# БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

УДК 535.375.51; 577.2.08

*Ф.Б. Байрамов [1,2], Е.Д. Полоскин [2], А.Л. Чернев [1,2], В.В. Топоров [2], М.В. Дубина[1], Е. Лахдеранта (E. Lähderanta) [3], А. Лашкул (A. Lashkul) [3], Г. Липсанен (H. Lipsanen)[4], Б.Х. Байрамов[2]*

[1] Санкт-Петербургский академический университет, Россия

[2] Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Россия

[3] Лаппеэнрантский технологический университет, Финляндия

[4] Университет Аалто, Финляндия

## РАМАНОВСКОЕ РАССЕЯНИЕ СВЕТА В ОЛИГОНУКЛЕОТИДАХ

Сообщается о детектировании спектров высокого спектрального разрешения высокочувствительным методом нерезонансного комбинационного рассеяния света в биомакромолекулах на примере одноцепочных коротких олигонуклеотидов d(20G, 20T), где d – дезоксирибонуклеотид, G – гуанин, T – тимин. Обнаружение узких спектральных линий позволило определить характерный масштаб времен и дало новые возможности для изучения динамики быстропротекающих релаксационных процессов колебательных движений атомов в биомакромолекулах. Установлено, что для одной из наиболее узких линий при 1355,4 $см^{-1}$, приписанной колебаниям метильной группы dT, полная ширина на половине ее высоты равна 14,6 $см^{-1}$; соответствующее время жизни оказалось равным 0,38 пс.

РАМАНОВСКОЕ РАССЕЯНИЕ СВЕТА, ОЛИГОНУКЛЕОТИДЫ, ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ, АМИДОФОСФИТНЫЙ МЕТОД.

### Введение

Синтетические олигонуклеотиды, получаемые путем химического синтеза, являются фрагментами дезоксирибонуклеиновых (ДНК) или рибонуклеиновых (РНК) кислот. Они представляют собой линейные полимеры, состоящие из фрагментов нуклеотидов (НК) с заданной химической структурной последовательностью. Нуклеотиды, в свою очередь, являются комбинацией азотистого основания, рибозы или дезоксирибозы и остатка фосфорной кислоты. Синтетические олигонуклеотиды находят многофункциональное применение во многих областях современной молекулярной биологии, генетической инженерии и медицине [1]. В частности, они используются в качестве зондов для определения комплементарных последовательностей ДНК и РНК или праймеров для секвенирования и амплификации ДНК при проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР). В настоящее время метод ПЦР можно отнести к одному из важнейших достижений молекулярной биофизики; он позволяет многократно копировать и получать большие фрагменты исследуемых последовательностей ДНК. При проведении ПЦР используются различные реакционные смеси, и одним из их основных компонентов являются синтетические олигонуклеотиды. Они служат затравкой – отправной точкой для начала синтеза новой цепи НК ферментом ДНК полимеразой.

На основе коротких синтетических олигонуклеотидов также интенсивно развиваются новые направления биотехнологии, связанные с конструированием и создани-

ем новейших лекарственных препаратов.

Таким образом, правильный дизайн, синтез и методы оценки степени чистоты олигонуклеотидов на молекулярном уровне, определяющие эффективность амплификации и их последующее применение, имеют решающее значение.

Современный синтез коротких олигонуклеотидов с заранее заданными химическими составными элементами и с определенной последовательностью мононуклеотидов – это высокотехнологичный, трудоемкий и дорогостоящий процесс. Он осуществляется наиболее экономичным путем, с помощью интенсивно развиваемых методов автоматического параллельного синтеза на многоканальных синтезаторах. Они синтезируются в несколько этапов и, как правило, в одной емкости. При этом используются реагенты очень высокой степени чистоты, очистка которых осуществляется с использованием новейших методов высокоэффективной жидкостной хроматографии, либо электрофореза в полиакриламидном геле.

Несмотря на все отмеченные достижения, различные пост-синтетические обработки (такие как удаление из его состава различных защитных функциональных групп, непрореагировавших компонентов и недостроенных продуктов) не способствуют получению особо чистых олигонуклеотидов.

