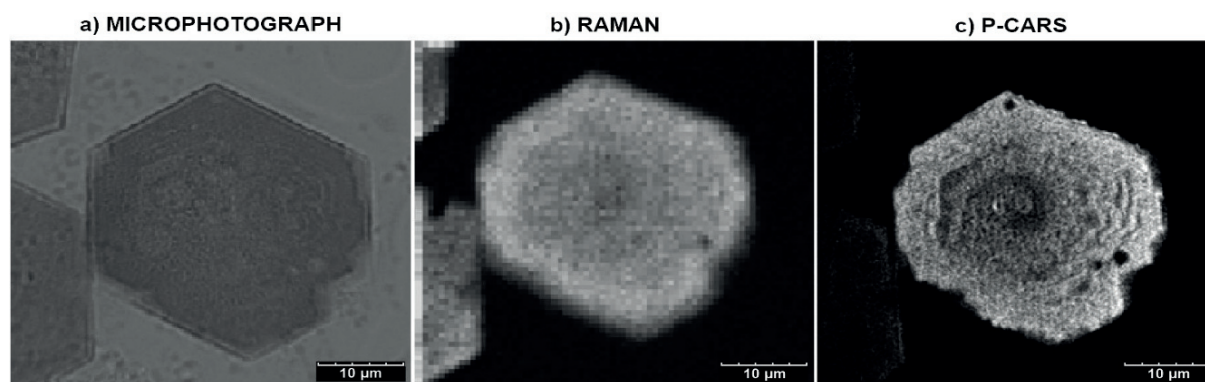


Рис. 1. Визуализация кристалла бР: микрофотография (а), рамановская спектроскопия (б), П-КАРС (с).

## Колебательная и нелинейно-оптическая биовизуализация

Новый перспективный и высокочувствительный подход к визуализации кристаллов белков, основанный на поляризационно-чувствительном когерентном антистоксовом комбинационном рассеянии света (П-КАРС), успешно разработан в ЛНФ на базе лазерного сканирующего микроспектрометра «КАРС» с быстрым сбором данных и высококонтрастной колебательной визуализацией. Наряду с колебательной визуализацией, также была разработана методика для контрастной визуализации хиральных кристаллов на основе генерации второй гармоники (ГВГ), известная как SONICC — нелинейная визуализация второго порядка хиральных кристаллов. Исследования с использованием мезо-выращенных кристаллов бактериородопсина (бР) (рис. 1) были выполнены в ЛНФ в сотрудничестве с Мос-

ковским физико-техническим институтом и Институтом сложных систем: структурной биохимии (ICS-6), исследовательского центра в Юлихе, Германия [1]. Высокое трехмерное (3D) разрешение достигается за счет двух коллинеарно перекрывающихся пикосекундных пучков ближнего инфракрасного диапазона и водно-иммерсионного объектива с высокой числовой апертурой.

Стоит отметить, что серийная кристаллография на источниках рентгеновского синхротронного излучения и лазерах на свободных электронах последнего поколения позволила провести сбор данных кристаллов микрометрового и даже суб-микрометрового размера, что привело к значительному прогрессу в структурной биологии. Однако визуализация малых кристаллов, будучи очень востребованной, остается пробле-

remains a challenge, especially in the case of membrane protein (MP) crystals. CARS microscopy provides an advanced nondestructive and label-free technique with high sensitivity and high lateral spatial resolution capable of spectrally-selective imaging of major types of macromolecules: proteins, lipids, nucleic acids, etc.

In the last few years, FLNP has also implemented another promising nonlinear imaging project SECARS — the combination of surface-enhanced Raman scattering (SERS) with coherent anti-Stokes Raman scattering aimed at highly contrast detection of organic molecules. Since the CARS signal quadratically increases with the intensity of the electromagnetic field, an electromagnetic field in a

SERS condition can further increase the CARS signal intensity. The very first experiments on SECARS imaging in Russia were realized at FLNP using various acids (MPBA, TNB) as Raman reporter molecules (Fig. 2). The laser intensity limits for detecting reproducible SECARS spectra and corresponding high-contrast imaging were determined [2]. SERS and SECARS were successfully applied for selective detection of glycated human serum albumin (HSA) — a potential biomarker in diabetes.

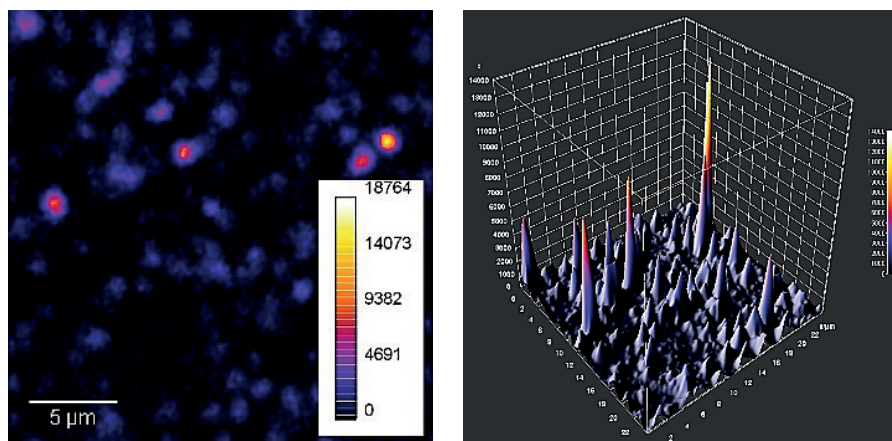
Bioimaging could draw together new research from across the life sciences showcasing innovations in cell imaging methodologies and image analysis techniques, and how these are put into practice.

Fig. 2

Highly-contrast SECARS resonant micro-image of TNB/Au-NPs conjugates.

Рис. 2

Высококонтрастное ГКАРС резонансное микроизображение конъюгатов TNB/Au-NP.



мой, особенно для кристаллов мембранного белка (МБ). КАРС-микроскопия обеспечивает передовой неразрушающий и безмаркерный метод визуализации с высокой чувствительностью и высоким латеральным пространственным разрешением, позволяющий получать спектрально-селективные изображения основных типов макромолекул: белков, липидов, нуклеиновых кислот и т. д.

В последние несколько лет в ЛНФ реализован еще один многообещающий проект нелинейной визуализации ГКАРС — сочетание гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) с когерентным антистоксовым рассеянием света, нацеленный на высококонтрастную регистрацию органических молекул. Поскольку КАРС-сигнал квадратично растет с интенсивностью электромагнитного поля, то усиление электромагнитного поля в условиях ГКР может еще больше

увеличить интенсивность КАРС-сигнала. Первые в России эксперименты по ГКАРС-визуализации были реализованы в ЛНФ с использованием различных кислот (MPBA, TNB) в качестве молекул-репортеров (рис. 2). Были определены пределы интенсивности лазера для обнаружения воспроизводимых ГКАРС-спектров и соответствующих высококонтрастных изображений [2]. ГКР и ГКАРС были успешно использованы для селективного обнаружения гликозилированного сыровоточного альбумина человека (САЧ) — потенциального биомаркера диабета.

Бивизуализация может объединить новые исследования из разных областей наук о жизни, демонстрирующие инновации в методологиях визуализации клеток и методах анализа изображений, а также способы их применения на практике.

## Effects of nanoparticles on cognitive abilities

In today's world, nanoparticles enter the human body (including workers in numerous industries dealing with nanoparticles) in small daily doses and in natural ways (with food and water, as well as with air). Due to their small size and low solubility, nanoparticles are not recognized by the body's defense systems, do not undergo chemical decomposition and are slowly or not at all excreted from the body, thus posing a potential threat to human health, including the health of children exposed to nanoparticles while still in the womb.

The ability of nanoparticles to cross the blood-brain and placental barriers poses a fundamentally

new task today — the task of studying the potential danger of the development of previously unknown defects of the central nervous system and disorders of the brain, including cognitive dysfunctions in humans and animals.

For the first time, the effects of silver nanoparticles received from the mother's body during the prenatal and lactation periods on the offspring were investigated. The assessment of the presence or absence of cognitive dysfunctions in young animals exposed to nanoparticles coming through the placenta from the mother's body before birth was carried out according to one of the most commonly

Fig. 1. Examples of movement patterns of animals with different types of behavior in the Morris test:  
1 — directional search, 2 — random search, 3 — thigmotaxis (strategy of incapable individuals).

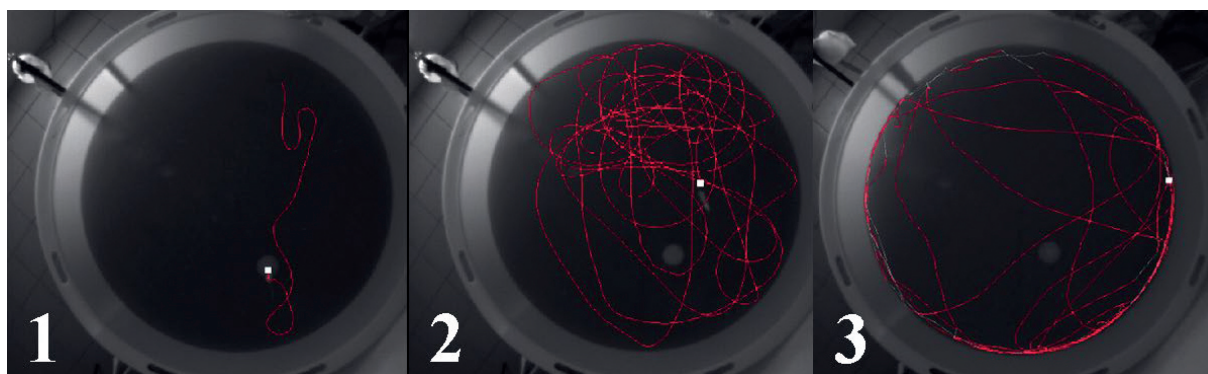


Рис. 1. Примеры траекторий движения животных с разными типами поведения в тесте Морриса:  
1 — направленный поиск, 2 — случайный поиск, 3 — тигмотаксис (стратегия неспособных особей).

