ISSN 2079-1704. Хімія, фізика та технологія поверхні. 2025. Т. 16. № 2. С. 191-203

УДК 544.72 doi: 10.15407/hftp16.02.191

О.В. Маркітан [1], Р.Б. Козакевич [1], Д.С. Каменських [2, 3], В.А. Тьортих [1]

ВЗАЄМОДІЯ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕЇНОВОЇ КИСЛОТИ З ПОВЕРХНЕЮ МОДИФІКОВАНОГО АМІНОСИЛАНОМ СИЛОХРОМУ

[1] Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Олега Мудрака, 17, Київ, 03164, Україна, E-mail: kammar@ukr.net
[2] Інститут біоорганічної та нафтохімії ім. В.П. Кухаря Національної академії наук України
вул. Академіка Кухаря, 1, Київ, 02094, Україна, E-mail: kam04@ukr.net
[3] Інститут надтвердих матеріалів ім. В.М. Бакуля Національної академії наук України
вул. Автозаводська, 2, Київ, 04074, Україна, E-mail: kam04@ukr.net

Матеріали, що здатні ефективно сорбувати нуклеїнові кислоти, є необхідними при розробці відповідних сенсорних систем біомедичного призначення, для аналітичного розділення та доставки генів. Нанорозмірні оксидні сорбенти все частіше стають основою досліджень та розробки нових каталітичних і сенсорних систем. Особливий інтерес в цьому відношенні являють кремнеземні сорбенти. Стабільність фізико-хімічних параметрів, значна швидкість досягнення сорбційної рівноваги, розвинена питома поверхня, механічна стійкість сприяють широкому використанню цих матеріалів для модифікації та іммобілізації на поверхні різних функціональних груп. Хімічна модифікація поверхні кремнеземів дозволяє контролювати силу адсорбційної взаємодії речовин з поверхнею, зберігаючи функціональність адсорбата, забезпечуючи оборотність процесу та підвищуючи селективність адсорбента.

Метою даної роботи було вивчити адсорбцію дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) на поверхні модифікованого 3-амінопропілтриетоксисиланом силохрому з водного розчину в залежності від pH середовища та концентрації адсорбата. Показано, що визначальною силою адсорбції є електростатична взаємодія між позитивно зарядженими амінопропільними групами поверхні сорбента та аніонами нуклеїнової кислоти. Адсорбція ДНК в кислій області здійснюється за допомогою дисперсійних сил та водневих зв'язків між функціональними групами поверхні кремнезему та високополярними вторинними фосфатними групами на зовнішній поверхні молекул нуклеїнової кислоти. Виходячи з розрахованих термодинамічних параметрів, процес взаємодії дезоксирибонуклеїнової кислоти з поверхнею модифікованого аміносиланом силохрому є самовільним та відбувається за іонообмінним механізмом, в результаті чого молекули адсорбата досить міцно зв'язуються з поверхнею. Реалізація електростатичної взаємодії між аміносилохромом та дезоксирибонуклеїновою кислотою дозволяє певним чином стабілізувати структуру ДНК, створюючи можливість подальшої взаємодії шляхом інтеркаляції біологічно активних речовин. Це дозволить використовувати такі органо-мінеральні системи як біосумісні носії та як модельні структури в біотехнологічних, медичних, каталітичних дослідженнях.

***Ключові слова**: силохром, хімічне модифікування, дезоксирибонуклеїнова кислота, адсорбція, ізотерма, моделі адсорбції*

ВСТУП

Одним з основних інструментів аналітичних досліджень в біотехнологічній, медичній сферах, хімії навколишнього середовища є сенсорні прилади. Це спонукає до пошуку нових безпечних для живих організмів систем, які можуть слугувати біочіпами, сенсорами молекулярного розпізнання, розділення, доставки генів та контролю певних параметрів у біооб'єктах. Найбільш цікавими для розробки таких біосенсорів в останні роки стали нуклеїнові кислоти. Домінуючим об'єктом в генній інженерії та біотехнологічних дослідженнях є дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК). Дотримуючись певних критеріїв [1–4], на основі молекул ДНК створюють олігонуклеотидні послідовності з нестандартними поворотами та вигинами. Такі спеціально розроблені синтетичні нуклеотидні форми є програмованим матеріалом. Вони є сумісними з біооб'єктами та, будучи закріпленими на твердих носіях, здатні слугувати платформами або активними компонентами нанотехнологічних інструментів [5]. Дуже затребуваними для розробки

сенсорних систем біологічного призначення, аналітичного розділення та доставки генів є матеріали, що здатні ефективно адсорбувати нуклеїнові кислоти. Нанорозмірні оксидні матеріали завдяки їхнім властивостям все частіше стають основою досліджень та розробки нових каталітичних і сенсорних систем.

У біоінженерній практиці все ширше використовують матеріали на основі кремнезему. Це обумовлено унікальним комплексом його фізико-хімічних та медико-біологічних властивостей, зокрема, висока дисперсність, розвинена поверхня, можливість регулювання властивостями поверхні в широких межах, хімічна чистота та фізіологічна біосумісність, що забезпечують можливість взаємодії з біологічно активними молекулами при збереженні їхньої функціональної активності. Дослідження взаємодії нуклеїнових кислот з поверхнею кремнезему викликають особливий інтерес і є важливими для створення носіїв з іммобілізованими біооб'єктами.

У багатьох випадках важливо забезпечити контрольоване закріплення адсорбата з поверхнею. Для кремнеземів накопичено значний досвід регулювання сили міжмолекулярної взаємодії адсорбованої активної сполуки з носієм. Одним із способів регулювання адсорбційними процесами є модифікування матриці-носія функціональними групами, спорідненими до адсорбата, що суттєво підвищує селективність матеріалів [6–10]. Такі поверхнево-функціоналізовані матеріали мають селективну адсорбційну спорідненість щодо барвників [6, 11–15], ензимів [16–18], вірусів [19]. Силанольні групи немодифікованих пористих кремнеземів формують слабкі міжмолекулярні водневі зв'язки з біологічно-активними речовинами, що недостатньо сильні, щоб утримувати активну речовину. Функціоналізація кремнеземних матеріалів органічними чи кремнійорганічними сполуками забезпечує покращення взаємодії з адсорбатом. Не тільки наявність функціональних груп, а і їхня природа є важливими для забезпечення спорідненості до поверхні носія. Хімічна модифікація поверхні кремнезему аміно-пропільними групами дозволить контролювати силу адсорбційної взаємодії нуклеїнових кислот з поверхнею, зберігаючи функціональність адсорбата та забезпечуючи оборотність процесу і підвищуючи селективність матеріалів. При цьому, функціональний поверхневий шар дозволяє іммобілізувати біологічно активну сполуку, а пориста структура - збільшити вміст активної речовини в матриці. Так, у роботах авторів [20, 21] була змодельована взаємодія між молекулами ДНК та амінованими предметними скельцями і пластинами кремнезему. Показано, що важливу роль в утриманні молекул ДНК на поверхні функціоналізованого носія можуть відігравати іонні взаємодії.

