УДК 539.196: 536.758

¹Г.В. Грушевская, ¹Н.Г. Крылова, ¹И.В. Липневич, ²И.И. Абрамов, ²Т.И. Ореховская, ³В.П. Егорова, ²Б.Г. Шулицкий, ²И.Ю. Щербакова

УСИЛЕНИЕ РЕЗОНАНСНОГО РАМАНОВСКОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА ПРОПИДИЕМ ИОДИДА В КЛЕТКАХ С6 НА МЕТАЛЛО-И УНТ-СОДЕРЖАЩИХ ЛБ-ПОКРЫТИЯХ ПОРИСТОГО ОКСИДА АЛЮМИНИЯ

¹Белорусский государственный университет, ²Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, ³Белорусский государственный педагогический университет г. Минск, Беларусь

Предложен метод для визуализации наноструктур на поверхности монослоя клеток глиомы линии С6. Этот метод заключается в создании биосовместимого покрытия на нанопористом анодном оксиде и использовании явления усиления резонансного рамановского рассеяния света пропидием иодида посредством экситонных возбуждений малостенных углеродных нанотрубок. Установлены размеры и высокая степень упорядоченности множеств фокальных контактов.

A method for the visualization of nanostructures on the surface of glioma cell line C6 monolayer is proposed. This method is to create a biocompatible coating on nanoporous anodic oxide and to use the phenomenon of resonance Raman light dispersion amplification by propidium iodide through exciton excitations of few-walled carbon nanotubes. Sizes and high degree of ordering of sets of focal contacts are established.

Введение

В настоящее время исследования процессов миграции и инвазии живых клеток сталкиваются с проблемой визуализации динамического распределения фокальных контактов живых клеток. Фокальные контакты служат для прикрепления клеток к различным объектам (внеклеточному матриксу). Фокальный контакт (фокальные адгезии) состоит из нескольких последовательно расположенных 3 групп белков: пучки актиновых филаментов, соединенные с трансмембранными интегриновыми рецепторами через многосубъединичный белковый комплекс (junctional plaque proteins). Начало фокального контакта находится в клетке и представляет собой расходящуюся часть пучка актиновых филаментов, которая входит в состав актинового цитоскелета [1]. Фокальный контакт завершается связыванием интегриновых рецепторов с гидрофобными местами внеклеточного матрикса, например, поверхности культивирования. Внешняя, взаимодействующая с внеклеточным матриксом, часть интегриновых рецепторов чуть возвышается над поверхностью мембраны и играет роль опорных клеточных структур. Высота этой выступающей части интегриновых рецепторов составляет 10–15 нм.

Таким образом, поверхность клеточной мембраны оказывается наноструктурированной. Поэтому, хотя известные методы интерференционной отражательной микроскопии (IRM) или флуоресцентной микроскопии полного внутреннего отражения (TIRFM) визуализируют контакты клетки с основой, они не позволяют количественно определить расстояние между клеткой и основой [2, 3]. В работе [4] предложен метод визуализации контактов клетки с основой с использованием оптического возбуждения плазмонного резонанса. Этот метод дает хорошую количественную оценку расстояния, однако контрастность изображения теряется. Кроме того, необходимая для плазмонного резонанса проводящая поверхность не подходит для культивирования клеток, поскольку клеточная поверхность гидрофобизована гликокалексом (гликопротеинами), и, следовательно, клетки оптимально адгезируют и функционируют на гидрофобных поверхностях с некоторым числом гидрофилизированных мест [5–7].

В связи с этим представляет интерес явление поверхностно-усиленного резонансного комбинационного рассеяния, которое позволило регистрировать спектры комбинационного рассеяния света в таких наноструктурах, как тонкие мономолекулярные пленки Лэнгмюра-Блоджетт (ЛБ), размещенных на поверхности с островками серебра [8]. Бислойные ЛБ-пленки аналогичны по структуре бислойным фосфолипидным клеточным мембранам. В работе [9, 10] предлагают использовать поверхностно-усиленную рамановскую спектроскопию для изучения клеток и субклеточных структур на основе наночастиц золота и серебра в оболочке из поверхностно-активного вещества. Однако, при этом поверхностно-модифицированные наночастицы серебра или золота накапливаются внутри клеток или могут избирательно связываться с мембранными рецепторами, нарушая функционирование клеток. Так как размеры наночастиц серебра и золота велики (более 20 нм) в сравнении с размерами опорных клеточных структур, разрешающая способность методов, использующих эти наночастицы, не позволяет визуализировать отдельные контакты. Данные о размерах внеклеточных опорных частях фокального контакта имеют большой разброс по длине: от 2 до 10 мкм, хотя ширина примерно всегда одинакова: 1 мкм.