## Влияние наночастиц на когнитивные способности

В современном мире наночастицы поступают в организм человека (в том числе работников многочисленных производств, имеющих дело с наночастицами) в малых ежедневных дозах и естественными путями (с пищей и водой, а также с воздухом). Ввиду их малого размера и низкой растворимости наночастицы не распознаются защитными системами организма, не подвергаются химическому разложению и медленно или вовсе не выводятся из организма, таким образом представляя потенциальную угрозу для здоровья человека, в том числе и для здоровья детей, подвергающихся экспозиции наночастицами еще в утробе матери.

Способность наночастиц к преодолению гематоэнцефалического и плацентарного барьеров ставит сегодня принципиально новую задачу — задачу изучения потенциальной опасности развития неизвестных ранее дефектов центральной нервной системы и нарушений работы мозга, в том числе когнитивных дисфункций у человека и животных.

Впервые были исследованы последствия влияния на потомство наночастиц серебра, поступивших из организма матери в пренатальный период и период лактации. Оценка наличия или отсутствия когнитивных дисфункций у молодых животных, до рождения подвергнутых воздей-

used and reliable behavioral tests for assessing cognitive functions — the Morris water maze. The comparison of the cognitive abilities of experimental young animals exposed to the effect of nanoparticles and control animals showed that in the prenatal period the brain regions responsible for the formation of spatial memory are more vulnerable to silver nanoparticles than after birth, which can be explained by the incomplete development of the blood-brain barrier in the fetus (Fig. 1).

The silver content in different organs (blood, liver, lungs, kidneys and brain) of female mice and their offspring was determined by neutron activa-

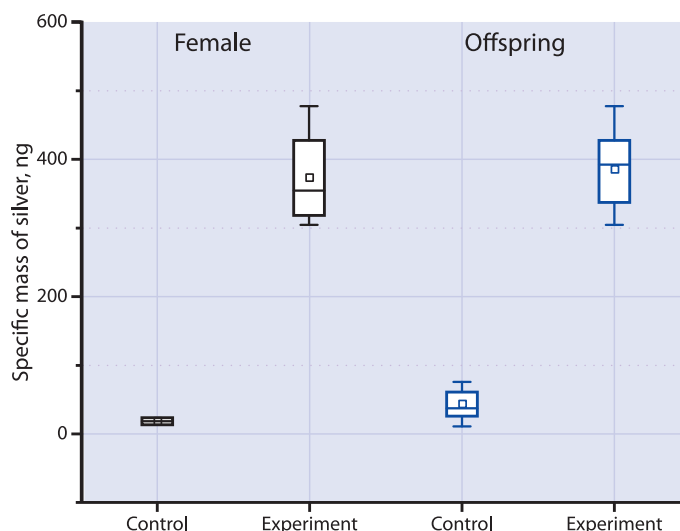
tion analysis. In female mice, the highest silver concentration was determined in lungs, followed by brain, liver, kidney and blood. In the offspring, silver bioaccumulation changed in the following order: lungs>brain>blood>liver>kidneys. The average specific mass content of silver, which crossed the blood-brain barrier was  $373 \pm 75$  ng (for female mice) and  $385 \pm 57$  ng (for offspring). The obtained results are important for assessing the toxic effect of nanomaterials on the human reproductive system.

Fig. 2

Mass content of silver in the brain of female mice and their offspring determined by neutron activation analysis.

Рис. 2

Массовое содержание серебра в мозге самок и их потомства, определенное методом нейтронного активационного анализа.



ствию наночастиц, поступавших через плаценту из организма матери, была проведена согласно единому, объемному и надежно зарекомендовавшему себя в мировой практике методу тестирования — водному лабиринту Морриса. Полученные результаты показали, что в пренатальный период области мозга, отвечающие за формирование пространственной памяти, более уязвимы перед наночастицами серебра, чем после рождения, что может быть обусловлено незаконченным развитием гематоэнцефалического барьера у плода (рис. 1).

Содержание серебра в различных органах (кровь, печень, легкие, почки и мозг) самок и их

потомства было определено методом нейтронного активационного анализа. В самках самое высокое содержание серебра было определено в легких, затем в мозге, печени, почках и крови. У потомства накопление серебра изменялось в следующем порядке: легкие > мозг > кровь > печень > почки. Среднее массовое содержание серебра в мозге самок составило  $373 \pm 75$  нг и в мозге потомства  $385 \pm 57$  нг. Полученные данные важны для оценки токсического эффекта наноматериалов на репродуктивную систему человека.

# Neutron capture therapy with the help of magnetic nanoparticles

Cancer is one of the leading causes of death worldwide, accounting for nearly 10 million deaths in 2020. Standard cancer treatments cause severe side effects. To improve the efficacy and selectivity of treatment, new delivery agents should be investigated. The present project focuses on the design, physical and biological characterisation of nanocarriers for potential applications in Neutron Capture Therapy (NCT) and Boron Neutron Capture Therapy (BNCT). The interdisciplinary approach taken to develop the research programme is expected to contribute to the development of nanoplatforms for NCT, enhancing the performance of current delivery

agents for NCT. The final aim of this project is to create novel NCT and agents with improved cancer therapeutic efficacy that can be successfully translated into preclinical studies.

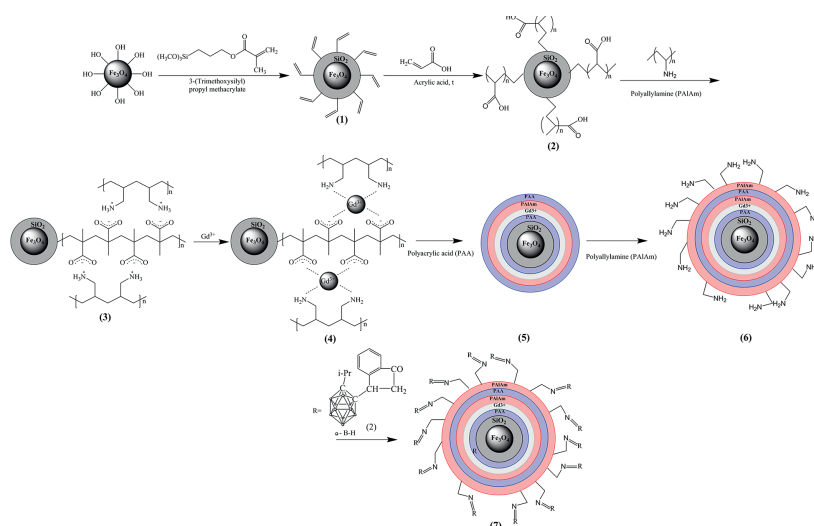
Magnetic nanoparticles have important applications in pharmacy and oncology diagnostics. What is more, drug carriers based on magnetic nanoparticles show the potential to improve transport and selective concentration of the required amount of drug at target sites using an external magnetic field. The application of magnetic nanoparticles in NCT treatment shows many advantages as there are no drug release problems compared to

Fig. 1

Scheme of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  modification and carborane and gadolinium ion immobilization.

Рис. 1

Схема модификации наночастиц магнетита  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и иммобилизации на их поверхности ионов карборана и гадолиния.



## Инновации для нейтрон-захватной терапии

Онкологические заболевания являются одной из основных причин смерти во всем мире (на 2020 г. 10 миллионов смертей за год). Стандартные методы лечения рака вызывают серьезные побочные эффекты. Для повышения эффективности и селективности лечения необходимо исследовать новые средства доставки. Настоящие исследования сфокусированы на разработке и определении физических и биологических характеристик наночастиц для потенциального применения в нейтрон-захватной терапии (NCT), в том числе бор-нейтрон-захватной терапии (BNCT). Ожидается, что междисциплинарный подход в данной области позволит существенно продвинуться в разработке наноплатформ для NCT, повысив эффективность существующих агентов доставки. Конечной целью ра-

боты является создание новых NCT-агентов с улучшенной терапевтической эффективностью против рака, которые могут быть успешно переведены в класс препаратов для доклинических исследований.

Магнитные наночастицы имеют важное применение в фармацевтике и диагностике онкологических заболеваний. Более того, носители лекарств на основе магнитных наночастиц имеют определенный потенциал для улучшения доставки лекарственных средств посредством концентрирования в опухолях с помощью внешних магнитных полей. Применение магнитных наночастиц в нейтрон-захватной терапии показывает много преимуществ, поскольку отсутствуют проблемы с высвобождением лекарств по сравнению с другими системами доставки. Для иссле-



other drug delivery systems. Thus, the concept is particularly practical for NCT application. In the project, superparamagnetic  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles (NPs) were used for further modification to obtain core-shell structures. The first group of particles was modified with tetraethoxysilane (TEOS) and 3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate (TMSPM), to create C = C double bonds for further graft polymerization of biocompatible glycidyl methacrylate (GMA). Isopropyl-o-carborane was successfully immobilized on prepared NPs for potential application in boron neutron capture therapy of cancer (BNCT). The second group of nanoparticles was obtained by simultaneous immobilization of gadolinium and boron-based NCT agents onto  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles

via moderate and bio-compatible polyelectrolyte poly(acrylic acid) (PAA)/poly(allylamine) (PALAm) formation as presented in Fig. 1.

A wide range of techniques were used to measure the properties of the obtained core-shell structures, including microscopy and spectroscopy methods (SEM, TEM, SANS, DLS, X-ray diffraction, Mössbauer spectroscopy).