Метою даної роботи було вивчити адсорбцію ДНК на поверхні модифікованого аміносиланом силохрому з водного розчину в залежності від pH та концентрації сорбата, а також встановити механізм взаємодії ДНК з поверхнею даного сорбента.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Для дослідження використана дезоксирибонуклеїнова кислота зі сперми риб («ч.д.а.», Sigma-Aldrich). Для встановлення необхідних значень pH розчинів та суспензій застосовували стандарт-титри HCl та NaOH (Titrisol, Merck). Для створення необхідних значень іонної сили використовували NaCl («ч.д.а.», Merck). Всі розчини та суспензії готували на бідистильованій воді. Значення pH розчинів та суспензій перевіряли за допомогою приладу «Иономер ЭВ-74». Визначення концентрацій ДНК проводили спектрофотометрично з використанням спектрофотометра Specord M-40. Тверду фазу відокремлювали центрифугуванням протягом 15 хв при швидкості обертання 8000 об/хв. Як носій використовували пористий кремнезем силохром, який був одержаний з концентрованих водних суспензій пірогенного кремнезему.

Методика синтезу силохрому. 280 г пірогенного кремнезему А-175 (ГОСТ 14922-77) висипають у фарфоровий стакан місткістю 1.5–2 літри, у який додають 1 л дистильованої води і перемішують механічною мішалкою 20–30 хв до утворення однорідної суміші. Одержану суміш виливають у кристалізатор і залишають на 20–40 год для формування гідрогелю. Одержаний гідрогель розрізають на фракції 1 $см^3$ і сушать при температурі 150 °C

протягом 10–12 год. Потім матеріал вносять в реактор, що являє собою трубчату піч, і витримують в атмосфері водяної пари при 600 °С протягом 6 год. Це зменшує питому поверхню та сприяє утворенню пор, близьких за розміром. Одержаний матеріал перетирають та відділяють фракцію 0.5 мм.

З метою покращення спорідненості активної речовини та поверхні носія проводили реакцію поверхневих силанольних груп кремнеземної матриці з 3-амінопропілтриетоксисиланом, для чого 1 г кремнезему нагрівали при 200 °С протягом 2 год для видалення фізично сорбованої води, потім заливали розчином 3-амінопропіл-триетоксисилану в толуолі із розрахунку 0.2 г силану на 1 г кремнезему та кип'ятили в реакторі зі зворотним холодильником при постійному перемішуванні протягом 2 год. Після цього носій промивали толуолом і ацетоном до повного видалення незв'язаного аміносилану та сушили 4 год при 80 °С. Вміст хемосорбованих аміногруп ідентифікували методом ІЧ-спектроскопії та спектро-фотометрично (Spekol 1500, довжина хвилі поглинання 400 нм) після реакції поверхневих NH_2-груп із саліциловим альдегідом. Кількість прищеплених аміногруп на 1 г пірогенного кремнезему становила 0.3 ммоль.

Адсорбційно-структурні характеристики зразка розраховували за ізотермами адсорбції/десорбції (–196 °С) азоту. Ізотерми записували на автоматичному сорбтометрі Quantachrome Autosorb NOVA 1200e®. Параметри пористої структури розраховували за допомогою програмного забезпечення NOVAWin™. Метод Брунауера–Еммета–Теллера (БЕТ) використовували для розрахунку питомої поверхні аміно-силохрому у діапазоні відносного тиску 0.05–0.65 ізотерм адсорбції та десорбції азоту.

Для визначення точки нульового заряду (ТНЗ) проводили потенціометричне титрування водного розчину суспензії аміносилохрому (1 г/л) при кімнатній температурі. Готували ряд зразків суспензії зі значеннями pH в інтервалі від 2 до 9. Іонну силу доводили фоновим електролітом до 0.01 М NaCl. Титрування проводили в періодичному режимі шляхом дискретних добавок розведеної HCl та NaOH концентрацією 0.01 М, приготованих зі стандартних розчинів у бідистильованій воді. Зразки суспензії періодично струшували та перевіряли значення pH до повного встановлення рівноваги, вважаючи, що рівноваги досягнуто, коли показники pH-метра не змінювалися протягом доби більше, ніж на ±0.05 одиниць pH.

Адсорбцію вивчали при кімнатній температурі (~20 °С) і постійній іонній силі 0.01 М NaCl. Змішували рівні об'єми суспензії аміносилохрому (2 г/л) та розчину ДНК (0.05 г/л). Таким чином, концентрація сорбента в суспензії становила 1 г/л, а концентрація ДНК – 0.025 г/л. Значення pH розчинів доводили до необхідних величин в інтервалі 2–8 додаванням розчинів кислоти та лугу. Суспензії витримували, періодично помішуючи при кімнатній температурі, протягом 2 год. Попередньо було визначено, що адсорбційна рівновага встановлюється протягом цього часу. Тверду фазу відділяли центрифугуванням. Для дослідження концентраційної залежності адсорбції ДНК готували серію суспензій з різною концентрацією нуклеїнової кислоти, від 0.02 до 0.2 г/л, концентрацією сорбента 1 г/л і постійному значенні pH, рівному 6.2. Таке значення pH було обрано на основі результатів попереднього вивчення адсорбції ДНК на поверхні аміносилохрому в залежності від pH.

Концентрацію адсорбованої ДНК визначали за різницею інтенсивностей поглинання в УФ діапазоні спектра вихідного розчину та розчину після адсорбції. Спектр розчину ДНК характеризується смугою поглинання з максимумом при 260 нм. Для вихідного розчину ДНК молярний коефіцієнт екстинкції становить $\varepsilon = 6600\ М^{-1}см^{-1}$ [22–24]. Попередньо нами було досліджено залежність положення та інтенсивності максимуму поглинання від pH розчину та концентрації ДНК.

Для дослідження зразків методом скануючої електронної мікроскопії (СЕМ) тверду фазу відокремлювали центри-фугуванням (8000 об/хв, 15 хв) після останнього циклу адсорбції при вивченні залежності адсорбції ДНК від її вихідної концентрації на поверхні аміносилохрому та декантації. Після центрифугування тверду фазу відокремлювали і сушили при кімнатній температурі. Морфологію поверхні

оцінювали за допомогою скануючого електронного мікроскопа МА-10 (Karl Zeiss), використовуючи ретельно розтерті тверді зразки без додаткової обробки.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

В ІЧ-спектрі вихідного кремнезему (рис. 1, крива 1) наявне широке поглинання в діапазоні 3200–3700 $см^{-1}$ в результаті накладення смуг валентних коливань гідроксильних груп і адсорбованих молекул води. Смуга 3750 $см^{-1}$ належить валентним коливанням O-H вільних силанольних груп поверхні. До характерних смуг поглинання кремнезему відносяться широка смуга при 1090 $см^{-1}$, яка відповідає антисиметричному коливанню зв'язку Si-O в групах Si-O-Si тетраедрів, 1630 $см^{-1}$ - деформаційним коливанням молекул води, смуга 803 $см^{-1}$, що відповідає симетричним коливанням тетраедра SiO_4. Смуга при 970 $см^{-1}$ відноситься до коливання зв'язку Si-O в ≡SiOH групах.