Получение высокочистых олигонуклеотидов очень важно как в научных, так и в технологических целях. Чрезвычайно актуальными представляются исследования, направленные на фундаментальное понимание структуры и механизмов взаимодействия между отдельными атомами, молекулами и функциональными группами самих олигонуклеотидов, а также их зависимости от физико-химических свойств окружающей среды. Актуальной является необходимость развития и разработки новых эффективных методов изучения структуры олигонуклеотидов на молекулярном уровне.

### Существующие проблемы

Обычно визуализацию и выявление олигонуклеотидов осуществляют с использованием флуоресцентных красителей, которые встраиваются между отдельными мононуклеотидами. К недостаткам такого метода следует отнести возможное накопление неспецифического продукта, которое может приводить к росту флуоресценции в процессе ПЦР. Кроме того, атомы и молекулы красителей иногда сами вступают в химические реакции с атомами и молекулами олигонуклеотидов. Следовательно, для получения корректных сведений о молекулярной структуре и механизмах межмолекулярных взаимодействий необходимы новые методы, не использующие олигомеров, содержащих такие метки.

Эффективным аналитическим методом исследования структуры материалов на молекулярном уровне служит спектроскопия рамановского рассеяния света. С обнаружением эффекта гигантского поверхностного усиления рамановского рассеяния (SERS – Surface Enhanced Raman Scattering [2 – 4]) на 6 – 12 порядков величины в присутствии металлических наноструктур, на которых адсорбируются органические молекулы, интерес к этому важному явлению привлекает все возрастающее внимание исследователей [5 – 21]. Значительный интерес к SERS, помимо чисто научного, связан с новыми возможностями для создания высокочувствительных аналитических методик и развития высокоселективных биосенсорных технологий с вовлечением в исследования разных новых высокоэффективных наноструктурированных металлов (см., например, работу [21] и ссылки в ней). Для получения большого отклика системы важно, чтобы агрегирующие металлические наночастицы образовывали дискретные кластеры. Для их создания используются различные красители, адсорбированные на наночастицах, и к такой модифицированной поверхности присоединяются молекулы ДНК.

Несмотря на отсутствие единого мнения о механизмах такого усиления, считается, что поверхностно-усиленное рамановское рассеяние света вызывается совместным действием двух механизмов усиления: электромагнитного [5 – 7] и химического [8, 10, 12].

Большинство исследователей считают, что электромагнитный механизм доминирует при усилении. Он обусловлен значительным усилением напряженности локального электрического поля падающей световой волны вблизи шероховатостей на поверхностях металлических частиц путем резонансного возбуждения локализованных плазменных колебаний. При этом параметры такого резонансного возбуждения, масштаб усиления и спектральные характеристики существенно зависят от морфологии поверхности, проводимости металла и свойств диэлектрического окружения [21].

Помимо этого, для адсорбированных молекул, находящихся в непосредственном контакте с металлической поверхностью, может иметь место дополнительное усиление, которое обусловлено возникновением связи электронных орбиталей молекулы с состояниями зоны проводимости металла. Масштаб такого усиления может достигать одного-двух порядков величины [8], но при этом могут образовываться комплексы адсорбированных молекул с металлическими наночастицами.

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

## Задача исследования

Ключом к более корректным исследованиям может служить развитие высокочувствительных методов молекулярной спектроскопии, не использующих металлические наноструктуры и флуоресцентные метки.

Представленное исследование ставило целью разработать альтернативную высокочувствительную методику нерезонансной спектроскопии неупругого рассеяния света высокого спектрального разрешения, с тем, чтобы ее использовать для изучения молекулярной структуры и выяснения химической природы межмолекулярных и внутримолекулярных взаимодействий в синтетических олигонуклеотидах.

## Экспериментальная часть

Исследования рамановского рассеяния света выполнены для одноцепочных олигонуклеотидов 20G (гуанин) и 20T (тимин) нуклеотидных оснований – d(20G, 20T), синтезированных твердофазным амидофосфитным методом.