To understand and predict the behavior of the studied core-shell structures in the human body, biological studies of their interaction with DNA were conducted. The detected low cytotoxicity against healthy cells and a clearly higher toxic effect against cancer cells inspire some optimism about the use of these carriers in cancer therapy.

Fig. 2. PC-3 cells incubated with different concentrations of nanoparticles.

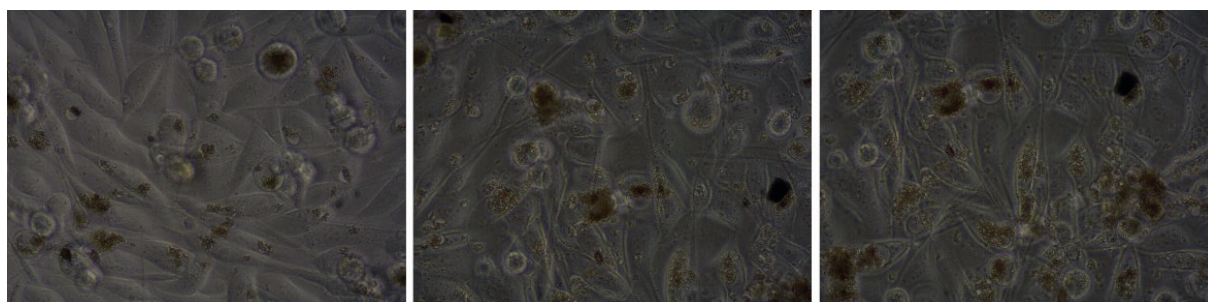


Рис. 2. Клетки PC-3, инкубированные в растворах с различными концентрациями наночастиц.

дований в ЛНФ использовались суперпарамагнитные наночастицы магнетита ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), которые модифицировались с целью получения структур типа «ядро-оболочка». Первая группа частиц была модифицирована тетраэтоксисиланом (TEOS) и 3-(триметоксисилил) пропилметакрилатом (TMSPM) для создания двойных связей C = C и дальнейшей привитой полимеризации биосовместимого глицидилметакрилата (GMA). Изопропил-о-карборан был успешно иммобилизован на подготовленные наночастицы для потенциального применения в BNCT рака. Вторая группа наночастиц была получена путем одновременной иммобилизации NCT-агентов на основе гадолиния и бора на наночастицы  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  посредством образования умеренного и биосовместимого слоя полиэлектролита поли(акрило-

вая кислота) (PAA)/поли(аллиламин) (PALAm), как показано на рис. 1.

Для измерения свойств полученных структур типа «ядро-оболочка» использовался широкий спектр методов, включая методы микроскопии и спектроскопии (SEM, TEM, SANS, DLS, рентгеновская дифракция, мессбауэровская спектроскопия).

Для понимания и прогнозирования поведения исследуемых структур в организме человека были проведены биологические исследования их взаимодействия с ДНК. Обнаруженная низкая цитотоксичность в отношении здоровых клеток и явно более высокий токсический эффект в отношении раковых клеток внушают определенный оптимизм для использования данных носителей в терапиях онкологических опухолей.

## Wastewater treatment: microorganisms against pollutant metals

Today, the level of water pollution has a serious impact on people's lives and the development of the world economy. The shortage of fresh water continues to grow in the world, while industrial and domestic water consumption has risen by almost an order of magnitude over the past century. Since ancient times, man has strived to purify water from contaminants. If thousands of years ago people used sedimentation reservoirs, sand, charcoal and plants for this purpose, nowadays they apply a variety of physicochemical methods and biotechnological processes.

For about ten years, scientists at FLNP have been conducting research in the field of environ-

mental chemistry, studying various composite sorbents and biosorbents for heavy metal removal from wastewater using the laboratory equipment and instruments. As an example, a study of the efficiency of adsorption of zinc, copper, nickel, strontium and barium in model and galvanic effluents using an inexpensive, safe and effective biosorbent — yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae* (brewer's yeast) (Fig. 1) is presented. These microorganisms are extensively used in beverage and food production and are therefore available in large quantities at a low cost as a by-product of fermentation processes.

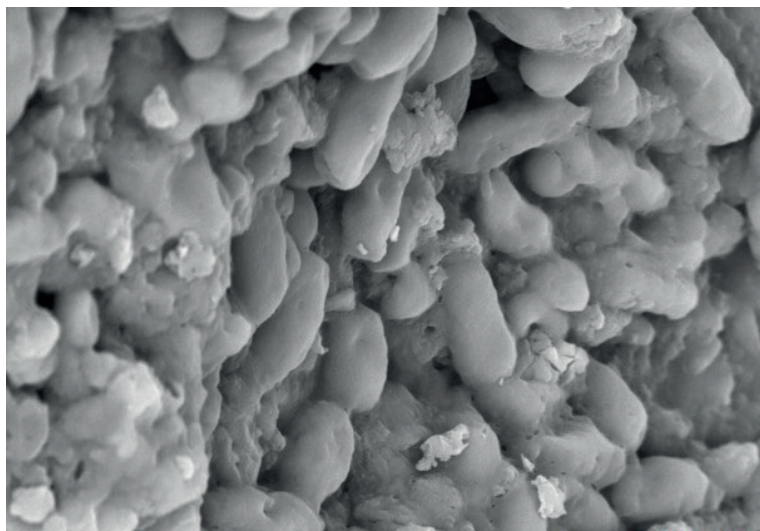
In the case of model effluents, the effect of contact time with sorbent, initial zinc concentration,

Fig. 1

Yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae*.

Рис. 1

Дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae*.



## Очистка сточных вод: микроорганизмы против металлов

Сегодня уровень загрязнения водной среды в значительной степени влияет на жизнь людей и развитие мировой экономики. В мире продолжает усиливаться дефицит пресной воды, тогда как потребление воды для производства и бытовых нужд за последнее столетие выросло почти на порядок. Очистить воду от загрязнений человек пытался еще в древности. Если тысячи лет назад для этого он использовал водоемы-отстойники, песок, древесный уголь и растения, то теперь в ход идут разнообразные физико-химические методы и биотехнологические процессы.

Ученые ЛНФ около 10 лет проводят исследования в области экологической химии, изучая

различные композитные сорбенты и биосорбенты для очистки сточных вод от тяжелых металлов и используя для этого оборудование лаборатории. В качестве примера представлена работа по эффективности поглощения цинка, меди, никеля, стронция и бария из модельных и гальванических стоков, где использовали недорогой, безопасный и эффективный биосорбент — дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* (пивоваренные дрожжи) (рис. 1). Эти микроорганизмы используют в производстве многочисленных продуктов питания и напитков, поэтому они доступны в больших количествах и по низкой цене как отходы процессов ферментации.

temperature, and pH on metal biosorption was evaluated. In 15–45 min required for effective metal removal, and at optimal pH values of 3.0–6.0, it is possible to purify synthetic wastewaters by 45–100% (depending on the metal). The main mechanisms of metal removal from solution are surface adsorption, chemisorption, and ion exchange.

For galvanic industrial effluents, the effect of pH and biosorbent concentration on the process of heavy metal removal was studied. At a biosorbent concentration of 10 g/L, by changing pH, it was possible to reduce the concentration of copper, barium, strontium and nickel ions below the maximum permissible level. The maximum efficiency for removal of Zn ions was achieved in two stages (first, by

adding the biosorbent at a dosage of 20 g/L, and then adding 10 g/L of yeast biomass to the effluent obtained after the first stage of purification) at pH 6.0 and contact time of 60 min. The additional treatment to remove zinc ions was necessitated by a higher concentration of this metal compared to other contaminants (Fig. 2).

Thus, it has been shown that the yeast *Saccharomyces cerevisiae* is a promising candidate for treatment of complex industrial effluents. As noted in the study [1], biological sorbents that cannot be regenerated after several cycles of industrial wastewater treatment can be used as additives for road construction materials.

Fig. 2. Two-step scheme of zinc ion removal from industrial effluents.

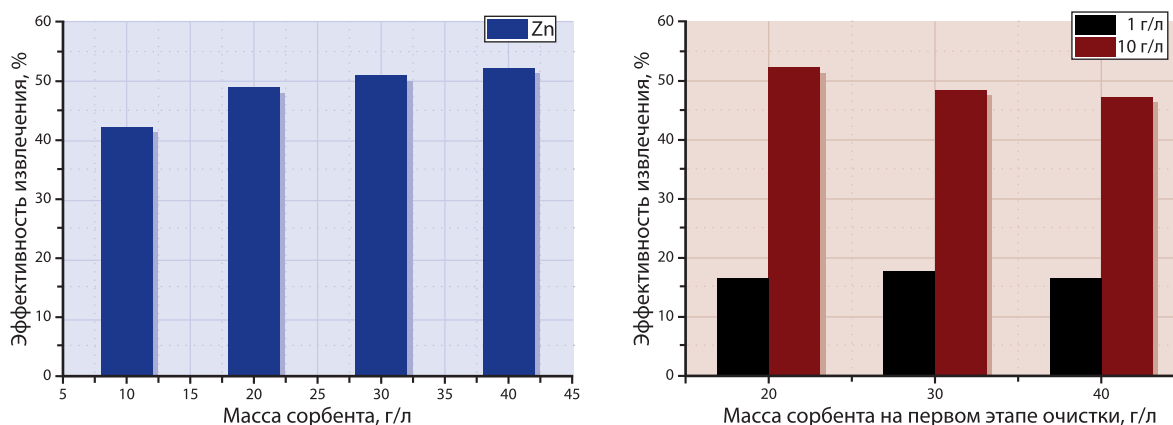


Рис. 2. Двухступенчатая схема извлечения ионов цинка из промышленного стока.