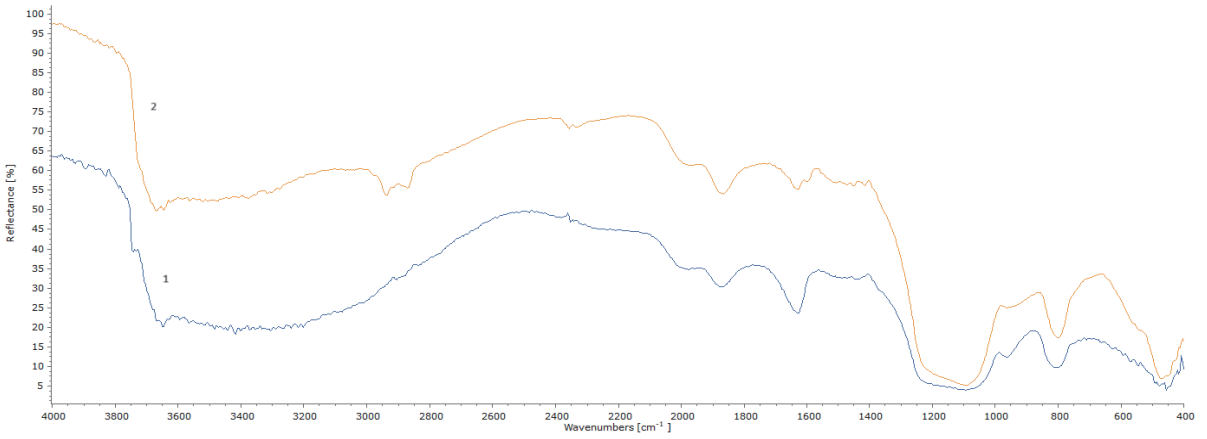


Рис. 1. ІЧ-спектри вихідного кремнезему (*1*) та кремнезему, модифікованому 3-амінопропілтриетоксисиланом (*2*)

У спектрі амінокремнезему наявні смуги при 1570 та 2930 $см^{-1}$, що відносяться відповідно до деформаційних коливань N–H і валентних коливань C–H в пропільному радикалі.

Для виявлення змін структурних характеристик синтезованого аміносилохрому були виміряні ізотерми адсорбції-десорбції азоту в інтервалі відносних тисків від 0 до $p/p_s = 1$ (рис. 2). В таблиці 1 наведено структурно-адсорбційні характеристики вихідного та модифікованого аміносиланом силохрому, обчислені з використанням одержаних ізотерм адсорбції азоту. Як видно, модифікований силохром має розвинену порувату структуру. Одержана ізотерма відноситься до ізотерм II типу згідно з класифікацією IUPAC з наявною петлею гістерезису, що властиво для мезопоруватих сорбентів при наявності пор циліндричної форми (щілиноподібних) діаметром $d > 4$ нм [25]. Початкова гілка ізотерми характеризується наявністю досить низького коліна, що плавно переходить в пологу криву (майже плато) в області низьких та середніх тисків $p/p_s \leq 0.8$. Це може свідчити про перебіг полімолекулярної адсорбції азоту та вказує на ефект розвиненої рівномірної поруватої структури адсорбента. Морфологія сорбента, топологія і форма пор, фізико-хімічні властивості адсорбата впливають на процес капілярної конденсації, що обумовлює форму петлі гістерезису. Одержана ізотерма характеризується вузькою та видовженою петлею гістерезису типу H1 за класифікацією IUPAC в області високих тисків $p/p_s = 0.8–1$, яка має досить крутий підйом. Такий тип петлі характерний для сорбентів з рівномірною мезопористою структурою. Наявність крутої вузької петлі гістерезису є явною ознакою затримки капілярної конденсації, яка викликана сорбованою багатошаровою метастабільністю, характерною для відкритих щілиноподібних пор циліндричної форми.

Хімічна іммобілізація аміногруп на поверхні силохрому призводить до зменшення питомої поверхні з 143 до 129 м^2/г та об'єму пор з 0.95 до 0.43 см^3/г порівняно з вихідним сорбентом (таблиця 1). Синтезований аміносилохром характеризується широким розподілом пор із переважаючим діаметром 6.5 нм (рис. 2). Такі зміни структурних параметрів підтверджують успішну іммобілізацію аміносилану на поверхні силохрому. Оснóвний характер функціональної групи (3-амінопропільної) сприяє формуванню мезопористої структури.

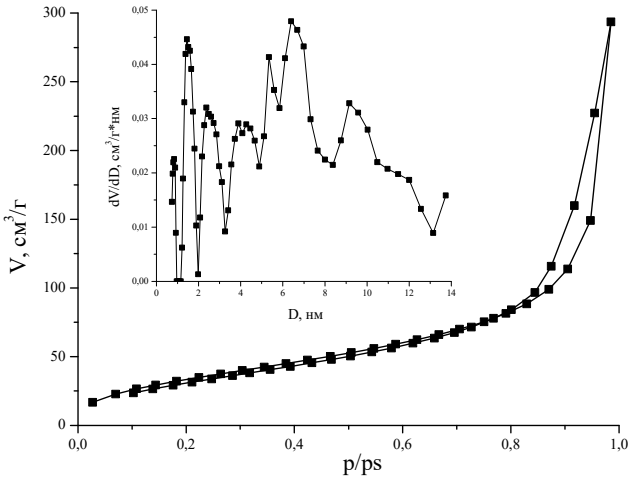


Рис. 2. Ізотерма низькотемпературної адсорбції/десорбції азоту та розподіл пор за розмірами для модифікованого аміносиланом силохрому

Таблиця 1. Структурні параметри вихідного та модифікованого аміносиланом силохрому

Сорбент	Питома поверхня BET (м^2/г)	Об'єм пор (см^3/г) BJH	d_{BJH} (нм)
Аміносилохром	129	0.43	3.26
Силохром	143	0.95	17.0

Молекула ДНК складається з двох правозакручених полінуклеотидних спіралей з спільною віссю, які таким чином утворюють подвійну спіраль. Ці два полінуклеотидні ланцюги є антипаралельними, тобто їхні 3′,5′-фосфодіестерні міжнуклеотидні містки орієнтовані в протилежних напрямках. Площини пуринових та піримідинових основ направлені всередину подвійної спіралі перпендикулярно до її вісі та паралельно одна одній. Таким чином, кожна основа одного ланцюга є спареною з основою другого ланцюга, що лежить в одній з нею площині. При цьому лише певні пари основ вкладаються в структуру так, що можуть утворювати одна з одною водневі зв'язки. Це робить систему максимально стабільною [26, 27]. Стійкість комплементарних пар основ в дволанцюговій ДНК є функцією pH. Пари основ найбільш стійкі при pH від 4 до 11. За межами цього інтервалу значень pH дволанцюгова спіраль ДНК поступово втрачає стійкість і розкручується [27–29].