Химическая модификация поверхностей различными функциональными группами является одним из способов улучшения биосовместимости материалов. В работе [11] показано, что наличие карбоксильных групп СООН на гидрофобной поверхности повышает число фокальных адгезий, в то время как модификация поверхности гидрофобными метильными группами СН₃ их понижает. Гидрофильные основы (гидрофильный внеклеточный матрикс) гидрофобизуют гликопротеинами, например, фибронектином, ламинином или коллагеном, которые взаимодействуют с заряженными поверхностями посредством электростатического взаимодействия или ковалентной химической модификации.

В данной работе предлагаются металло- содержащие ультратонкие ЛБ-покрытия для гидрофобизации поверхности нанопористого анодного оксида алюминия. Чтобы визуализировать клетки используется флуоресцентный зонд пропидий иодида. Для усиления резонансного рамановского рассеяния используются малостенные углеродные нанотрубки (мУНТ), которые химически модифицированы группами СООН для создания условий формирования фокальных адгезий клеток, а именно, клеток гиомы крысы линии С6.

Цель работы

Целью настоящей работы является установить усиление резонансного рамановского рассеяния света в мУНТ посредством пропидия иодида и использовать мУНТ-усиленную резонансную рамановскую спектроскопию для визуализации зон фокальных адгезий клеток С6 на металло- и УНТ-содержащих ЛБ-покрытиях пористого оксида алюминия.

Материалы и методы

Формирование пленок нанопористого анодного оксида алюминия (AOA) толщиной 200–300 нм на оптическом стекле и мембран толщиной 20,0 мкм проводилось двух стадийным анодированием в 10 % растворе серной кислоты при напряжении 10 вольт, температуре 2 °C. Диаметр пор AOA 10–15 нм (рис. 1).



Рис. 1. Изображения поверхности АОА на стекле (*a*) и поперечного сечения мембраны (*б*) в сканирующем электронном микроскопе

Малостенные углеродные нанотрубки (мУНТ) получены методом химического парофазного осаждения (CVD-метод) с последующими химической модификацией карбоксильными группами и нековалентной функционализацией молекулами стеариновой кислоты.

Монослои Ленгмюра из производных олигомера тиофенпирролового ряда 3-hexadecyl-2,5-di (thiophen-2-yl)-1H-pyrrole (thiophene-pyrrole) с химически присоединенной гидрофобной 16-звенной углеводородной цепочкой формировали на автоматизированной установке Ленгмюра-Блоджетт (ЛБ) собственного производства. Субфаза формирования — водной раствор соли Fe(NO₃), или FeCl, с доведением pH соляной кислотой. Чтобы получить гидрофобную поверхность, пять ЛБ-монослоев в высокоупорядоченном твердотельном состоянии наносились на АОА. Конфокальные микроскопические изображения Feсодержащей тиофен-пирроловой пленки представлены на рис. 2. Затем 2 монослоя функционализированных мУНТ формировались в ЛБ-ванне и наносились на Fe-содержащую тиофен-пирроловую ЛБ-пленку на АОА.



Рис. 2. Конфокально микроскопические изображения Fe-содержащей тиофен-пирроловой пленки (*a* и *в*) на АОА-мембране (*б*) и АОА-пленке на стекле (*г*)

Спектральные исследования в ультрафиолетовом и видимой диапазоне проводились с использованием конфокального макро-рамановского спектрометра Nanofinder HE ("LOTIS-TII", Япония – Беларусь) при лазерном возбуждение на длинах волн 473 и 532 нм и спектрофлуориметре CM 2203 "Солар" (Беларусь).

В качестве флуоресцентного зонда использовался пропидий иодида (Sigma, CШA), свечение которого является интенсивным в гидрофобном, например, нуклеотидном и слабым в гидрофильном окружениях (тушение молекулами воды) [12]. В качестве нуклеотидных последовательностей использовалась высокоочищенная плацентарная, концентрация ДНК 1,03 мг/мл в буфере 10^{5°} М Na₂CO₃, содержание РНК и белка < 0,1 % (отношение оптических плотностей $D_{160}/D_{230} = 2,378$ и D_{160} $D_{280} = 1,866$ соответственно).