Было оценено влияние времени контакта с биосорбентом, начальной концентрации цинка, температуры и водородного показателя (pH) на биосорбцию в модельных стоках. За 15–45 минут, необходимых для эффективного удаления металлов, и при оптимальных значениях pH 3,0–6,0 удается очистить модельные стоки на 45–100 процентов в зависимости от металла. Основными механизмами удаления металлов из раствора являются поверхностная адсорбция, хемосорбция и ионный обмен.

Было изучено влияние значения pH и концентрации биосорбента на процесс удаления тяжелых металлов из гальванического промышленного стока. При концентрации биосорбента 10 грамм на литр, меняя pH, удалось снизить содержание ионов меди, бария, стронция и никеля ниже предельно допустимого уровня. Эффектив-

но очистить воду от ионов цинка удалось в два этапа в течение часа при pH 6,0: сначала добавляя биосорбент в дозировке 20 грамм на литр, затем 10 грамм на литр к стоку, прошедшему первый этап очистки. Дополнительные шаги для удаления ионов цинка обусловлены повышенным содержанием этого металла по сравнению с остальными загрязнителями (рис. 2).

Таким образом, было показано, что дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются перспективным кандидатом для очистки сложных промышленных стоков. Как отмечено в исследовании [1], биологические сорбенты, которые не подлежат регенерации после нескольких циклов очистки промышленных стоков, можно использовать в качестве добавок для материалов дорожного строительства.

## Biological plant protection products: new delivery systems

A stable trend in the development of plant protection products (PPP) is “biologization”, i. e. the creation of biological PPPs based on biomolecules of living organisms or their producers. A promising approach in this field is the use of RNA interference, in particular, in the SIGS (spray induced gene silencing) variant, when RNA interference “agents” (dsRNA) are delivered to the surface of plant leaves in the form of a spray. As promising delivery systems, various scientific groups are trying chitosan nanoparticles, nanoscale structures based on layered double hydroxides (LDH), bentonite, etc.

Scientists from the Chair of Polymer and Crystal Physics, Faculty of Physics, M. V. Lomonosov Moscow State University, together with their colleagues

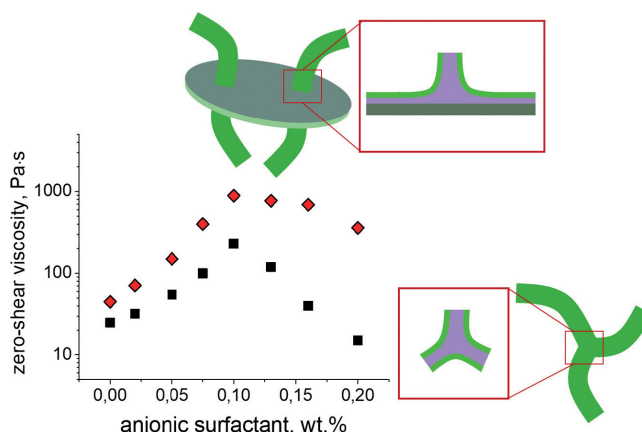
from FLNP JINR within the framework of long-term cooperation, carry out structural investigations of smart soft materials based on polymer macromolecules, surfactants and colloidal particles. One of their recently published papers [1] is devoted to hydrogels based on micellar chains of surfactants and colloidal particles capable of reversibly transitioning from the state of an elastic body to a state of a low-viscosity liquid due to the destruction and recovery of the structure. The reason for this unusual effect is that the components of the system in water environment are assembled into long chains, forming a three-dimensional network structure through physical rather than chemical interactions. They are strong enough for the system to have elastic prop-

Fig. 1

Schematic representation of the formation of branched wormlike micelle (WLM) with low zero-shear viscosity (bottom) and elastic WLM-nanoclay junction (top).

Рис. 1

Схематическое изображение образования разветвленной червеобразной мицеллы (ЧОМ) с низкой вязкостью (внизу) и упругое соединение ЧОМ-наноглина (вверху).



## Биосредства защиты растений: новые средства доставки

Устойчивый тренд в развитии средств защиты растений (СЗР) — «биологизация»: создание биологических СЗР, на основе биомолекул живых организмов или их продуцентов. Многообещающим подходом является использование РНК-интерференции, в частности — в варианте SIGS (spray induced gene silencing), когда «агенты» РНК-интерференции (дцРНК) доставляются на поверхность листьев растений в составе спрея. В качестве перспективных систем доставки различные научные группы пробуют наночастицы хитозана, наноразмерные структуры на основе слоистых двойных гидроксидов (LDH), бентонит и т. п.

Ученые кафедры физики полимеров и кристаллов физического факультета МГУ совместно с коллегами из ЛНФ ОИЯИ в рамках многолет-

него сотрудничества проводят структурные исследования умных мягких материалов на основе полимерных макромолекул, поверхностно-активных веществ и коллоидных частиц. Одна из их недавно опубликованных работ [1] посвящена гидрогелям на основе мицеллярных цепей поверхностно-активных веществ и коллоидных частиц, способных обратимо переходить из состояния упругого тела в состояние низковязкой жидкости благодаря разрушению и восстановлению структуры. Причина данного необычного эффекта в том, что компоненты системы в водной среде собираются в длинные цепи, образующие трехмерную сетчатую структуру за счет физических, а не химических взаимодействий. Они достаточно прочные, чтобы система обладала

erties, but under external influence, chains several tens of micrometers long can be divided into thousands of pieces, so the network structure will be destroyed. The advantage of smart systems is the complete reversibility of these transitions. These hydrogels filled with clay nanoplates can be used as nanocontainers for targeted delivery of agents.

The research results have already attracted the attention of BPPP developers: "Our company, the International Laboratory "Resistom", a resident of the Skolkovo Innovation Center, is developing a new generation of plant protection products. One of the key tasks is to improve the delivery efficiency of the developed target RNA complexes. We are following with interest the results of the group of scientists from the Faculty of Physics of Moscow State University, who are studying various options for potential

delivery systems for RNA molecules. Structural methods, including neutron scattering, prove to be useful for establishing the relationship between structural and functional properties, which opens up opportunities for developing a new class of biomolecular drugs and their use in the agro-industrial complex," A. A. Chuenko, founder of the DokaGene group of companies.

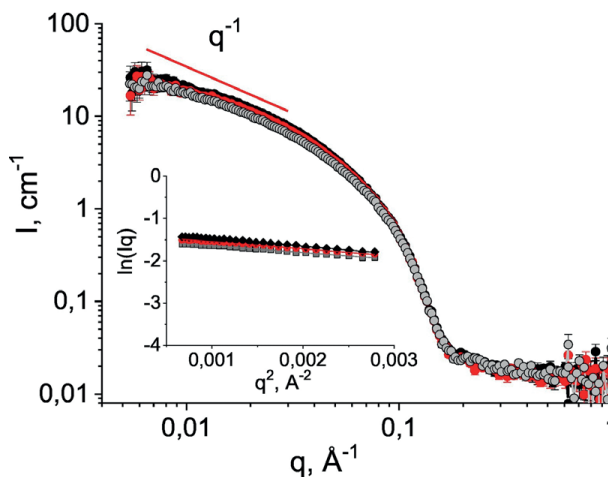
"Neutron methods occupy an important place in the arsenal of structural methods that we use in soft matter research. They allow us to get information about the size, shape of the structural elements of the sample, as well as on the emergence of internal order. Moreover, in some cases these data can be obtained for a sample in its initial state," V. S. Molchanov, Chair of Polymer and Crystal Physics, Faculty of Physics, MSU.

Fig. 2

SANS scattering curves for some of the studied samples. The inset represents the analysis proving the cylindrical local shape of the scatterers.

Рис. 2

Экспериментальные кривые рассеяния МУРН для некоторых образцов. График на вставке представляет анализ, демонстрирующий цилиндрический тип локальной формы исследуемых объектов.



упругими свойствами, но при внешнем воздействии цепи длиной в несколько десятков микрометров могут быть разделены на тысячи кусочков, поэтому сетчатая структура будет разрушена. Преимущество интеллектуальных систем в полной обратимости таких переходов. Разработанные гидрогели, наполненные нанопластинами глины, могут быть использованы как наноконтейнеры для направленной доставки веществ.

Результаты исследований уже привлекли к себе внимание разработчиков БСЗР: «Наша компания «Международная Лаборатория «Резистом», резидент Инновационного центра «Сколково», разрабатывает средства защиты растений нового поколения. Одной из ключевых задач является повышение эффективности доставки создаваемых целевых РНК-комплексов. Мы с интересом следим за результатами группы ученых физического факультета МГУ, занимающихся ис-

следованием различных вариантов потенциальных средств доставки молекул РНК. Структурные методы, в том числе нейтронное рассеяние, оказываются полезными для установления связей «структура — функциональные свойства», что открывает возможности для создания нового класса биомолекулярных препаратов и их использования в агропромышленном комплексе», — А. А. Чуенко, учредитель группы компаний «ДоккаДжин».

«Нейтронные методы исследования занимают важное место в арсенале используемых нами структурных методов в области soft matter. Они позволяют извлечь информацию о размерах, форме составляющих образец структурных элементов, о возникновении внутреннего порядка. Причем в ряде случаев это удастся сделать для образца в его исходном состоянии», — В. С. Молчанов, каф. полимеров, физ. ф-т, МГУ.

## Drug compounds of magnetic nanoparticles with proteins

Lactate dehydrogenase (LDH) inhibitors offer promising prospects in the treatment of oncological diseases, and LDH biocomposites with magnetic nanoparticles have significant potential for the development of new drug compounds. Human serum albumin (HSA) is an important protein component in the transport of blood plasma, in addition to being a crucial biomarker of many diseases, including cancer, Alzheimer's, etc., so the HSA - magnetic particle compounds play a significant role in the development of targeted drug delivery systems. Human serum transferrin (HST) is a glycoprotein involved in iron transport that may be a candidate for functionalized nanoparticles to bind and target cancer cells.