Додатково стабілізують систему і гідрофобні взаємодії між основами, розміщеними вздовж осі молекули. Гідрофобні основи, порівняно погано-розчинні у воді, є щільно упакованими всередині спіралі і недоступні для молекул води, тоді як іонізовані вторинні фосфатні групи і гідрофільні залишки пентози, локалізовані на поверхні молекули ДНК, контактують з молекулами води. Високополярні вторинні фосфатні групи, що з'єднують сусідні мононуклеотиди, характеризуються низьким значенням pK. Таким чином, ДНК – досить сильна багатоосновна кислота, повністю іонізована

при будь-якому pH > 4 [29]. Фосфатні групи розміщені на периферії подвійної спіралі, утворюючи фосфатний остов, і повністю доступні для молекул води.

Отже, нативна дволанцюгова молекула ДНК являє собою негативно заряджений стрижень, що дає великі можливості до електростатичної взаємодії з поверхнями. З такою метою було досліджено матеріали на основі металевих наночастинок та вуглецю, а неорганічні оксиди, окрім діоксиду титану, були недостатньо вивчені [30–33].

Результати потенціометричного титрування суспензії аміносилохрому були використані для розрахунку заряду поверхні σ_0 (Кл/м^2) за рівнянням:

$$\sigma_0 = (F/Sm)((C_A - [H^+]) - (C_B - [OH^-])),$$

де F – константа Фарадея, 96485 Кл/моль, S – питома поверхня оксиду (м^2/г), m – концентрація оксиду (г/л), C_A і C_B – концентрації кислоти і лугу (моль/л), $[H^+]$ і $[OH^-]$ – концентрації протонів та гідроксильних іонів (моль/л). На основі перетину кривої залежності заряду поверхні від pH (рис. 3) з «нульовою лінією» було визначено точку нульового заряду $pH_{тнз}$ = 7.5 для аміносилохрому. Це означає, що при значеннях pH, нижчих точки нульового заряду, активні групи поверхні заряджені позитивно, а при pH, вищих ТНЗ, відбувається іонізація поверхневих груп, і поверхня заряджається негативно, причому, як бачимо з рисунка, ця зміна відбувається досить різко. У роботі [20] було встановлено ТНЗ при pH = 7 для скляних пластин, оброблених аміносиланом, що є близьким до одержаної нами величини.

Результати дослідження адсорбції ДНК на поверхні аміносилохрому представлені на рис. 4. Адсорбція нуклеїнової кислоти починається у кислій області і, характеризуючись максимальними величинами вилучення сорбата, плавно зменшується при підвищенні pH та зниженні концентрації позитивно заряджених груп на поверхні сорбента. Після досягнення значення pH, що дорівнює точці нульового заряду, величина адсорбції ДНК різко зменшується. При цьому хід адсорбційної кривої нуклеїнової кислоти на поверхні аміносилохрому чітко повторює хід кривої залежності заряду його поверхні від pH (рис. 3).

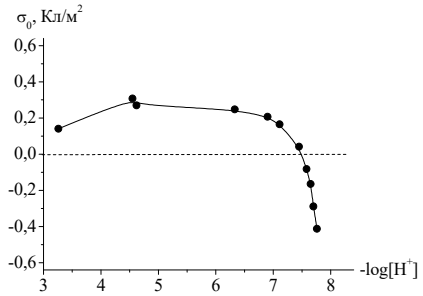


Рис. 3. Заряд поверхні аміносилохрому в залежності від pH: $C_{сусп}$ = 1 г/л, C_{NaCl} = 0.01 М

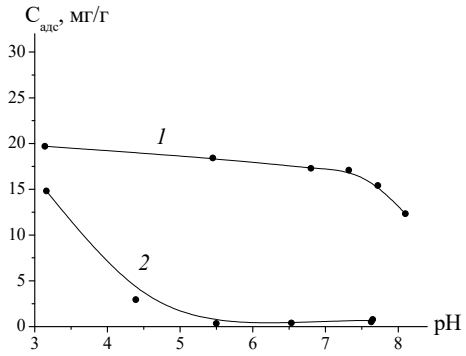


Рис. 4. Залежність адсорбції ДНК (25 мг/л) від pH на поверхні модифікованого аміносиланом (*1*) та вихідному (*2*) силохромах: $C_{сорб}$ = 1 г/л, іонна сила розчину 0.01 М NaCl

Порівнюючи стан активних поверхневих груп поверхні сорбента та ДНК у розчині, можна зробити висновок, що рушійною силою адсорбції є електростатична взаємодія між позитивно зарядженими амінопропільними групами поверхні та аніонами нуклеїнової кислоти – негативно зарядженим фосфатним остовом молекул. І оскільки при pH > ТНЗ поверхня стає негативно зарядженою, то відповідно адсорбція нуклеїнової кислоти зменшується. Одержані нами результати щодо природи рушійної сили взаємодії ДНК з амінопропільними групами поверхні сорбента добре узгоджуються з даними, наведеними у роботах [20, 21].

На рис. 4 представлені криві залежності від pH величин адсорбції ДНК на поверхні вихідного і модифікованого силохрому. Порівняння адсорбційних кривих нуклеїнової кислоти на обох сорбентах показує, наскільки змінюється величина її вилучення з розчину при модифікуванні поверхні силохрому аміносиланом. Причиною цього є зміна заряду поверхні сорбента. Форма адсорбційної кривої ДНК на поверхні силохрому свідчить про те, що адсорбція ДНК в кислій області, коли поверхня кремнезему є нейтральною, може здійснюватися за рахунок дисперсійних чи водневих зв'язків між нейтральними групами поверхні та високополярними вторинними фосфатними групами на зовнішній поверхні молекули нуклеїнової кислоти.

Досліджено адсорбцію ДНК на поверхні аміносилохрому як функцію її концентрації в розчинах (рис. 5).