Клетки глиомы крысы линии С6 культивировали на ЛБ-УНТ покрытиях АОА в среде DMEM с добавлением 10 % сыворотки плодов коров и 1×10⁻⁴ г/мл гентамицина при температуре 37 °C.

мУНТ-усиленное резонансное комбинационное рассеяние

мУНТ являются графеноподобным материалом, также как графен, обладают высокой электропроводностью [13]. Квазичастичными переносчиками электрического заряда в графене являются отрицательно и положительно заряженные квазичастичные возбуждения. Это трехчастичные возбуждения — положительно и отрицательно заряженные трехчастичные экситоны [14]. Носители заряда в беспримесном графене локализуются в отдельных областях валентной зоны (в так называемых "лужах") конуса [13] и не попадают в *К*-точку — вершину дираковского конуса.

Модель локализации электронов углеродной нанотрубки в слабом электрическом поле была построена в [15]. Согласно этой модели, в слабоинтенсивных электрических полях электроны, например, проводящих одностенных УНТ типа "зигзаг", могут локализоваться внутри трубки, и соответственно, трубки имеют дырочную проводимость. Однако в интенсивных электрических полях локализованные носители заряда начинают принимать также участие в транспорте заряда.

Рамановские спектры высушенных мУНТ до функционализации представлены на рис. За. Рамановские спектры графеноподобных материалов хорошо изучены [16]. Спектральные полосы D и D' на рис. За проявляют наличие дефектов в графеновой решетке и соответствуют оптическим поперечным и продольным колебаниям в плоскости вблизи точки К зоны Бриллюэна. Эти фононы являются колебаниями ядер в поле (терме) $\pi(p_{1})$ -электронов валентной зоны или $\pi^{*}(d)$ -электронов зоны проводимости. Пик D" — продольная акустическая мода вблизи точки К. Спектральная полоса G происходит также от колебаний атомов углерода в плоскости, но в электронно-колебательном терме sp--гибридизированных электронов. Этот резонанс соответствует оптическим плоскостным фононам в окрестности точки Γ зоны Бриллюэна. D^3 и D^4 — поперечная и продольная акустические ветви плоскостных колебаний в окрестности точки Г. 2D — пик двухфонного поглощения (удвоенная D мода). Так называемая "дышащая" мода мУНТ наблюдается на рис. За в частотном диапазоне от 60 до 430 см⁻¹.



Рис. 3. Рамановские спектры высушенных карбоксилированных мУНТ, мощность накачки 20 мВт на длине волны лазера 532 нм (а); мицелл стеариновой кислоты с комплексами мУНТ/ДНК, мощность накачки 5,76 мВт на длине волны лазера 473 нм (б). Символы "Si" и "*" обозначают колебательную моду кремния и лазерный плазмонный пик

В [17] было показано, что олигонуклеотиды образуют комплексы с мУНТ. Стэкинговое π - π -взаимодействие в комплексе приводит к переносу электрического заряда с нуклеотидных оснований на мУНТ. Вероятность перехода электронов с валентных π (p_)-орбиталей нуклеотида на π *(d)-орбитали мУНТ так высока, что свечение молекул ДНК полностью тушится согласно рис. 36 и 4а.

Хотя беспримесный графен и имеет свободные носители заряда, в силу биполярности его уровень Ферми находится в точке *K*, где носители заряда отсутствуют. Добавочная электронная плотность, переносимая с ароматических соединений, обеспечит смещение уровня Ферми в зону проводимости.

При низких интенсивностях накачки количество заряда, перенесенного с ДНК на мУНТ незначительно. Вследствие этого вся добавочная электронная плотность аннигилирует, а высвободившаяся энергия затрачивается на переход графеновых носителей заряда (отрицательно заряженных экситонов) из валентной зоны в зону проводимости. Так как в широком экситонном спектре мУНТ имеются частоты, совпадающие с частотами плазменных колебаний, то плазмоны Si параметрически резонируют на этих частотах, с раскачиванием электронной подсистемы Si — возрастанием интенсивности рамановского спектра линий Si puc. 4a и 4б, кривая 1).