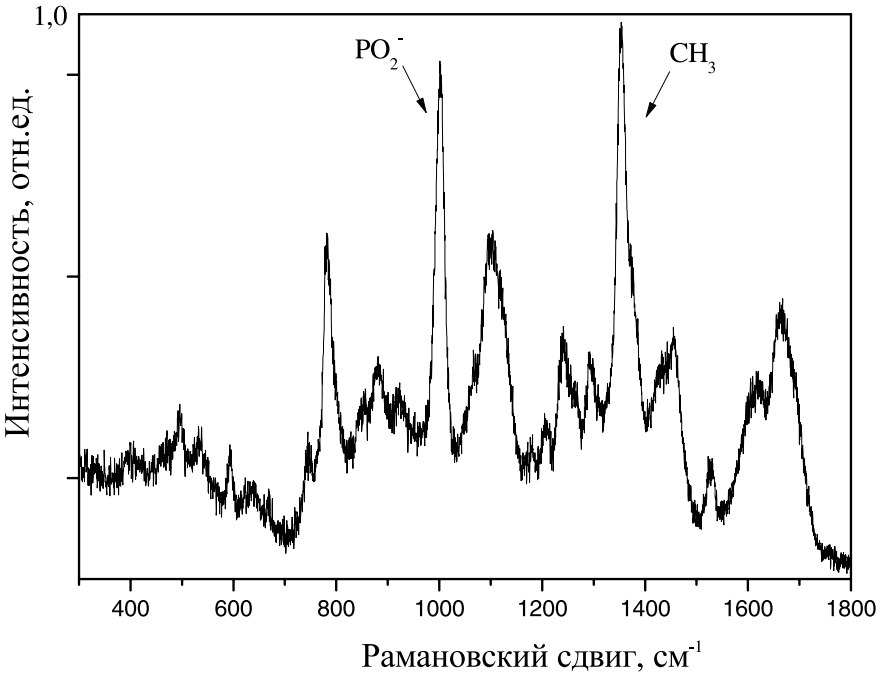
Спектры рамановского рассеяния света возбуждались излучением второй гармоники лазера на алюмо-иттриевом гранате с длиной волны $\lambda = 532{,}170$ нм по методике, приведенной в монографии [22]. Спектральный состав рассеянного света анализировался с помощью спектрометра LabRAM HR800 (Франция), с охлаждаемой ПЗС-матрицей в качестве детектора. Излучение мощностью 0,05 мВт фокусировалось на поверхность образца с использованием микроскопного объектива (Olympus) с усилением 100×. Диаметр лазерного пятна составлял в фокусе 0,9 мкм, что и задавало пространственное разрешение измерительной системы. Спектральное разрешение составляло 2 $см^{-1}$.

## Основные результаты и их обсуждение

Разработанная нами высокочувствительная методика спектроскопии неупругого рассеяния света высокого спектрального и пространственного разрешений, позволяет детектировать высококачественные спектры биомакромолекул. Типичный спектр нерезонансного комбинационного рассеяния света для синтетических одноцепочных олигонуклеотидов d(20G, 20T), полученный нами в диапазоне низких частот 150 – 1800 $см^{-1}$ (линия возбуждения – 532 нм), приведен на рисунке. Аналогичные спектры были зарегистрированы с использованием линии возбуждения 632,817 нм.

Независимость характера спектров от частоты возбуждающего излучения указывает на общность их происхождения, т. е. наблюдаемые спектральные особенности объектов обусловлены комбинационным рассеянием света (КРС).