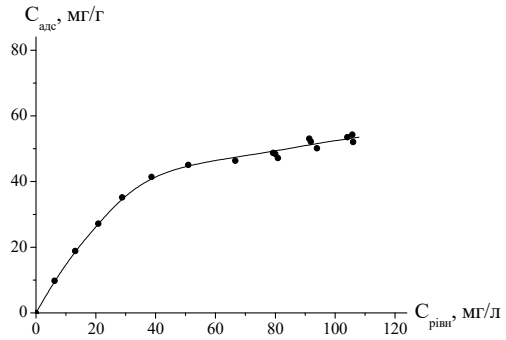


Рис. 5. Ізотерма адсорбції ДНК на поверхні модифікованого аміносиланом силохрому при pH = 6.2. $C_{сорб}$ = 1 г/л, іонна сила розчину 0.01 M NaCl

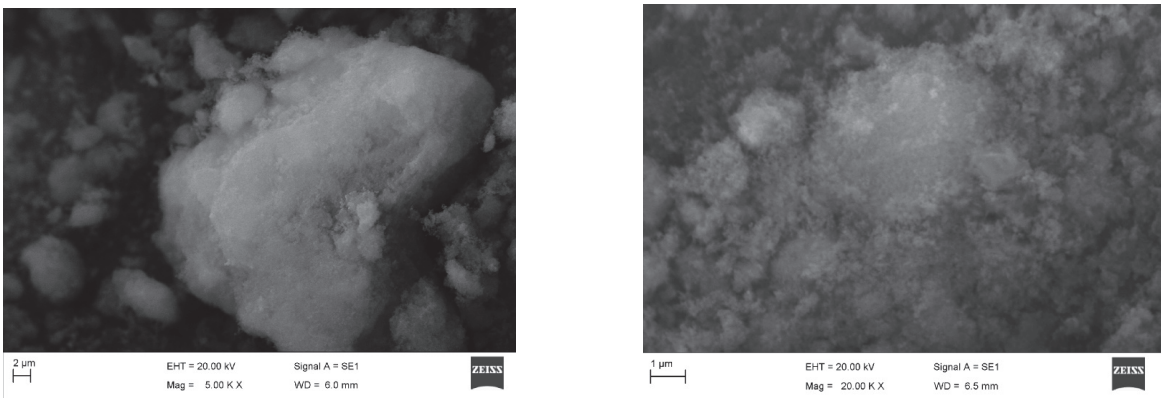
Для аналізу отриманих даних застосовували ізотермічні моделі Ленгмюра, Фрейндліха, Дубиніна-Радушкевича, Тьомкіна, враховуючи особливості даного процесу для досліджуваної системи. Модель ізотерми Ленгмюра кількісно описує адсорбцію при низьких та високих концентраціях адсорбата, а рівняння ізотерми Фрейндліха зазвичай використовують для середньо заповнених поверхонь адсорбента. В рамках першої моделі поверхня сорбента є гомогенною з рівноцінними за енергією сорбційними центрами і процес адсорбції є локалізованим з утворенням моношару без взаємодії між адсорбованими молекулами [34]. Модель ізотерми Фрейндліха описує адсорбцію на гетерогенній поверхні з різними за величиною енергії адсорбційними центрами. Припускається, що між адсорбованими частинками можлива взаємодія, тому адсорбційний процес може не обмежуватися утворенням мономолекулярного шару сорбата [35]. Модель Дубініна-Радушкевича не передбачає однорідності поверхні та постійного адсорбційного потенціалу [36]. Модель є більш загальною і була розроблена для встановлення фізичної або хімічної природи рушійної сили адсорбційного процесу на мікропористих сорбентах. За допомогою цієї моделі оцінювали природу взаємодії між ДНК та поверхнею аміносилохрому. Моношарову адсорбцію речовин з врахуванням міжмолекулярної взаємодії описує модель ізотерми Тьомкіна в області середніх значень концентрацій сорбата. Значення кореляційного параметра лінійних залежностей (R^2), наведені в таблиці 2, свідчать про те, що кількісні параметри ізотерми адсорбції ДНК на поверхні амінокремнезему найбільш точно

описуються моделями Ленгмюра та Тьомкіна ($R^2 \approx 0.99$). Проте розраховані параметри для всіх моделей можуть бути використані для характеристики цього процесу адсорбції, оскільки $R^2 > 0.97$.

Оскільки середнє значення енергії адсорбції, розрахованої за моделлю Дубініна-Радушкевича, знаходиться в діапазоні $8 < E < 16$ кДж/моль, то процес адсорбції ДНК на поверхні аміносилохрому здійснюється за іонообмінним механізмом та є самовільним, оскільки $\Delta G° < 0$. Характер адсорбції ДНК є сприятливим на даному сорбенті, про що свідчить величина безрозмірного рівноважного параметра Холла (R_L), який розраховується на основі константи Ленгмюра [37]. Значення R_L вказує на характер перебігу процесу: необоротний ($R_L = 0$), сприятливий ($0 < R_L < 1$), лінійний ($R_L = 1$) або несприятливий ($R_L > 1$). Підтвердженням цьому є й значення розрахованого за рівнянням Фрейндліха параметра $1/n$, який є мірою інтенсивності сорбції, показником сили і характеру даного процесу. При значеннях $1/n < 1$ процес адсорбції на даному адсорбенті є сприятливим. Цей параметр також характеризує однорідність поверхні: чим він менший, тим більша неоднорідність адсорбента. Величини констант, розраховані з використанням моделей Ленгмюра та Тьомкіна, свідчать про те, що молекули ДНК досить міцно зв'язуються з поверхнею сорбента.

Таблиця 2. Параметри, розраховані за ізотермами адсорбції ДНК на поверхні аміносилохрому

Модель адсорбції	Параметри моделі	Значення параметрів
Ленгмюр	K_L, л/моль	6833.37
	$\log K_L$	3.83
	A_{max}, моль/г	$2.68 \cdot 10^{-4}$
	$\Delta G°$, кДж/моль	-21.51
	R_L, (C_0, моль/л)	0.7099
	R^2	0.9972
Фрейндліх	K_F, л/моль	0.01368
	$\log K_F$	-1.8639
	$1/n$	0.5352
	R^2	0.9669
Дубінін-Радушкевич	K_{DR}, моль^2/кДж^2	0.00497
	$\log K_{DR}$	-2.304
	A_{max}, моль/г	$1.23 \cdot 10^{-3}$
	E, кДж/моль	10.03
	R^2	0.9765
Тьомкін	K_T, кДж·г/моль^2	87815.05
	$\log K_T$	4.94
	R^2	0.9915



a *b*

Рис. 6. СЕМ-зображення поверхонь модифікованого аміносиланом силохрому (*а*) та бінарної системи аміносилохром-ДНК (*б*)

Поверхню модифікованого силохрому та адсорбційної системи аміносилохром-ДНК було досліджено за допомогою скануючого електронного мікроскопа (рис. 6 *а*, *б*).

На знімку чітко видно, що частинки модифікованого силохрому (рис. 6 *а*) рівномірно вкриті шаром адсорбата у вигляді рівномірного напилення (рис. 6 *б*). При цьому поверхня зразка стає більш ущільненою за рахунок покриття сорбованою нуклеїновою кислотою.