Рис. 4. Рамановские спектры монослоя комплексов мУНТ/ДНК на поверхности кремния при мощности накачки 3,0(1), 5,76(2) и 20(3) мВт (*a*) и комбинационное рассеяние света кремниевой основой, мощность накачки 20 мВт (*б*). Возбуждение лазером на длине волны 532 нм.

Символы "Si" и "*" обозначают колебательную моду кремния и лазерный пик плазмонного рассеяния в кремнии

С ростом интенсивности из-за малого числа локализованных носителей заряда в чистом графене не вся добавочная электронная плотность, переносимая с ароматических соединений, аннигилирует, и поэтому часть ее становится примесью. Так как добавочные электроны, находящиеся на л*-орбиталях мУНТ, являются локализованными d-электронами, то можно рассматривать эту примесь как пузырьки с локализованными d-электронами. Состояния пузырьков стабилизируются переходом дырок отрицательных экситонов и распадом последних. Получившийся пузырек электронной плотности с дыркой внутри подобен атому. Многофотонное поглощение за счет отражательной дифракции на границе пузырька электронной плотности с дыркой приведет к эффекту Ханле — смешиванию d-орбитали с s-подобными орбиталями из оболочки со следующим значением главного квантового числа п. Это смешанное состояние описывается волновой функцией

$$|\Psi\rangle = |d\rangle + f(H_{ext})|s\rangle \tag{1}$$

и является запрещенным, так как его уровни не вырождены по спину. Эти запрещенные переходы проявляются в спектре комбинационного рассеяния (рис. 4а, кривая 2) наряду с резонансным УНТ-усиленным спектром комбинационного рассеяния Si. При больших интенсивностях лазерной накачки наблюдается осцилляторный эффект Ханле, приводящий к вырождению смешанного состояния (1) в состояние с неравновесным спи-

ном S = 0 и орбитальным моментом L = 1. В этом случае атомоподобные пузырьки d-электронов с дырками в их электронной плотности в качестве донорных примесей могут также добавить плотности в качестве донорных примесей могут также добавить недостающую электронную плотность в окрестности точки Kграфена посредством резонансного возбуждения когерентных отрицательно заряженных экситонов X⁻ ("дифракционных экс-итонов") осуществляется следующим образом [18]. Поскольку переходы р-электронов с вырожденных орбиталей S = 0, L = 0в смешанное состояние S = 0, L = 1 разрешены, то возбужден-ные р-электронов могут гибридизировать с $\pi^*(d)$ -орбиталями мУНТ. Появившаяся гибризационная щель приведет в переходу электронов на $\pi(p_i)$ -орбитали с испусканием фотонов, энергия которых затранивается на переход графеновых носителей заряэлектронов на $\pi(p_i)$ -ороитали с испусканием фотонов, энергия которых затрачивается на переход графеновых носителей заря-да (отрицательно заряженных экситонов) из валентной зоны в зону проводимости. В результате, как при низких интенсивно-стях, параметрический резонанс колебательных и плазмонных частот Si на собственных частотах свободных носителей заря-да приведет к мУНТ-усиленному резонансному рамановскому спектру Si (рис. 4a, кривая 3).

спектру Si (рис. 4a, кривая 3). Дефекты в виде донорных примесных уровней пузырьков с d-электронами проявляются в процессе гибридизации орбиталей смешанного состояния S = 0, L = 1 с $\pi^*(d)$ -орбитали мУНТ в зоне проводимости (точке K зоны Бриллюэна) через их рассеяние на колебательных D- и 2D-модах графено-подобной зонной структуры углеродных нанотрубок на рис. 4a, красная кривая. Кроме того, квазичастичные возбуждения X резонируют с s-электронами углерода C, участвующими в sp²-гибридизации, и, соответственно, экситонная энергия рассевается в рамановскую полосу G, как видно на рис. 4a, красная кривая. В отличие от 2D-упаковки ДНК/мУНТ-комплексов в монослое, в мицеллах стеариновой кислоты с ДНК/мУНТ-комплексами (рамановский спектр на рис. 36), имеет место 3D-упаковка. Рассчитаем радиус экситона X⁻ по формуле $r_{\chi^-} = \frac{1}{2} \sqrt{\pi ad}$ [19].