В целом спектры КРС коротких олигонуклеотидов определяются их пространственной структурой, которая задается




Спектр нерезонансного комбинационного рассеяния света, полученный для синтетического олигонуклеотида d(20G, 20T) при температуре 300 K.
Длина волны возбуждающего лазерного излучения λ = 532 нм; спектральное разрешение $R$ = 2 см$^{-1}$

большим количеством входящих в нее атомов, совершающих колебания относительно положений равновесия. Соответственно, в спектрах КРС таких макромолекул для множества колебательных возбуждений и для всех функциональных групп неизбежно должны наблюдаться сильно перекрывающиеся спектральные вклады, которые генерируются большими наборами атомов и молекул. Такие полосы должны испытывать влияние как парных взаимодействий, так и окружающей среды. Макромолекулы коротких олигонуклеотидов, как и макромолекулы белков, не содержат ни центров инверсии, ни зеркальной симметрии. Структурное упорядочение таких систем (в любом масштабе) происходит вследствие низкой симметрии их элементарных ячеек.

Казалось бы, для биомакромолекул трудно ожидать наблюдения узких спектральных полос в процессах КРС. Однако немаловажной особенностью полученных нами спектров нерезонансного КРС (специально несглаженных) является совокупность множества спектральных линий (см. рисунок). Видно, что наряду с довольно широкими полосами, наблюдаются и достаточно узкие интенсивные спектральные линии. Естественным критерием реальности наблюдаемых спектральных особенностей может служить их строгая воспроизводимость в независимых сериях измерений. Наблюдаемые линии, несомненно, отражают химическую индивидуальность отдельных молекул в составе функциональных групп и их структурные свойства. При этом они определяются совокупностью и конфигурацией большого числа химических связей, а значит и валентными взаимодействиями между входящими в их состав атомами; последние определяют стабильность всей макромолекулы d(20G, 20T) и ее основные свойства.

Несмотря на высокую активность многоплановых экспериментальных исследований КРС в олигонуклеотидах и ДНК и достигнутые большие успехи (см., например, работы [9 – 21]), между спектрами, полученными при невысоком и высоком спектральных разрешениях, при их внешнем сходстве, имеются и принципиальные различия. В сильно сглаженных (из-за не-

большого отношения сигнал/шум) спектрах с перекрывающимися широкими полосами (в частности, и вследствие невысокого спектрального разрешения) не были выделены узкие спектральные линии, которые бы позволили выявить их естественную ширину. Соответственно, времена жизни колебательных состояний в биомакромолекулах не определялись.

В отличие от уже обсуждавшихся литературных данных, полученных с невысоким спектральным разрешением, когда наблюдались спектральные полосы существенно нелоренцевой формы, искаженные суперпозицией с другими спектральными линиями, наши прецизионные измерения контуров исследуемых спектральных линий позволяют выявить их лоренцеву форму. Это дает принципиально новые возможности для количественного исследования сложных молекулярных систем. Так, для наиболее узкой спектральной линии при 1355,4 $см^{-1}$, соответствующей колебаниям метильной группы dT, наблюдается существенное (в 2 − 3 раза) сужение ширины линии, по сравнению со спектрами, полученными для водного раствора олигонуклеотидов. Такое сужение до величины порядка естественной ширины позволило надежно выделить лоренцеву форму этой узкой линии с полушириной (полной шириной на половине высоты) $\Gamma = 1/2\pi c\tau$, где $c$ − скорость света, $\tau$ − время жизни возбуждения.

Непосредственное измерение естественной полуширины спектральной линии впервые дало возможность определить временной масштаб элементарных колебательных возбуждений в биомакромолекулах. Для измеренного значения полуширины $\Gamma = 14{,}6$ $см^{-1}$ соответствующее характерное время жизни для колебаний метильной группы dT при комнатной температуре оказалось равным 0,38 пс.