ВИСНОВКИ

Досліджено адсорбцію ДНК на поверхні модифікованого аміносиланом силохрому з водного розчину в залежності від pH середовища та концентрації нуклеїнової кислоти. Встановлено механізм взаємодії ДНК з поверхнею даного сорбента. Модифікований силохром було отримано шляхом обробки вихідного силохрому 3-амінопропілтриетоксисиланом. Методом низькотемпературної адсорбції/десорбції азоту показано, що модифікація силохрому призводить до зменшення питомої поверхні з 143 до 129 $м^2/г$ та об'єму пор з 0.95 до 0.43 $см^3/г$ порівняно з вихідним сорбентом. Проте іммобілізація амінопропільних груп на поверхні силохрому змінює заряд поверхні одержаного сорбента, що підтверджено методом потенціометричного титрування. Показано, що рушійною силою адсорбції є електростатична взаємодія між позитивно зарядженими амінопропільними групами поверхні та аніонами нуклеїнової кислоти – негативно зарядженим фосфатним остовом молекул. Не виключено, що адсорбція ДНК в кислій області може здійснюватися за рахунок дисперсійних чи водневих зв'язків між функціональними групами поверхні та високополярними вторинними фосфатними групами на зовнішній поверхні молекули нуклеїнової кислоти. Розраховані термодинамічні параметри цього адсорбційного процесу показують, що він є самовільним та відбувається за іонообмінним механізмом. Величини констант $\lg K = 3.83$ та 4.94, розраховані з використанням моделей Ленгмюра та Тьомкіна відповідно, свідчать про те, що молекули ДНК досить міцно зв'язуються з поверхнею сорбента. В свою чергу хімічна модифікація поверхні кремнезему (силохрому) дозволяє контролювати силу адсорбційної взаємодії, зберігаючи функціональність адсорбата, та може забезпечити оборотність процесу в спеціально підібраних умовах. Реалізація електростатичної взаємодії між аміносилохромом та ДНК дозволяє певним чином стабілізувати структуру нуклеїнової кислоти, створюючи можливість подальшої її взаємодії шляхом інтеркаляції з біологічно активними речовинами. Це, в свою чергу, дозволить використовувати такі органо-мінеральні системи як біосумісні носії та як модельні структури в біотехнологічних, медичних і каталітичних дослідженнях.

Interaction of deoxyribonucleic acid with silochrome modified by aminosilane

O.V. Markitan, R.B. Kozakevych, D.S. Kamenskyh, V.A. Tertykh

Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 Oleg Mudrak Str., Kyiv, 03164, Ukraine, kammar@ukr.net
Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
1 Academician Kukhar Str., Kyiv, 02094, Ukraine, kam04@ukr.net
V. Bakul Institute for Superhard materials of National Academy of Sciences of Ukraine
2 Avtozavodskaya Str., Kyiv, 04074, Ukraine, kam04@ukr.net

Materials capable of sorbing nucleic acids are in great demand for the development of sensor systems for biological purposes, analytical separation, and gene delivery. Due to their unique properties, nanoscale oxide materials are increasingly becoming the basis of research and development of new catalytic and sensor systems. Silicas are of particular interest. The stability of their physicochemical parameters, significant rate of reaching equilibrium, large surface areas, and mechanical stability contribute to the wide use of these materials for modification and immobilization on their surface various functional groups. Chemical modification of the silica

surface allows one to control the strength of the adsorption interaction of substances with the surface, preserving the functionality of the adsorbate, ensuring the reversibility of the process and increasing the selectivity of materials.

The purpose of this work was to study the adsorption of deoxyribonucleic acid from an aqueous solution on the surface of silochrome modified with 3-aminopropyltriethoxysilane, depending on the pH of the medium and the concentration of the adsorbate. It has been shown that the driving force of adsorption is the electrostatic interaction between positively charged aminopropyl groups of the sorbent surface and nucleic acid anions. Adsorption of DNA in the acidic region can be carried out due to dispersion forces or hydrogen bonds between surface functional groups and highly polar secondary phosphate groups on the outer surface of the nucleic acid molecule. Based on the calculated thermodynamic parameters, the process of interaction of deoxyribonucleic acid with the surface of aminosilane modified silochrome is believed to be spontaneous and proceeds according to the ion-exchange mechanism, as a result of which sorbate molecules bind to the surface quite strongly. The implementation of electrostatic interaction between aminosylochrome and deoxyribonucleic acid allows to stabilize its structure in a certain way, creating the possibility of further interaction by intercalation with biologically active substances. This will allow the use of such organo-mineral systems as biocompatible carriers and as model structures in biotechnological, medical, and catalytic research.

***Keywords**: silochrome, chemical modification, deoxyribonucleic acid, adsorption, isotherm, adsorption models*

ЛІТЕРАТУРА

1. *Seeman N.C.* Nucleic acid junctions and lattices // J. Theor. Biol. – 1982. – V. 99, N 2. – P. 237–247.
2. *Dietz H., Douglas S.M., Shih W.M.* Folding DNA into Twisted and Curved Nanoscale Shapes // Science. – 2009. – V. 325, N 5941. – P. 725–730.
3. *Han D., Pal S., Nangreave J. et al.* DNA Origami with Complex Curvatures in Three-Dimensional Space // Science. – 2011. – V. 332, N 6027. – P. 342–346.
4. *Rothemund P.W.K*. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns // Nature. – 2006. – V. 440, N 7082. – P. 297–302.
5. *Linko V., Ora A., Kostiainen M.A.* DNA nanostructures as smart drug-delivery vehicles and molecular devices // Trends Biotechnol. – 2015. – V. 33, N 10. – P. 586–594.
6. *Yang H., Feng Q*. Direct synthesis of pore-expanded amino-functionalized mesoporous silicas with dimethyldecylamine and the effect of expander dosage on their characterization and decolorization of sulphonated azo dyes // Microporous Mesoporous Mater. – 2010. – V. 135, N 1–3. – P. 124–130.
7. *Yang H., Feng Q*. Characterization of pore-expanded amino-functionalized mesoporous silicas directly synthesized with dimethyldecylamine and its application for decolorization of sulphonated azo dyes // J. Hazard. Mater. – 2010. – V. 180, N 1–3. – P. 106–114.
8. *Andrzejewska A., Krysztafkiewicz A., Jesionowski T.* Treatment of textile dye wastewater using modified silica // Dyes Pigm. – 2007. – V. 75, N 1. – P. 116–124.
9. *Joo J.B., Park J., Yi J.* Preparation of polyelectrolyte-functionalized mesoporous silicas for the selective adsorption of anionic dye in an aqueous solution // J. Hazard. Mater. – 2009. – V. 168, N 1. – P. 102−107.
10. *Asouhidou D.D., Triantafyllidis K.S., Lazaridis N.K., Matis K.A*. Adsorption of Remazol Red 3BS from aqueous solutions using APTES- and cyclodextrinmodified HMS-type mesoporous silicas // Colloids Surf., A. − 2009. − V. 346, N 1–3. − P. 83−90.
11. *Mahmoodi N.M., Khorramfar S., Najafi F*. Amine-functionalized silica nanoparticle: Preparation, characterization and anionic dye removal ability // Desalination. – 2011. – V. 279, N 1–3. – P. 61–68.
12. *Cestari A.R., Vieira E.F.S., Vieira G.S., Almeida L.E.* The removal of anionic dyes from aqueous solutions in the presence of anionic surfactant using aminopropylsilica – a kinetic study // J. Hazard. Mater. – 2006. – V. 138, N 1. – P. 133–141.
13. *Donia A.M., Atia A.A., Al-amrani W.A., El-Nahas A.M.* Effect of structural properties of acid dyes on their adsorption behaviour from aqueous solutions by amine modified silica // J. Hazard. Mater. – 2009. – V. 161, N 2–3. – P. 1544–1550
14. *Cestari A.R., Vieira E.F.S., Vieira G.S. et al.* The removal of reactive dyes from aqueous solutions using chemically modified mesoporous silica in the presence of anionic surfactant – the temperature dependence and a thermodynamic multivariate analysis // J. Hazard. Mater. – 2009. – V. 161, N 1. – P. 307–316.
15. *Pavan F.A., Dias S.L.P., Lima E.C., Benvenutti E.V.* Removal of Congo red from aqueous solution by anilinepropylsilica xerogel // Dyes Pigm. – 2008. – V. 76, N 1. – P. 64–69.