Iron oxide nanoparticles are used in a wide range of applications: biosensors, fluorescent labeling of substrates, cardioprotection, tumor tissue targeting, and inhibition of tumor cell growth, drug delivery and magnetic hyperthermia treatment. Iron oxides and ferrihydrite (Fh), chemically synthesized as nanoparticles at the Krasnoyarsk Scientific Center, are investigated at FLNP from the point of view of their interaction with proteins.

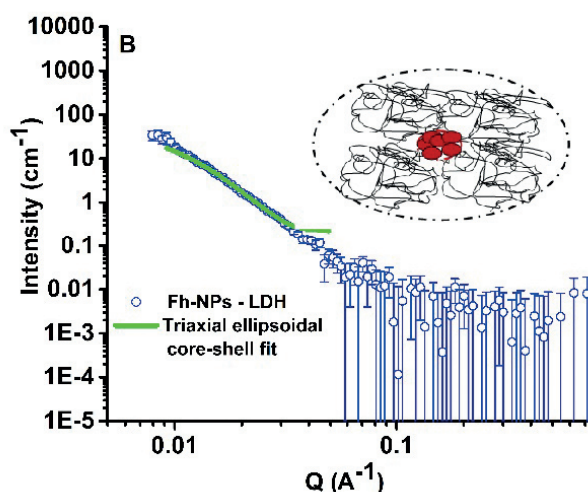
The investigations of the binding mechanism between ferrihydrite nanoparticles (Fh-NPs), simple and doped with Co and Cu, and LDH, HSA and HST, respectively, and denaturation of LDH, HSA and HST in the presence of Fh-NPs were carried out by

Fig. 1

Experimental and fitting small-angle neutron scattering curves of Fh-NPs - LDH system in suspension.

Рис. 1

Экспериментальные и аппроксимирующая кривые малоуглового рассеяния нейтронов системы Fh-NPs - LDH в суспензии.



## Лекарственные комплексы магнитных наночастиц с белками

Ингибиторы лактатдегидрогеназы (LDH) открывают многообещающие перспективы в лечении онкологических заболеваний, а биоконпозиты LDH с магнитными наночастицами имеют значительный потенциал для разработки новых лекарственных комплексов. Так, белок сывороточный альбумин человека (HSA) является важным транспортным компонентом в плазме крови, а также используется как биомаркер многих заболеваний, включая рак, болезнь Альцгеймера и др. Создание комплексов магнитных наночастиц с HSA представляется важной задачей в развитии систем адресной доставки лекарств. Трансферрин сыворотки человека (HST) представляет собой гликопротеин, участвующий в транспорте железа, который может быть кандидатом на функционализированные наночастицы для свя-

зывания и нацеливания на раковые клетки.

Хорошо известно, что наночастицы (NPs) оксида железа используются в широком диапазоне применений: биосенсоры, флуоресцентное маркирование субстратов, кардиозащита, таргетирование опухолевых тканей и ингибирование роста опухолевых клеток, доставка лекарств и лечение посредством магнитогипертермии. Оксиды железа и ферригидрит (Fh), синтезированные в Федеральном исследовательском центре «Красноярский научный центр СО РАН» в виде наночастиц, изучаются в ЛНФ в отношении их взаимодействия с белками.

Исследования механизма связывания наночастиц ферригидрита (Fh-NPs), простых и легированных атомами Co и Cu, с LDH, HSA и HST, а также денатурации LDH, HSA и HST в присутствии

scientists from the University of Bucharest, IFIN-HH and JINR (FLNP, FLNR and VBLHEP).

For the first time, the mechanism of interaction of ferrihydrite nanoparticle with LDH from rabbit muscle was studied and reported, by combining *in vitro* biophysical experiments and structural investigations with docking-based virtual screening.

The formation and organization of HSA molecules around simple Fh-NPs and Fh-NPs doped with Co and Cu were examined by SEM and AFM in terms of morphology and particle size. The topology of all Fh-NPs shows an organized area of HSA around each type of Fh-NPs. The molecular docking studies show that ferrihydrite binds, with low affinity, in close proximity to the metal binding site of HSA, which is located in subdomains IIA and IIIA. Thermal denaturation of HSA alone and in the corona

around Fh-NPs produces the aggregation of HSA molecules. The HSA transition temperature is almost the same for all types of Fh-NPs from the hybrid samples with HSA, except for HSA-Co-Fh-NPs sample. Simple Fh-NPs most of all the studied nanoparticles bound to HST at a specific binding site. Denaturation of HST was found to be an endothermic process in the presence of all three types of Fh-NPs. Molecular docking studies revealed that Fh binds with a low affinity to HST.

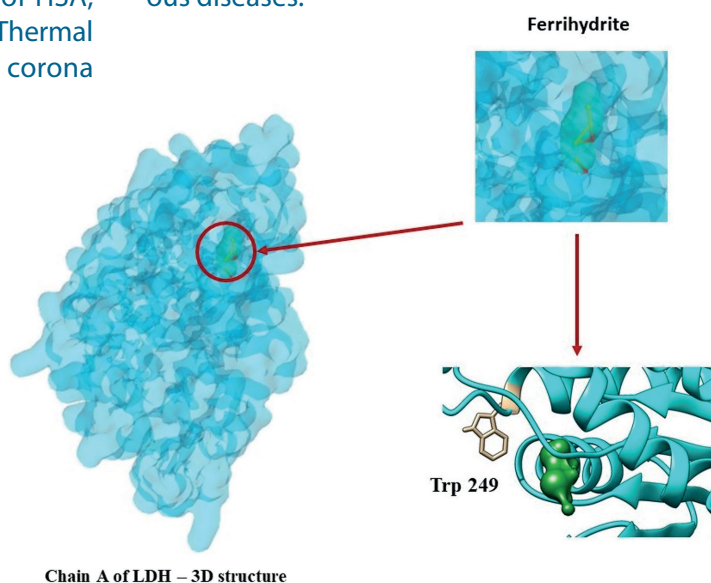
The biophysical effects of Fh-NPs - protein composites are the first steps in their use in biological and medical applications and the development of new drugs for the therapy and diagnosis of various diseases.

Fig. 2

Virtual screening and docking results or the best binding of ferrihydrite to LDH.

Рис. 2

Результаты виртуального скрининга и стыковки для наилучшего связывания ферригидрита с LDH.



Chain A of LDH – 3D structure

наночастиц ферригидрита были проведены учеными Бухарестского университета, Национального института физики и ядерной инженерии имени Хории Хулубея и Объединенного института ядерных исследований (ЛНФ, ЛЯР, ЛФВЭ).

Впервые представлены данные о механизме взаимодействия наночастиц ферригидрита с LDH из мышц кролика путем объединения биофизических экспериментов *in vitro* и структурных исследований с виртуальным скринингом на основе докинга (DBVS).

Образование и организация молекул HSA вокруг простых Fh-NPs и Fh-NPs, допированных Co и Cu, были изучены с помощью сканирующей электронной микроскопии и атомно-силовой микроскопии в отношении морфологии и размера частиц. Топология всех Fh-NPs показывает организованную оболочку HSA вокруг каждого типа Fh-NPs. Молекулярный докинг показывает, что ферригидрит с низкой афинностью связывается в непосредственной близости от участка связы-

вания металла с HSA, который расположен в субдоменах IIA и IIIA. Термическая денатурация HSA как в одиночном состоянии, так и в короне HSA вокруг Fh-NPs вызывает агрегацию молекул HSA. Температура перехода HSA практически одинакова для всех типов Fh-NPs из гибридных образцов с HSA за исключением образца HSA-Co-Fh-NPs. Простые Fh-NPs, больше всего из всех исследуемых наночастиц, связывались с HST в специфической области связывания. Было обнаружено, что денатурация HST является эндотермической в присутствии всех трех типов Fh-NPs. Исследования молекулярного докинга показали слабую аффинность Fh к HST.

Рассмотренные биофизические эффекты взаимодействия магнитных наночастиц с белками — это первый шаг в их использовании рассмотренных комплексов в биологических и медицинских приложениях и разработке соответствующих лекарственных средств для терапии и диагностики различных заболеваний.

[2] Chilom C. G., et al., Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 9734. doi:10.3390/ijms21249734

[3] Chilom G. G., et al., Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 7034. doi:10.3390/ijms22137034

## NAA helps in assessing the safety of seafood

In recent decades, the interest of scientists has been focused on the ability of molluscs, including mussels, to accumulate micro- and macroelements from water in coastal areas of the world ocean. Using nuclear physics methods, it is possible to determine the concentration of elements in the shells and soft tissues of molluscs (Fig. 1). There are many biomonitoring research projects aimed at developing recommendations for the cultivation of molluscs and setting limits on the levels of pollutants that can affect human health when using mussel meat as food.

In this context, a study was carried out to assess, using neutron activation analysis, the levels of 26 macro- and microelements in the soft tissues of mussels along the entire coast of South Africa, both in clean zones with natural and farm-raised molluscs, in the mouths of large rivers, carrying a lot of suspended materials, and in large ports. It was found that native mussels (*Choromytilus meridionalis*) on the west coast usually have higher levels of manganese and selenium, while cosmopolitan species (*Mytilus galloprovincialis*) contain higher concentrations of zinc and selenium.

Fig. 1  
Mussels *Mytilus galloprovincialis*.

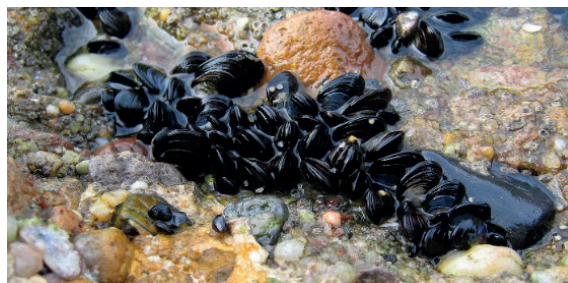


Рис. 1  
Мидии *Mytilus galloprovincialis*.