Таким образом, обнаружение узких спектральных линий делает возможным экспериментальное изучение внутренних динамических свойств быстропротекающих релаксационных процессов колебательных движений атомов в биомакромолекулах. Измеренная величина естественной полуширины линий и/или времени жизни колебательных состояний может также служить надежной мерой специфичности и степени совершенства молекулярной структуры биомакомолекул. Другая узкая полоса при 1000$см^{-1}$ характерна для фосфатных групп $PO_2^-$ сахарофосфатного остова спиральной структуры ДНК. Ее обнаружение прямо указывает на формирование устойчивой и стабильной пространственной молекулярной структуры синтезированных коротких одноцепочечных олигонуклеотидов длиной 40 нуклеотидов последовательности d(20G, 20T), состоящей из четырех витков спирали, а также сохранение этой структуры в лиофилизованном твердом состоянии. В целом, выводы об устойчивости, стабильности и высоком совершенстве молекулярной структуры синтезированных одноцепочечных олигонуклеотидов d(20G, 20T) также подтверждаются многими спектральными особенностями и наличием наиболее характерных максимумов, наблюдаемых во всем диапазоне частот на спектре (см. рисунок). Кроме того, полученные результаты прямо указывают на значительно б*о*льшую эффективность механизма подавления различных молекулярных взаимодействий в водном растворе олигонуклеотидов, чем влияние ангармонических взаимодействий элементарных колебаний их решетки.

## Заключение

Полученные в настоящей работе результаты показывают, что разработанная высокочувствительная методика рамановского рассеяния света высокого спектрального разрешения оказывается достаточной для обнаружения узких спектральных линий. Методика дает возможность выделить спектральные составляющие, которые отвечают колебаниям отдельных молекул, в сложных спектрах коротких олигонуклеотидов с достаточно большим количеством атомов в элементарной ячейке. Выделение лоренцевой формы таких узких линий позволяет получать новую информацию о динамических свойствах биомакромолекул, а именно − определять в них временной масштаб элементарных колебательных воз-

буждений. В частности, для наиболее узкой спектральной линии при 1355,4 $см^{-1}$, приписанной колебаниям метильной группы dT, полная ширина на половине ее высоты оказалось равной 14,6 $см^{-1}$, а соответствующее время жизни – 0,38 пс. Кроме того, обнаруженная узкая полоса при 1000 $см^{-1}$, характерная для фосфатных групп $PO_2^-$ сахарофосфатного остова спиральной структуры ДНК, указывает на формирование устойчивой и стабильной молекулярной структуры синтезированных коротких олигонуклеотидов d(20G, 20T), состоящей всего из четырех витков одноцепочечной спирали, и сохранение этой структуры в твердом состоянии.

Таким образом, высокочувствительная методика нерезонансного комбинационного рассеяния света высокого спектрального разрешения может быть успешно использована для исследования молекулярной структуры коротких синтетических олигонуклеотидов и ДНК. Результаты указывают на высокие потенциальные возможности и многообещающие перспективы использования обнаруженных узких линий в качестве спектральных маркеров; они позволяют изучать природу различного рода внутри- и межмолекулярных слабых взаимодействий, а также динамику молекулярных изменений и структурных флуктуаций в биомакромолекулах.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Marnix H., Medema M.H., Raaphorst R., Takano E., Breitling R.** Computational tools for the synthetic design of biochemical pathways. *Nature Reviews Microbiology*. 2012. Vol. 10. No. 3, pp. 191-202.

2. **Fleischmann M., Hendra P.J., McQuillan A.J.** Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem. Phys. Lett.* 1974. Vol. 26. No. 2, pp. 163-166.

3. **Jeanmaire D.L., Van Duyne R.P**. Surface Raman spectroelectro-chemistry Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. *J. Electroanal. Chem.* 1977. No. 84, pp. 1-20.

4. **Albrecht M.G., Creighton J.A**. Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. *Journal of the American Chemical Society*. 1977. Vol. 99. No.15, pp. 5215-5217.

5. **McCall S.L., Platzman P.M., Wolff P.A.** Surface enhanced Raman scattering. *Physics Letters A*. 1980. Vol. 77, Iss. 5, pp. 381-383.

6. **Wang D.-S., Kerker M., Chew H.W.** Raman and fluorescent scattering by molecules embedded in dielectric spheroids. *Appl. Opt.* 1980. Vol. 19. No. 14, pp. 2315-2328.

7. **Gersten J.I., Nitzan A.** Spectroscopic properties of molecules interacting with small dielectric particles. *J. Chem. Phys.* 1981. Vol. 75. No. 3, pp. 1139-1152.