16. *Fang Y., Huang X-J., Chen P-C, Xu Z-K.* Polymer materials for enzyme immobilization and their application in bioreactors // BMB Reports. – 2011. – V. 44, N 2. – P. 87–95.
17. *Karimi M., Chaudhury I., Jianjun C. et al.* Immobilization of endo-inulinase on non-porous amino functionalized silica nanoparticles // J. Mol. Catal. B: Enzym. – 2014. – V. 104. – P. 48–55.
18. *Orçaire O., Buisson P., Pierre A.C.* Application of silica aerogel encapsulated lipases in the synthesis of biodiesel by transesterification reactions // J. Mol. Catal. B: Enzym. – 2006. – V. 42, N 3–4. – P. 106–113.
19. *Chen Z., Hsu F-C., Battigelli D., Chang H-C.* Capture and release of viruses using amino-functionalized silica particles // Anal. Chim. Acta. – 2006. – V. 569, N 1–2. – P. 76–82.
20. *Carré A., Lacarrière V., Birch W.* Molecular interactions between DNA and an aminated glass substrate // J. Colloid Interface Sci. – 2003. – V. 260, N 1. – P. 49–55.
21. *Balladur V.V., Theretz A., Mandrand B.* Determination of the Main Forces Driving DNA Oligonucleotide Adsorption onto Aminated Silica Wafers // J. Colloid Interface Sci. – 1997. –V. 194, N 2. – P. 408–418.
22. *Tuite E., Kelly J.M.* The Interaction of Methylene Blue, Azure B, and Thionine with DNA: Formation of Complexes with Polynucleotides and Mononucleotides as Model Systems // Biopolymers. – 1995. – V. 35, N 5. – P. 419–433.
23. *Aslanoglu M.* Electrochemical and spectroscopic studies of the interaction of proflavine with DNA // Anal. Sci. – 2006. – V. 22, N 3. – P. 439–443.
24. *Bereznyak E.G., Gladkovskaya N.A., Khrebtova A.S. et al.* Peculiarities of DNA–Proflavine Binding under Different Concentration Ratios // Biophysics. – 2009. – V. 54, N 5. – P. 574–580.
25. *Thommes M., Kaneko K., Neimark A.V. et al.* Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report) // Pure Appl. Chem. – 2015. – V. 87, N 9–10. – P. 1051–1069.
26. *Власова Н.Н.* Адсорбция аминокислот на поверхности диоксида церия // Коллоид. журн. – 2016. – Т. 78, № 6. – С. 700–706.
27. *Saenger W.* Principles of nucleic acids structure. Advansed texts in chemistry series. – New York: Springer-Verlag, 1983. – 556 pp.
28. *Ленинджер А.* Биохимия: молекулярные основы структуры и функций клетки. – Москва: Мир, 1976. – 960 с.
29. *Thaplyal P., Bevilacqua P.C.* Chapter Nine – Experimental Approaches for Measuring pK_a's in RNA and DNA // Methods Enzymol. – 2014. – V. 549. – P. 189–219.
30. *Suzuki H., Amano T., Toyooka T.* Preparation of DNA-adsorbed TiO_2 particles with high performance for purification of chemical pollutants // Environ. Sci. Technol. – 2008. – V. 42, N 21. – P. 8076–8082.
31. *Abu-Salah Kh.M., Ansari A.A., Alrokayan S.A.* DNA-Based Applications in Nanobiotechnology // J. Biomed. Biotechnol. – 2010. – V. 2010. – P. 715295–715309.
32. *Sun Y., Kiang C-H.* DNA-based artificial nanostructures: Fabrication, properties, and applications. In: Handbook of Nanostructured Biomaterials and Their Applications in Nanobiotechnology. V. 1–2. – American Scientific Publishers, 2005. – 1049 p.
33. *Pautler R., Kelly E.Y., Huang P-J.J. et al.* Attaching DNA to nanoceria: regulating oxidase activity and fluorescence quenching // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2013. – V. 5, N 15. – P. 6820–6825.
34. *Langmuir I.* The constitution and fundamental properties of solids and liquids // J. Am. Chem. Soc. – 1916. – V. 38, N 11. – P. 2221–2295.
35. *Freundlich H.M.F.* Űber die Adsorption in Lösungen // Z. Phys. Chem. – 1906. – V. 57. – P. 385–470.
36. *Dubinin M.M., Radushkevich L.V.* On the equation of the characteristic curve for active coals // Proceedings of the USSR Academy of Sciences. – 1947. – V. 55. – P. 331–334.
37. *Hall K.R., Eagleton L.C., Acrivos A., Vermeulen T.* Pore and solid diffusion kinetics in fixed-bed adsorption under constant pattern conditions // Ind. Eng. Chem. Fundam. – 1966. – V. 5, N 2. – P. 212–223.

REFERENCES

1. Seeman N.C. Nucleic acid junctions and lattices. *J. Theor. Biol*. 1982. **99**(2): 237.
2. Dietz H., Douglas S.M., Shih W.M. Folding DNA into Twisted and Curved Nanoscale Shapes. *Science*. 2009. **325**(5941): 725.
3. Han D., Pal S., Nangreave J., Deng Z., Liu Y., Yan H. DNA Origami with Complex Curvatures in Three-Dimensional Space. *Science*. 2011. **332**(6027): 342.
4. Rothemund P.W.K. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature*. 2006. **440**(7082): 297.