## НАА помогает оценить безопасность морепродуктов

В последние десятилетия интерес ученых был прикован к способности моллюсков, в том числе мидий, накапливать микро- и макроэлементы из воды в прибрежных районах мирового океана. С помощью ядерно-физических методов возможно определить концентрации элементов в раковинах и мягких тканях моллюсков (рис. 1). Существует много исследовательских проектов биомониторинга, направленных на выработку рекомендаций по выращиванию моллюсков и установление ограничений по уровням загрязняющих веществ, способных повлиять на здоровье человека при использовании в пищу мяса мидий.

В этом ключе была проведена работа по оценке с помощью нейтронного активационного анализа (НАА) уровней 26 макро- и микроэлементов в мягких тканях мидий вдоль всего побережья Южной Африки, как в чистых зонах с моллюсками природного происхождения, так и в выращиваемых на фермах, в устьях крупных рек, выносящих много взвешенного материала и в крупных портах. Было установлено, что в местных мидиях (*Choromytilus meridionalis*) на западном побережье обычно выше содержание марганца и селена, тогда как в виде-космополите (*Mytilus galloprovincialis*) — содержание цинка и селена.



For elements such as sodium, aluminum, chlorine, chromium, manganese, iron, cobalt, nickel, zinc, arsenic, selenium, strontium, antimony, bromine, iodine and uranium, there are established WHO standards calculated for their consumption with food on average for person per day, exceeding which may cause irreversible human health impairment. According to the estimated concentrations in the meat of local mussels along the entire coast of South Africa, with the consumption of 300 grams of mussels per week per person, it is possible to exceed these standards for aluminum, arsenic and iodine. Thus, as a result of the constant consumption of mussels for food, the health of population living in the densely populated port city of Durban in the

east of South Africa, as well as in the port of Cape Town (West Coast of South Africa) is under threat. It was determined that other potentially hazardous elements are chromium, arsenic, cobalt and zinc, the content of which exceeds the maximum permissible concentration (MPC) and has high values of the target hazard quotient (THQ) (Fig. 2). High concentrations of these elements in food can lead to irreversible effects associated with cancer (arsenic) and cardiovascular (chromium) diseases, hyperthyroidism (iodine), polycythemia (cobalt), hydronephrosis (aluminum). Thus, if a person consumes more than 10 mussels a day in the studied region for a considerable time, this may entail serious health hazards.

Fig. 2. Risk quotients for the best, median and worst-case scenarios for Al, Cr, Fe and As when consuming mussel tissues (wet weight basis) based on the provisional tolerable weekly intake (PTWI). Red and blue line correspond to 1.0 and 0.2 of RQ, respectively.

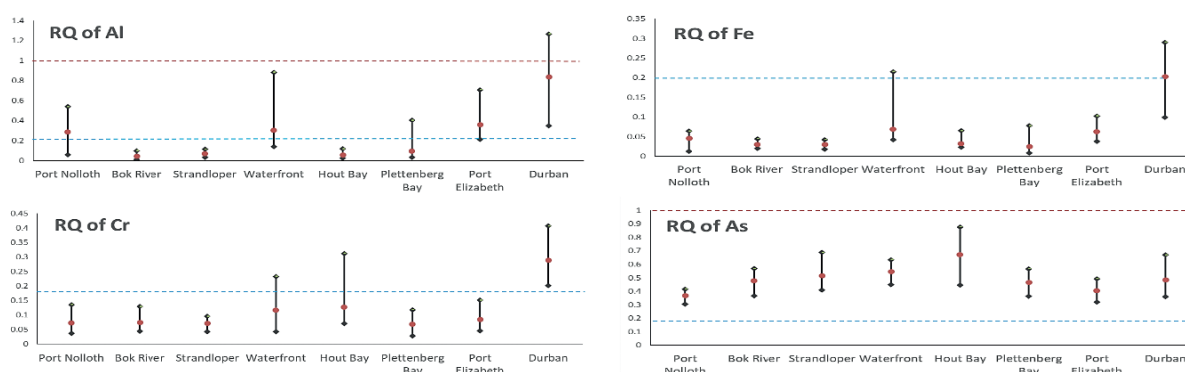


Рис. 2. Коэффициенты риска (RQ) для наилучшего, среднего и наихудшего сценариев для Al, Cr, Fe и As при потреблении мяса мидий (на основе сырого веса) на основе временного допустимого недельного потребления (PTWI). Красная и синяя линии соответствуют 1,0 и 0,2 RQ соответственно.

Для таких элементов, как натрий, алюминий, хлор, хром, марганец, железо, кобальт, никель, цинк, мышьяк, селен, стронций, сурьма, бром, йод и уран, существуют установленные нормативы ВОЗ, рассчитанные по потреблению их вместе с едой в среднем на человека в сутки, при превышении которых возможно необратимое ухудшение здоровья человека. По оцененным концентрациям в мясе местных мидий вдоль всего побережья Южной Африки, при уровне потребления в 300 грамм мидий в неделю на человека, возможно превышение таких нормативов по алюминию, мышьяку и йоду. Таким образом, в результате постоянного употребления мидий в пищу здоровье людей, проживающих в густонаселенном портовом городе Дурбан на востоке

ЮАР, а также порте г. Кейптаун (Западное побережье ЮАР), находится под угрозой. Было определено, что другими потенциально опасными элементами являются хром, кобальт и цинк, содержание которых превышает предельно допустимые концентрации (ПДК) и имеет высокие целевые индексы опасности (ТНҚ) (рис. 2). Высокое содержание данных элементов в пище может привести к необратимым эффектам, связанным с онкологическими (мышьяк) и сердечно-сосудистыми (хром) заболеваниями, гипертиреозу (йод), полицитемии (кобальт), гидронефрозу (алюминий). Таким образом, если человек в изучаемом регионе потребляет более 10 мидий в день на протяжении длительного времени, он рискует своим здоровьем.

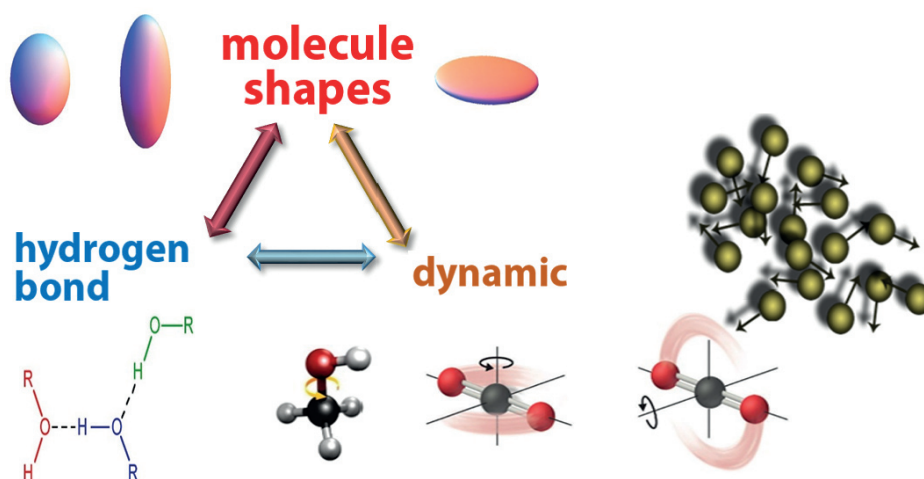
## Inelastic scattering helps to optimize an antiepileptic drug

At present, at FLNP, Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) of various drugs (among other molecular materials) are under research. One of these drugs is ethosuximide (ETX), a substance actively used in medical practice for the treatment of epilepsy, neuropathic pain, mood disorder and various neuromuscular syndromes. This compound exists in two isomeric forms, namely two enantiomers. Crystal polymorphism (the existence of more than one crystal structure) occurs frequently in organic compounds, including APIs. These crystal forms may vary in important aspects of drug action, such

as solubility, stability, efficacy, bioavailability, and even toxicity. Thus, the issue of isomerism among APIs is important both from a fundamental and applied point of view. Many APIs that possess enantiomeric isomers are manufactured and administered as racemic mixtures (equimolar mixtures of R and S enantiomers), ETX being an example. Two enantiomers of the same API have similar physico-chemical characteristics, but differ in their biological effects. Enantiomers react in biological systems stereoselectively. But distribution and metabolism usually favour one enantiomer over the other. In ad-

Fig. 1  
Dynamic properties of glass of disordered phases.

Рис. 1  
Динамические свойства стекла неупорядоченных фаз.



## Неупругое рассеяние в оптимизации препарата против эпилепсии

В настоящее время в ЛНФ среди различных молекулярных материалов исследуются активные фармацевтические ингредиенты (АФИ) различных лекарств. Примером таких препаратов является этосуксимид (ЭТС) — вещество, активно применяемое в медицинской практике для лечения эпилепсии, включая подавление нейропатических болей, расстройств настроения и различных нервно-мышечных синдромов. Это соединение существует в двух изомерных формах — энантиомерах. Кристаллический полиморфизм (существование более чем одной кристаллической структуры) часто встречается в органи-

ческих соединениях, включая АФИ. Эти кристаллические формы могут различаться по важным аспектам действия лекарства, таким как растворимость, стабильность, эффективность, биодоступность и даже токсичность. Таким образом, проблема изомерии АФИ важна как с фундаментальной, так и с прикладной точек зрения. Многие АФИ, которые содержат энантиомерные изомеры, производятся и вводятся в организм в виде рацемических смесей (эквимольярные смеси энантиомеров типа R и S), например, ЭТС. Два энантиомера одного и того же АФИ имеют сходные физико-химические характеристики, но раз-

dition, due to the different pharmacological activity, enantiomers of a chiral drug may differ in toxicity. Thus, it is very important to learn about the properties of individual isomers. The R-ETX is non-toxic and ETX is distributed as an equimolar mixture of R and S enantiomers.