8. **Otto A.** On light scattering in solids IV. Electronic scattering, spin effects, SERS and morphic effects (ed. by M. Cardona and G. Guntherodt). Berlin, Springer-Verlag, 1984, 530 p.

9. **Kneipp K., Fassler D.** SERS excitation profile investigation of a cyanine dye adsorbed on silver colloidal particles. *Chem. Phys. Lett.* 1984. Vol. 106. No. 6, pp. 498-502.

10. **Moskovits M.** Surface-enhanced spectroscopy. *Rev. Mod. Phys.* 1985. Vol. 57. No. 3, pp. 783-826.

11. **Набиев И.Р., Ефремов Р.Г., Чуманов Г.Д.** Гигантское комбинационное рассеяние и его применение к изучению молекул // УФН. 1988. Т. 154. Вып. 3. С. 459–496.

12. **Otto A., Mrozek I., Grabhorn H., Akemann W.** Surface-enhanced Raman scattering. *J. Phys.: Condens. Matter*. 1992. Vol. 4. No. 5, pp. 1143-1212.

13. **Kneipp K., Wang Y., Kneipp H., Perelman L.T., Itzkan I., Dasari R.R., Feld M.S.** Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Physical Review Letters*. 1997. Vol. 78. No. 9, pp. 1667-1670.

14. **Nie S., Emory S.R.** Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. *Science*. 1997. Vol. 275. No. 5303, pp. 1102-1106.

15. **Campion A., Kambhampati P.** Surface enhanced Raman scattering. *Chem. Soc. Rev.* 1998. Vol. 27. No. 4, pp. 241-249.

16. **Cao Y.C., Jin R., Mirkin C.A.** Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for

DNA and RNA detection. *Science*. 2002. Vol. 297. No. 5586, pp. 1536-1540.

17. **Drachev V.P., Thoreson M.D., Khaliullin E.N., Davison V.J., Shalaev V.M.** Surface-enhanced Raman difference spectroscopy with adaptive nanostructures: Human insulin and insulin lispro. *Journal of Physical Chemistry*. 2004. Vol. 108. No. 46, pp. 18046-18052.

18. **Vo-Dinh T., Yan F., Wabuyele M.B.** Surface-enhanced Raman scattering for medical diagnostics and biological imaging. *J. Raman Spectrosc*. 2005. Vol. 36. No. 6-7, pp. 640-647.

19. **Qian X., Peng X., Ansari D.O., Yin-Goen Q., Chen G.Z., Shin M.D., Yang L., Young A.N., Wang M.D., Nie S.** *In vivo* tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags. *Nature Biotechnology*. 2008. Vol. 26. No. 1, pp. 83-90.

20. **Sun L., Irudayar J.** Quantitative surface-enhanced Raman for gene expression estimation. *Biophysical Journal*. 2009. Vol. 96. No. 11, pp. 4709-4716.

21. **Кукушкин В.И., Ваньков А.Б., Кукушкин И.В.** К вопросу о дальнодействии поверхностно-усиленного рамановского рассеяния // Письма в ЖЭТФ. 2013. Т. 98. № 2. С. 72–77.

22. **Байрамов Б.Х., Топоров В.В., Байрамов Ф.Б., Irmer G., Dutta M., Stroscio M.A.** Неупругое резонансное рассеяние света в полупроводниках: от объемных материалов до квантовых точек, функционализированных с биомедицинскими структурами. Коллективная монография, Комбинационное рассеяние – 80 лет исследований, М.: ФИАН им. П.Н. Лебедева, 2008. С. 326–338.

23. **Bayramov F.B., Irmer G., Toporov V.V., Bairamov B.H.** Structural, optical and electrical properties of semiconductor compounds studied by means of inelastic light scattering from phonon, electron and coupled electron-phonon excitations: From bulk to nanoscale structures. *Jap. J. Appl. Phys*. 2011. Vol. 50. No. 5. Iss. 3. 05FE06 (4 p.).