Здесь d — толщина проводящей части образиа — в нашем случае диаметр мУНТ, a — радиус экситона в объемном образце. Для монослоя смеси ДНК с мУНТ значение a равно размеру ДНК/мУНТ-комплекса: от 10 до 20 нм, для мицелл выберем в качестве a их размер 1 мкм. Тогда рассчитанный радиус экситона X⁻ в мицеллах оказывается в 10 раз больше, чем в монослое. Поэтому слабая связь в мицеллярных электрон-дырочных парах обуславливает их локализацию на дефектах. Как видно из рис. Зб и 4а, в связи с понижение числа свободных носителей заряда число толчков в параметрическом резонансе понижается, и, соответственно, на рис. Зб интенсивность лазерного плазменного пика и комбинационного спектра Si снижается, как и интенсивность X⁻усиленных рамановских спектральных полос графена: D, G, 2D (рис. 3б). Локализованные экситоны распадаются в D + D - и D + D"-моды.

Поверхностно усиленная резонансная рамановская спектроскопия с пропидием иодида

Пропидий иодида (PI), флуоресцирует в широком диапазоне длин волн от 585 до 685 нм при поглощении квантов света с длиной волны, совпадающей с длиной волны лазерного возбуждения 532 нм (рис. 5а). Поэтому комбинационное рассеяние света зондом РІ является резонансным. Рамановские спектры водного раствора PI на стекле и ЛБ-покрытии представлены на рис. 5б. Рамановский спектр PI на ЛБ-мУНТ-покрытии имеет два отличия от рамановский спектр PI на стекле. Во-первых, спектр PI на ЛБ-мУНТ-покрытии имеет максимум на частоте 1600 см-1, где PI на стекле практически не светит. Во-вторых, спектр PI на стекле имеет плечо на частоте 3600 см⁻¹. тогда как свечение РІ на ЛБ-мУНТ-покрытии на этой частоте практически отсутствует. Поскольку максимум рамановского спектра PI на ЛБ-мУНТпокрытии совпадает с G-модой мУНТ, то вследствие показанного существования свободных экситонных носителей заряда параметрический резонанс с собственными частотами последних приводит к усилению комбинационного рассеяния света зондом Pl.





Было проведено сканирование резонансного комбинационного рассеяния света по всей поверхности ЛБ-УНТ слоя. Наибольшее усиление свечения РІ посредством мУНТ на частоте 1600 см⁻¹ имеет место на складке ЛБ-УНТ-пленки (рис. 6). И, наоборот, наибольшее ослабление свечения РІ посредством мУНТ на частоте 3600 см-1 имеет место там, где нет складки ЛБ-мУНТ-пленки. Как выше было указано, молекулы PI понижают свою свободную энергию в гидрофобном окружении. Поэтому наибольшая плотность в распределении зонда имеет место в гидрофобной складке ЛБ-мУНТ-пленки.



Рис. 6. Конфокальные микроскопические изображения ЛБ-покрытия, содержащего мУНТ, в складке которого интеркалированы молекулы пропидия иодида. Возбуждение лазером ($\lambda_{ex} = 532$ нм), распределение интенсивности рамановского рассеяния при сдвиге v: 1600 (б) и 3600 см⁻¹(в)

а

6

Эти особенности конфокальных изображений распределения PI на ЛБ-мУНТ-покрытии далее используются для анализа структурной организации монослоя клеток глиомы крысы линии C6.

Рамановская спектроскопия для визуализации структурной организации клеточных монослоев

Для визуализации структуры монослой клеток C6, который культивировали на выше изученном ЛБ-покрытии, окрашивался пропидием иодида. Сканирование резонансного комбинационного рассеяния по всей поверхности монослоя клеток C6 проводилось на двух частотах: 1600 и 3600 см⁻¹.

На рис. 7 представлены характерные изображения распределения PI в клетках, культивируемых на ЛБ-пленках и покровном стекле. В контрольном монослое живых клеток на стекле (положительный контроль) пропидий иодид практически не проникает в ядра живых клеток, краситель образует лишь слабосветящиеся комплексы с нуклеотидами в цитоплазме (рис. 7б и 7в). Если мембранные структуры клеток монослоя на стекле разрушить, то флуоресцентный зонд встраивается в нуклеотидный тяж, теряя гидратную оболочку. В отсутствие тушения флуоресценции молекулами воды интенсивность свечения PI (рис. 7д и 7е) возрастает более, чем в 2 раза. Поскольку мУНТ отсутствуют, усиление резонансного комбинационного рассеяния света молекулами PI также отсутствует, и, соответственно, конфокальное изображение живых и мертвых клеток на стекле ярче на 3600 см⁻¹, чем на 1600 см⁻¹.