The knowledge of polymorphism and crystal behaviour of any pharmaceutically essential materials is highly required, especially before the API dispersed in a suitable solid excipient would form any tablet. The analysis of vibrational dynamics deduced from the density of states  $G(\nu)$ , derived from inelastic neutron scattering spectra is crucial for application reasons. Such experiments are performed on the NERA spectrometer, particularly sensitive to

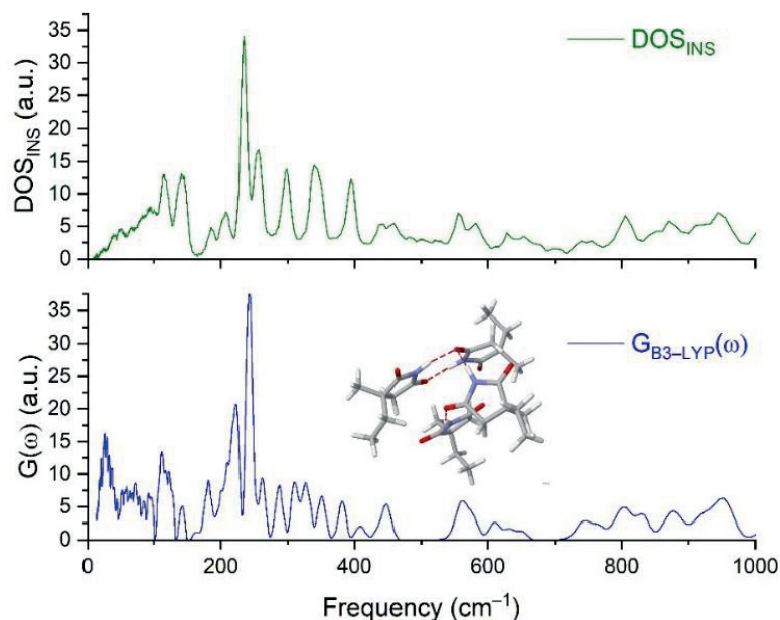
low-frequency vibrations and capable of providing the desired sample environment conditions. The dynamic range in the  $(Q, \omega)$  space of neutron scattering available on the NERA spectrometer allows the characterization of the vibrational dynamics of individual conformers, conformational changes and intermolecular motions. Due to the exceptional sensitivity of the method to proton motions, hydrogen bonds of N-H...N and N-H...O types and torsional motions of protons from functional groups, for example, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, CH (from imide ring in ETX) and N-H can be well described. The figure shows an example of phonon state density spectrum for potential cryoprotectants obtained on the NERA.

Fig. 2

Comparison of experimental and calculated spectra of ETX.

Рис. 2

Сравнение экспериментальных и расчетных спектров ЭТС.



личаются по своим биологическим эффектам. Энантиомеры реагируют в биологических системах стереоселективно. Но распределение и метаболизм обычно предпочитают один энантиомер другому. Кроме того, из-за разной фармакологической активности энантиомеры кирального лекарства могут различаться по токсичности. Таким образом, очень важно знать свойства отдельных изомеров.

До того как АФИ помещается в наполнитель таблетки, крайне необходимо понимать структурное поведение кристаллов данных соединений. Анализ колебательной динамики на основе функции плотности состояний  $G(\nu)$ , полученной из спектров неупругого рассеяния нейтронов, имеет решающее значение в данном вопросе. В ЛНФ такого рода эксперименты проводятся на

спектрометре НЕРА, реактор ИБР-2, особенно чувствительном к низкочастотным колебаниям, в широком диапазоне температур. Динамический диапазон в пространстве  $(Q, \omega)$  в эксперименте по рассеянию нейтронов, доступный на спектрометре НЕРА, позволяет охарактеризовать колебательную динамику отдельных конформеров, конформационные изменения и межмолекулярные движения. Исключительная чувствительность метода к движениям протонов позволяет хорошо описать водородные связи типов N-H...N и N-H...O, а также крутильные движения протонов функциональных групп, например, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, CH (из имидного кольца в ЭТС) и N-H. На рисунке показан пример спектра плотности фононных состояний потенциальных криопротекторов, полученного на спектрометре НЕРА.

## Is there a macro impact of nanoparticles on plants?

The neutron activation analysis method proved that a multielemental approach can provide valuable information on the effect of CuO nanoparticles obtained by chemical and biogenic methods on plants, in particular on wheat. Over the past decades, metal oxide nanoparticles (NPs) have been widely used as industrial catalysts, chemical sensing devices, in medical applications, disinfection, as antimicrobial agents, fillers, opacifiers, catalysts, semiconductors, as well as in the development of cosmetics and microelectronics. The widespread use of NPs in various fields leads to their release into the environment.

Copper oxide NPs have attracted attention mainly because, due to their antimicrobial and biocidal properties, they can have a variety of biomedical and agricultural applications. In addition, Cu is a trace element present in plants in various amounts. The intensive use of NPs is causing growing concern about their interaction with the flora due to the significant toxic effects that may occur. Due to their physiological and morphological properties, plants can have different capacities of interacting with NPs.

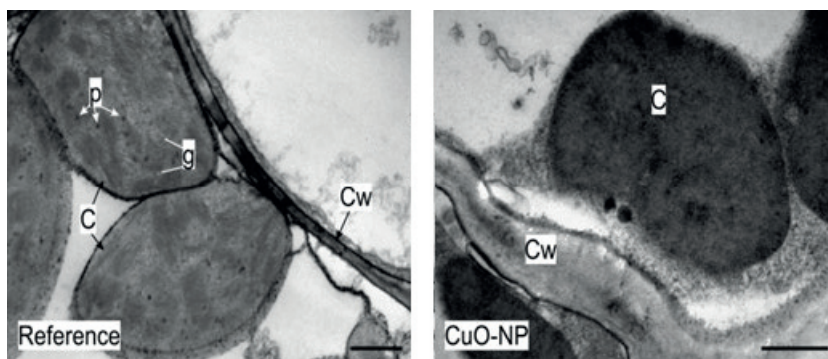
Recently, there has been an increased interest in NPs obtained by green synthesis, including those

Fig. 1

TEM micrographs showing the ultrastructure of the wheat leaves; C – chloroplast, Cw – cell wall, g – grana, p – plastoglobule.

Рис. 1

Микрофотографии ПЭМ, показывающие ультраструктуру листьев пшеницы; C – хлоропласты, Cw – клеточная стенка, g – граны, p – пластоглобулы.



## Существует ли макровоздействие наночастиц на растения?

Метод нейтронно-активационного анализа доказал, что мультиэлементный подход может дать ценную информацию о влиянии наночастиц CuO, полученных химическими и биогенными методами, на растения, в частности на пшеницу. В течение последних десятилетий наночастицы (НЧ) оксидов металлов широко используются в качестве промышленных катализаторов, химических сенсорных устройств, в медицине, дезинфекции, в качестве противомикробных средств, наполнителей, замутнителей, катализаторов, полупроводников, а также в разработке косметики и микроэлектроники. Широкое применение НЧ в различных областях приводит к их выбросу в окружающую среду.

НЧ оксида меди привлекли внимание главным образом потому, что благодаря своим анти-

микробным и биоцидным свойствам они могут иметь множество биомедицинских и сельскохозяйственных применений. Кроме того, Cu — это микроэлемент, присутствующий в растениях в различных количествах. Из-за интенсивного использования НЧ растет беспокойство по поводу их взаимодействия с флорой из-за значительных токсических эффектов, которые могут возникнуть. Благодаря своим физиологическим и морфологическим свойствам растения могут обладать различной способностью поглощать НЧ.

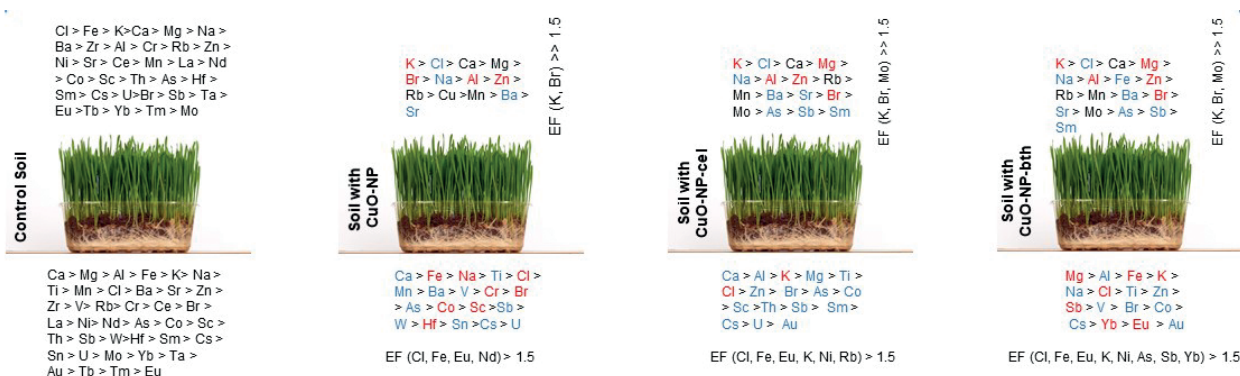
В последнее время возрос интерес к НЧ, полученным путем зеленого синтеза, в том числе к тем, которые используют экстракты растений, а это означает, что изучение их токсичности также становится очень важным. Поэтому с экологической точки зрения понимание токсичности НЧ

in which plant extracts are used, which means that the study of their toxicity is also becoming very important. Therefore, from an environmental point of view, understanding the toxicity of CuO NPs and their impact on environmentally significant plant species is of great importance. Bioactive compounds in plants are compounds produced by plants that have pharmacological or toxicological effects on humans and animals, therefore it is important to understand the effect of CuO on these compounds, as well as on the ultrastructure of the plant.