24. **Байрамов Ф.Б., Топоров В.В., Полоскин Е.Д, Байрамов Б.Х., Roder C., Sprung.C., Bohmhammel K., Seidel J., Irmer G., Lashkul A., Lahderanta E., Song Y.W.** Резонансное неупругое рассеяние света и фотолюминесценция в изолированных коллоидных квантовых точках nc-Si/$SiO_2$ // ФТП. 2013. Т. 47. № 5. С. 608–612.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**БАЙРАМОВ Фарид Бахыш-оглы** – *кандидат физико-математических наук, научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологий Санкт-Петербургского академического университета – Научно-образовательного центра нанотехнологий РАН.*
194021, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8, к. 3.
pharrid@gmail.com

**ПОЛОСКИН Егор Дмитриевич** – *младший научный сотрудник лаборатории оптики полупроводников Физико-технического института им. А.Ф. Иоффе РАН.*
194021, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26
e.poloskin@mail.ioffe.ru

**ЧЕРНЕВ Андрей Леонидович** – *аспирант кафедры нанобиотехнологий, младший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологий Центра нанотехнологий Санкт-Петербургского академического университета – Научно-образовательного центра нанотехнологий РАН.*
194021, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8, к. 3
chernev.andrew@gmail.com

**ТОПОРОВ Владимир Васильевич** – *кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории оптики полупроводников Физико-технического института им. А.Ф. Иоффе РАН.*
194021, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26
toporov@mail.ioffe.ru

**ДУБИНА Михаил Владимирович** – *член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, первый проректор по научной и учебной работе, директор центра, зав. лабораторией нанобиотехнологий Санкт-Петербургского академического университета – Научно-образовательного центра нанотехнологий РАН.*
194021, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Хлопина, 8, к. 3
michael.dubina@gmail.com

**ЛАХДЕРАНТА Эрки (LÄHDERANTA E.)** – *доктор наук, профессор Лаппеэнрантского технологического университета, г. Лаппеэнранта, Финляндия.*
Lappeenranta University of Technology, Lappeenranta, FI-53851, Finland.

**ЛАШКУЛ АЛЕКСАНДР (LASHKUL A.)** – *доктор наук, сотрудник Лаппеэнрантского технологического университета, г. Лаппеэнранта, Финляндия.*
Lappeenranta University of Technology, Lappeenranta, FI-53851, Finland.

**ЛИПСАНЕН Гарри (LIPSANEN H.)** – *доктор наук, профессор университета Аалто, г. Хельсинки, Финляндия.*
Department of Micro- and Nanosciencies, Micronova, Aalto Unversity, FI-00076, Aalto, Finland.

**БАЙРАМОВ Бахыш Халил-оглы** – *доктор физико-математических наук, главный научный сотрудник лаборатории оптики полупроводников, профессор Физико-технического института им. А.Ф. Иоффе РАН.*
194021, Россия, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26
bairamov@mail.ioffe.ru

---

## *Bayramov F.B., Poloskin E.D., Chernev A.L., Toporov V.V., Dubina M.V., Lähderanta E., Lashkul A., Lipsanen H., Bairamov B.H.* RAMAN SCATTERING OF LIGHT IN OLIGONUCLEOTIDES.

The purpose of our investigation was to develop a highly sensitive technique of the Raman light scattering spectroscopy with high spectral resolution for later use as an experimental procedure for closer examination of molecular structure and clarification of the chemical nature of intermolecular and intramolecular interactions in synthetic oligonucleotides. This task has been accomplished with optimal results. High resolution spectra being sensitive to secondary, tertiary, and quaternary structures were obtained by a highly sensitive method of non-resonant Raman scattering of light in biomacromolecules through the example of single-stranded short oligonucleotides (20G, 20T), where d – deoxynucleotide, G – guanine, T – thymine. The high-quality compounds involved were synthesized using the solid-phase phosphoroamidite method.