Как видно из рис. 7и, резонансное комбинационное рассеяние PI на 3600 см⁻¹ практически отсутствует, что свидетельствует о целостности и жизнеспособности клеток, культивируемых на исследуемых ЛБ-покрытиях.

При детектировании резонансного комбинационного рассеяния PI на 1600 см⁻¹ (рис. 73) регистрируется четкое флуоресцентное изображение клеток с темным ядром и яркими точками с высокой интенсивностью свечения. Области высокой интенсивности свечения имеют диаметр порядка 1 мкм и располагаются по периферии клеток (для всех клеток в зоне сканирования) и частично вокруг ядра клетки (для нижней клетки в зоне сканирования).







Рис. 7. Конфокальные микроскопические изображения клеток глиомы крысы линии С6, культивируемых 72 часа на стекле (положительный контроль, 4 клетки) (*a*-в), после воздействия 0,01 % Тритона X-100 (отрицательный контроль, 2 клетки) (*z*-*e*) и ЛБ-покрытии с мУНТ (*ж*-*u*, 2 клетки). Возбуждение лазером на длине волны λ_{ex} = 532 нм, регистрация свечения на частотах (рамановский сдвиг) υ = 1600 см⁻¹ (*б*, *д*, *з*) и υ = 3600 см⁻¹ (*в*, *е*, *и*). Клетки инкубировали с флуоресцентным зондом пропидий иодида в течение 5 минут

3

ж

u

Распределение и размеры полученных областей соответствуют местам фокальных адгезий клеток. На рис. 7ж видно, что верхняя клетка характеризуется распластанностью и четко-очерченным ядром, что говорит о ее нахождении в интерфазе клеточного цикла или состоянии покоя G0. Фокусировка конфокального микроскопа соответствует приблизительно середине клетки, поэтому видимые места фокальных адгезий сконцентрированы на периферии. Тело нижней клетки имеет более округлую форму, поэтому плоскость фокусирования располагается ближе к нижней стенке клетки и на рис.7ж ядро просматривается плохо, а на флуоресцентном изображении рис. 73 "горизонтальный срез" ядра оказывается значительно меньше, чем для верхней клетки. За счет этого, для нижней клетки визуализируются фокальные контакты, прикрепляющие клетку к основе и находящиеся не только на периферии, но и под телом клетки.

Заключение

Высокопроводящие малостенные углеродные нанотрубки в ЛБ-покрытии усиливают комбинационное резонансное рассеяние света, как на поверхностных модах кремния, так и в тонкой пленке флуоресцентного зонда пропидия иодида с толщиной порядка 10 нм. Последнее явление позволило визуализировать наноструктурированную поверхность живых клеток в монослое на биосовместимом покрытии типа тонкие металло- и мУНТ-содержащие ЛБ-пленки на нанопористой поверхности анодного оксида алюминия. Установлено, что диаметр фокальных контактов — порядка 1 мкм. Показано, что множество выступающих над поверхностью клетки частей интегриновых рецепторов фокальных контактов, являющихся опорными структурами, характеризуется высокой упорядоченностью и периодичностью.

Список использованных источников

1. Petit Valerie. Focal adhesions: structure and dynamics / Valerie Petit, Jean-Paul Thiery // Biology of the Cell. — 2000. — Vol. 92. — P. 477–494.

2. Curtis, A.S. The mechanism of adhesion of cells to glass: a study by interference reflection microscopy / A.S. Curtis // J. Cell Biol. — 1964. — 20. — P. 199–215.

3. Axelrod, D. Total internal reflection fluorescent microscopy / D. Axelrod, N.L. Thompson, and T.P. Burghardt // J. Microsc. — 1983. — 129. — P. 19–28.

4. Giebel K.-F. Imaging of Cell/Substrate Contacts of Living Cells with Surface Plasmon Resonance Microscopy / K.-F. Giebel, C. Bechinger, S. Herminghaus, M. Riedel, P. Leiderer, U. Weiland, and M. Bastmeyer // Biophysical Journal. — 1999. — 76. — P. 509–516.

5. Bacakova L. Cell Adhesion on Artificial Materials for Tissue Engineering / L. Bacakova, E. Filova, F. Rypacek, V. Svorcík, V. Stary // Physiol. Res. — 2004. — Vol. 53 (Suppl. 1). — P. 35–45.