Analyzing plants exposed to NPs obtained by chemical and biogenic methods, by adding them into the soil, it was found that the amount of chlorophyll and carotenoids decreased, while the amount of polyphenols and antioxidant capacity increased compared to the control group. As for bioactive

compounds, plants grown in the presence of CuO NP obtained with a solution of celandine extract suffered the most. In addition, ultrastructural analysis showed that some changes occurred in the leaves of the treated plants compared to the control. All wheat samples exposed to chemical or biogenic CuO NPs showed changes in the accumulation of elements in plant tissues. Soil amending completely inhibited the accumulation of some elements, regardless of the type of NPs applied. Exposure to chemically obtained CuO NPs led to a more obvious alteration of the element profile in comparison to the control and biogenic CuO NPs.

Taking into account the results obtained, it can be concluded that CuO NPs have a negative effect on the ultrastructure of wheat plants, which can affect the level of yield and product quality.



CuO и их воздействия на экологически значимые виды растений имеет большое значение. Биоактивные соединения в растениях — это соединения, вырабатываемые растениями, которые оказывают фармакологическое или токсикологическое действие на людей и животных, поэтому важно понимать влияние различных типов CuO на эти соединения, а также на ультраструктуру растения.

При анализе растений, подвергшихся воздействию НЧ, полученных химическими и биогенными методами, путем добавления их в почву, было обнаружено, что количество хлорофилла и каротиноидов уменьшилось, а количество полифенолов и антиоксидантная способность увеличились по сравнению с контрольной группой. Что касается биологически активных соединений, больше всего пострадали растения, выращенные в присутствии НЧ CuO, полученных с

раствором чистотела. Кроме того, ультраструктурный анализ показал, что в листьях обработанных растений произошли некоторые изменения по сравнению с контрольными. Все образцы пшеницы, подвергшиеся воздействию химических или биогенных НЧ CuO, показали изменения в накоплении элементов в тканях растений. Внесение изменений в почву полностью подавляло накопление некоторых элементов, независимо от типа применяемых НЧ. Воздействие химически полученных НЧ CuO привело к более очевидному изменению профиля элемента по сравнению с контрольными и биогенными НЧ CuO.

Принимая во внимание полученные результаты, можно сделать вывод о негативном влиянии НЧ CuO на ультраструктуру растений пшеницы, что может отражаться на уровне урожайности и качестве продукции.

## Table of contents

## Содержание

2	Kučerka N. <sup>1,2</sup>	Neutrons in search of origins of Alzheimer's disease	Нейтроны в поиске первопричин болезни Альцгеймера
4	Soloviov D.V. <sup>1,3,4</sup>	Dynamics of cell membranes determines their biological function	Динамика мембран определяет их биологическую функцию
6	Ermakova E.V. <sup>1</sup>	Skin health is predetermined by <i>Stratum corneum</i> lipid matrix	Здоровье кожи предопределено матрицей <i>Stratum corneum</i>
8	Kurakin S.A. <sup>1,5</sup>	Cell membranes in the ion environment	Клеточные мембраны в окружении ионов
10	Gorshkova Yu.E. <sup>1,5</sup>	Neutron scattering helps in developing burn wound dressings	Нейтронное рассеяние помогает создать раневые повязки
12	Ryzykau Yu.L. <sup>1,4</sup>	Neutrons reveal the superstructure of signaling systems in nature	Нейтроны раскрывают суперструктуру сигнальных систем
14	Avdeev M.V. <sup>1</sup>	Biological activity of fullerenes and anticancer therapies	Биоактивность фуллеренов и противоопухолевые терапии
16	Ivankov A.I. <sup>1,3</sup>	Supramolecular organization of visual pigment rhodopsin	Супрамолекулярная организация зрительного пигмента родопсина
18	Gorshkova Yu.E. <sup>1,5</sup>	The problem of antibiotic resistance and innovative biocomposites	Антибиотикорезистентность и инновационные биокompозиты
20	Vorobyeva M.Yu. <sup>1</sup>	Biosensing: ultrasensitive detection of organic molecules	Биосенсорика: ультрачувствительное обнаружение молекул
22	Murugova T.N. <sup>1</sup>	Study of the structure of "live" functioning mitochondria	Исследование структуры «живых» митохондрий
24	Avdeev M.V. <sup>1</sup>	Nanoparticles fighting amyloids: under scrutiny of neutrons	Наночастицы против амилоидов: под контролем нейтронов
26	Arzumanyan G.M. <sup>1</sup>	Photoaging and biomarker of NETosis	Фотостарение и биомаркер нетоза
28	Kopach Yu.N. <sup>1</sup>	Neutron technologies for carbon test sites	Нейтронные технологии для карбоновых полигонов
30	Frontasyeva M.V. <sup>1</sup>	Assessment of heavy metal deposition by moss monitoring	Оценка осаждения тяжелых металлов методом мхов-мониторов
32	Jażdżewska M. <sup>1,6</sup>	Carbon nanoplatforms for drug delivery in oncotherapy	Углеродные наноплатформы для доставки лекарств
34	Mamatkulov K.Z. <sup>1</sup>	Vibrational and nonlinear optical bioimaging	Колебательная и нелинейно-оптическая биовизуализация
36	Zinicovscaia I.I. <sup>1</sup>	Effects of nanoparticles on cognitive abilities	Влияние наночастиц на когнитивные способности
38	Łudzik K. <sup>1,7</sup>	Neutron capture therapy with the help of magnetic nanoparticles	Инновации для нейтрон-захватной терапии
40	Zinicovscaia I.I. <sup>1</sup>	Wastewater treatment: microorganisms against metal pollutants	Очистка сточных вод: микроорганизмы против металлов
42	Rogachev A.V. <sup>1,4</sup>	Biological plant protection products: new delivery systems	Биосредства защиты растений: новые средства доставки
44	Bălăşoiu M. <sup>1,8</sup>	Drug compounds of magnetic nanoparticles with proteins	Лекарственные комплексы магнитных наночастиц с белками
46	Nekhoroshkov P.S. <sup>1</sup>	NAA helps in assessing the safety of seafood	НАА помогает оценить безопасность морепродуктов
48	Juszyńska-Gałązka E. <sup>9</sup>	Inelastic scattering helps to optimize an antiepileptic drug	Неупругое рассеяние в оптимизации препарата против эпилепсии
50	Culicov O.A. <sup>1,10</sup>	Is there a macro impact of nanoparticles on plants?	Существует ли макровоздействие наночастиц на растения?

**Life Sciences at Frank Laboratory of Neutron Physics**

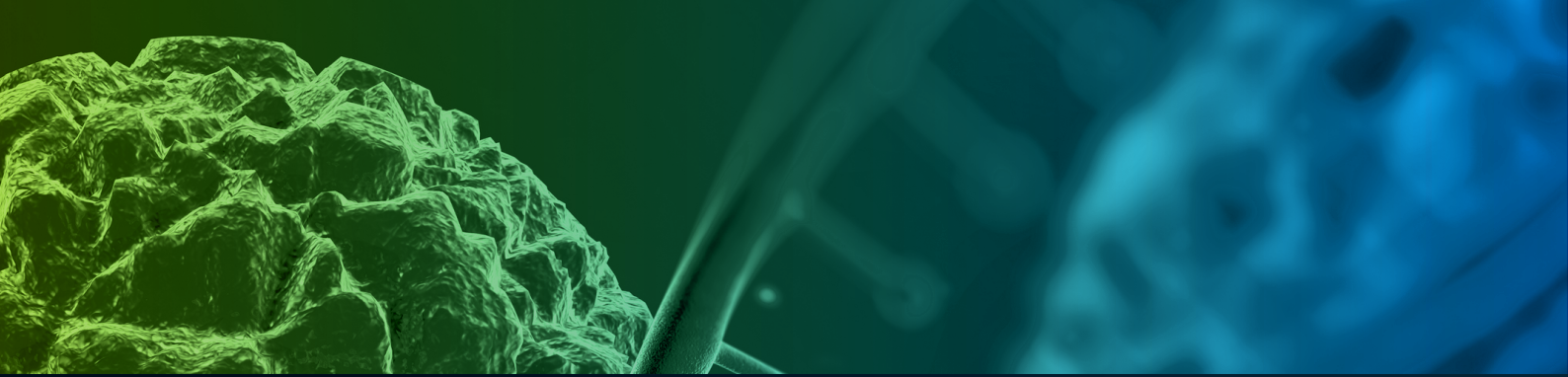
**Науки о жизни в Лаборатории нейтронной физики им. И.М. Франка**

Printed from the files provided by the FLNP, JINR  
Опечатано с файлов, представленных ЛНФ ОИЯИ

*Дизайн и верстка: группа социальных коммуникаций УНЦ ОИЯИ*

Подписано в печать 12.11.2021

Формат 60 × 84/8. Усл. печ. л. 6,05. Уч.-изд. л. 5,4. Тираж 150. Заказ № 60304.  
Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований  
141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6  
E-mail: [publish@jinr.ru](mailto:publish@jinr.ru)  
[www.jinr.ru/publish/](http://www.jinr.ru/publish/)



## Edited by

N. Kučerka  
O. Culicov  
D. Chudoba  
I. F. Lensky  
G. M. Arzumanyan  
M. V. Avdeev

## Translation

T. V. Avdeeva



Frank Laboratory  
of Neutron Physics, JINR

Joliot-Curie str., 6,  
Dubna, Moscow reg.,  
Russia, 141980



<http://flnp.jinr.ru>  
<http://ibr-2.jinr.ru>



+7 496 216 56 57



+7 496 216 50 85



[shv@nf.jinr.ru](mailto:shv@nf.jinr.ru)