5. Linko V., Ora A., Kostiainen M.A. DNA nanostructures as smart drug-delivery vehicles and molecular devices. *Trends Biotechnol*. 2015. **33**(10): 586.
6. Yang H., Feng Q. Direct synthesis of pore-expanded amino-functionalized mesoporous silicas with dimethyldecylamine and the effect of expander dosage on their characterization and decolorization of sulphonated azo dyes. *Microporous Mesoporous Mater.* 2010. **135**(1–3): 124.
7. Yang H., Feng Q. Characterization of pore-expanded amino-functionalized mesoporous silicas directly synthesized with dimethyldecylamine and its application for decolorization of sulphonated azo dyes. *J. Hazard. Mater*. 2010. **180**(1–3): 106.
8. Andrzejewska A., Krysztafkiewicz A., Jesionowski T. Treatment of textile dye wastewater using modified silica. *Dyes Pigm*. 2007. **75**(1): 116.
9. Joo J.B., Park J., Yi J. Preparation of polyelectrolyte-functionalized mesoporous silicas for the selective adsorption of anionic dye in an aqueous solution. *J. Hazard. Mater*. 2009. **168**(1): 102.
10. Asouhidou D.D., Triantafyllidis K.S., Lazaridis N.K., Matis K.A. Adsorption of Remazol Red 3BS from aqueous solutions using APTES- and cyclodextrinmodified HMS-type mesoporous silicas. *Colloids Surf., A.* 2009. **346**(1–3): 83.
11. Mahmoodi N.M., Khorramfar S., Najafi F. Amine-functionalized silica nanoparticle: Preparation, characterization and anionic dye removal ability. *Desalination*. 2011. **279**(1–3): 61.
12. Cestari A.R., Vieira E.F.S., Vieira G.S., Almeida L.E. The removal of anionic dyes from aqueous solutions in the presence of anionic surfactant using aminopropylsilica – a kinetic study. *J. Hazard. Mater.* 2006. **138**(1): 133.
13. Donia A.M., Atia A.A., Al-amrani W.A., El-Nahas A.M. Effect of structural properties of acid dyes on their adsorption behaviour from aqueous solutions by amine modified silica. *J. Hazard. Mater*. 2009. **161**(2–3): 1544.
14. Cestari A.R., Vieira E.F.S., Vieira G.S., Da Costa L.P, Tavares A.M.G., Loh W., Airoldi C. The removal of reactive dyes from aqueous solutions using chemically modified mesoporous silica in the presence of anionic surfactant – the temperature dependence and a thermodynamic multivariate analysis. *J. Hazard. Mater*. 2009. **161**(1): 307.
15. Pavan F.A., Dias S.L.P., Lima E.C., Benvenutti E.V. Removal of Congo red from aqueous solution by anilinepropylsilica xerogel. *Dyes Pigm*. 2008. **76**(1): 64.
16. Fang Y., Huang X-J., Chen P-C, Xu Z-K. Polymer materials for enzyme immobilization and their application in bioreactors. *BMB Reports.* 2011. **44**(2): 87.
17. Karimi M., Chaudhury I., Jianjun C., Safari M., Sadeghi R., Habibi-Rezaei M., Kokini J. Immobilization of endo-inulinase on non-porous amino functionalized silica nanoparticles. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 2014. **104**: 48.
18. Orçaire O., Buisson P., Pierre A.C. Application of silica aerogel encapsulated lipases in the synthesis of biodiesel by transesterification reactions. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 2006. **42**(3–4): 106.
19. Chen Z., Hsu F.-C., Battigelli D., Chang H.-C. Capture and release of viruses using amino-functionalized silica particles. *Anal. Chim. Acta*. 2006. **569**(1–2): 76.
20. Carré A., Lacarrière V., Birch W. Molecular interactions between DNA and an aminated glass substrate. *J. Colloid Interface Sci.* 2003. **260**(1): 49.
21. Balladur V.V., Theretz A., Mandrand B. Determination of the Main Forces Driving DNA Oligonucleotide Adsorption onto Aminated Silica Wafers. *J. Colloid Interface Sci.* 1997. **194**(2): 408.
22. Tuite E., Kelly J.M. The Interaction of Methylene Blue, Azure B, and Thionine with DNA: Formation of Complexes with Polynucleotides and Mononucleotides as Model Systems. *Biopolymers*. 1995. **35**(5): 419.
23. Aslanoglu M. Electrochemical and spectroscopic studies of the interaction of proflavine with DNA. *Anal. Sci*. 2006. **22**(3): 439.
24. Bereznyak E.G., Gladkovskaya N.A., Khrebtova A.S., Dukhopelnikov E.V., Zinchenko A.V. Peculiarities of DNA–Proflavine Binding under Different Concentration Ratios. *Biophysics*. 2009. **54**(5): 574.
25. Thommes M., Kaneko K., Neimark A.V., Olivier J.P., Rodriguez-Reinoso F., Rouquerol J., Sing K.S.W. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem*. 2015. **87**(9–10): 1051.
26. Vlasova N.N. Adsorption of amino acids on the surface of cerium dioxide. *Colloid. J*. 2016. **78**(6): 700. [in Russian].
27. Saenger W. *Principles of nucleic acids structure*. (Advansed texts in chemistry series. New York: Springer-Verlag, 1983).
28. Lehninger A. *Biochemistry: the molecular basis of cell structure and function*. (New York: Worth Publishers, Inc., 1972).

29. Thaplyal P., Bevilacqua P.C. Chapter Nine - Experimental Approaches for Measuring pK_a's in RNA and DNA. *Methods Enzymol*. 2014. **549**: 189.
30. Suzuki H., Amano T., Toyooka T. Preparation of DNA-adsorbed TiO_2 particles with high performance for purification of chemical pollutants. *Environ. Sci. Technol*. 2008. **42**(21): 8076.
31. Abu-Salah Kh.M., Ansari A.A., Alrokayan S.A. DNA-Based Applications in Nanobiotechnology. *J. Biomed. Biotechnol*. 2010. **2010**: 715295.
32. Sun Y., Kiang C-H. DNA-based artificial nanostructures: Fabrication, properties, and applications. In: *Handbook of Nanostructured Biomaterials and Their Applications in Nanobiotechnology*. (American Scientific Publishers, 2005).
33. Pautler R., Kelly E.Y., Huang P-J. J., Cao J., Liu B., Liu J. Attaching DNA to nanoceria: regulating oxidase activity and fluorescence quenching. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2013. **5**(15): 6820.
34. Langmuir I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. *J. Am. Chem. Soc.* 1916. **38**(11): 2221.
35. Freundlich H.M.F. Űber die Adsorption in Lösungen. *Z. Phys. Chem*. 1906. **57**: 385.
36. Dubinin M.M., Radushkevich L.V. On the equation of the characteristic curve for active coals. *Proceedings of the USSR Academy of Sciences*. 1947. **55**: 331.
37. Hall K.R., Eagleton L.C., Acrivos A., Vermeulen T. Pore and solid diffusion kinetics in fixed-bed adsorption under constant pattern conditions. *Ind. Eng. Chem. Fundam*. 1966. **5**(2): 212.

Надійшла 23.06.2024, прийнята 04.06.2025