6. Allen Lorcan T. Interaction of soft condensed materials with living cells: Phenotype_transcriptome correlations for the hydrophobic effect / Lorcan T. Allen. Edward J. P. Fox, Irena Blute, Zoe D. Kelly, Yuri Rochev, Alan K. Keenan, Kenneth A. Dawson, and William M. Gallagher // P.NAS. — 2003. — Vol. 100. — Ne 11. — P. 6331–6336.

7. Ito Yoshihiro. Surface micropatterning to regulate cell functions / Yoshihiro Ito // Biomaterials. — 1999. — Vol. 20. — P. 2333–2342.

8. Constantino Carlos. Surface enhanced resonance Raman scattering imaging of Langmuir-Blodgett monolayers of bis (benzimidazo) thioperylene / Carlos Constantino. James Duff, Ricardo Aroca // Spectrochimica Acta. — 2001. — Part A. — Vol. 57. — P. 1249–1259.

9. Sathuluri R.R. Gold Nanoparticle-Based Surface-Enhanced Raman Scattering for Noninvasive Molecular Probing of Embryonic Stem Cell Differentiation / Sathuluri R.R., Yoshikawa H., Shimizu E., Saito M., Tamiya E. // PLoS ONE. – 2011. – Vol. 6(8): e22802. doi:10.1371/journal.pone.0022802.

10. Christina M. MacLaughlin. Surface-Enhanced Raman Scattering Dye-Labeled Au Nanoparticles for Triplexed Detection of Leukemia and Lymphoma Cells and SERS Flow Cytometry / Christina M. MacLaughlin, Nisa Mullaithilaga, Guisheng Yang, Shell Y. Ip, Chen Wang, and Gilbert C. Walker // Langmuir. — 2013. — Vol. 29. — P. 1908–1919.

11. Keselowsky Benjamin G. Surface chemistry modulates focal adhesion composition and signaling through changes in integrin binding / Benjamin G. Keselowsky, David M. Collard, Andries J. Garcia // Biomaterials. — 2004. — Vol. 25. — P. 5947–5954.

12. Хорунжая О.В. Изменения гидратации при образовании комплексов ДНК. с некоторыми интеркаляторами / О.В. Хорунжая, В.А. Кашпур, Д.А. Песина // Бюфізичний вісник. — 2010. — Вип. 1. — Т. 24. — С. 5–13.

13. Морозов С.В. Электронный транспорт в графене / С.В. Морозов, К.С. Новоселов, А.К. Гейм // УФН. — 2008. — Т. 178:7. — С. 776–780.

14. Grushevskaya H.V. Partially Breaking Pseudo-Dirac Band Symmetry in Graphene / H.V. Grushevskaya, G. Krylov // J. Nonlin. Phen. in Complex Sys. — 2014. — Vol. 17. — $N_{\rm P}$ 1. — P. 86–96.

15. Krylova H.V. Electron Diffusion and Spontaneous Dielectric Polarization in Modified Carbon Nanotube clusters Fabricated by Langmuir – Blodgett Method on Metal-containing Nanocomposites / H.V. Krylova, B.G. Shulitsky, and V.V. Hrushevsky // J. Nonlin. Phen. in Complex Sys. -2010. -- Vol. 13. $-N_{2}$ 4. -- P. 334–351.

16. Cooper D R. Experimental Review of Graphene / D R. Cooper et al. // ISRN Condensed Matter Physics. — 2012. — Article ID 501686. — Vol. 56. — pp. doi:10.5402/2012/501686.

17. Велигура А.А. Тушение флуорофора в олигонуклеотидных слоях, самоорганизованных на углеродных нанотрубках / А.А. Велигура, А.С. Егоров, В.П. Егорова, Г.В. Крылова, И.В. Липневич, Г. Шулицкий. // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Фізика. — 2013. — № 34. — С. 206–210.

18. Krylova H. Spin polarization in strong correlated nanosystems / Krylova H., Hurski L. // (LAP.LAMBERT.Academic Publishing). – 2013. – P. 334.

19. Keldysh L.V. Coulomb interaction in thin semiconductor and semimetal films / L.V. Keldysh // Letters to JETP. — 1979. — Vol. 29. — P. 659–660.

Статья поступила в редакцию 03.04.2014 г.