The detection of narrow spectral lines allowed to determine the characteristic scale of times and gave new opportunities for studying the dynamics of fast relaxation processes of vibrational motions of atoms in biomacromolecules. The full width at its half-height for one of the narrowest lines (1355.4 $cm^{-1}$) was found to be 14.6 $cm^{-1}$; this line belongs to the vibrations of methyl group of dT. The corresponding lifetime was equal to 0.38 ps.

RAMAN SCATTERING OF LIGHT, OLIGONUCLEOTIDES, SOLID-PHASE SYNTHESIS, PHOSPHORAMIDITE METHOD.

### REFERENCES

1. **Marnix H., Medema M.H., Raaphorst R., Takano E., Breitling R.** Computational tools for the synthetic design of biochemical pathways. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, Vol. 10. No. 3, pp. 191-202.

2. **Fleischmann M., Hendra P.J., McQuillan A.J.** Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem. Phys. Lett.*, 1974, Vol. 26, No. 2, pp. 163-166.

3. **Jeanmaire D.L., Van Duyne R.P**. Surface Raman spectroelectro-chemistry. Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. *J. Electroanal. Chem.*, 1977, No. 84, pp. 1-20.

4. **Albrecht M.G., Creighton J.A**. Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. *Journal of the American Chemical Society*, 1977, Vol. 99. No. 15, pp. 5215-5217.

5. **McCall S.L., Platzman P.M., Wolff P.A.** Surface enhanced Raman scattering. *Physics Letters. A.*, 1980, Vol. 77, Iss. 5, pp. 381-383.

6. **Wang D.-S., Kerker M., Chew H.W.** Raman and fluorescent scattering by molecules embedded in dielectric spheroids. *Appl. Opt.,* 1980, Vol. 19, No. 14, pp. 2315-2328.

7. **Gersten J.I., Nitzan A.** Spectroscopic properties of molecules interacting with small dielectric particles. *J. Chem. Phys.*, 1981, Vol. 75, No. 3, pp. 1139-1152.

8. **Otto A.** *Light scattering in solids IV. Electronic*

*scattering, spin effects, SERS and morphic effects* (ed. by M. Cardona and G. Guntherodt). Berlin, Germany Springer-Verlag, 1984, 530 p.

9. **Kneipp K., Fassler D.** SERS excitation profile investigation of a cyanine dye adsorbed on silver colloidal particles. *Chem. Phys. Lett.*, 1984, Vol. 106, No. 6, pp. 498-502.

10. **Moskovits M.** Surface-enhanced spectroscopy. *Rev. Mod. Phys.*, 1985, Vol. 57, No. 3, pp. 783-826.

11. **Nabiev I.R., Efremov R.G., Chumanov G.D.** Gigantskoe kombinatsionnoe rasseyanie i ego primenenie k izucheniyu molekul. *UFN*, 1988, Vol. 154, Iss. 3, pp. 459-496. (rus)

12. **Otto A., Mrozek I., Grabhorn H., Akemann W.** Surface-enhanced Raman scattering. *J. Phys.: Condens. Matter*, 1992, Vol. 4, No. 5, pp. 1143-1212.

13. **Kneipp K., Wang Y., Kneipp H., Perelman L.T., Itzkan I., Dasari R.R., Feld M.S.** Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Phys. Rev. Lett.*, 1997, Vol. 78, No. 9, pp. 1667-1670.

14. **Nie S., Emory S.R.** Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. *Science,* 1997, Vol. 275, No. 5303, pp. 1102-1106.

15. **Campion A., Kambhampati P.** Surface enhanced Raman scattering. *Chemical Soc. Rev.*, 1998, Vol. 27, No. 4, pp. 241-249.

16. **Cao Y.C., Jin R., Mirkin C.A.** Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection. *Science*, 2002, Vol. 297, No. 5586, pp. 1536-1540.

17. **Drachev V.P., Thoreson M.D., Khaliullin E.N., Davison V.J., Shalaev V.M.** Surface-enhanced Raman difference spectroscopy with adaptive nanostructures: Human insulin and insulin lispro. *J. Phys. Chem.*, 2004, Vol. 108. No. 46, pp. 18046-18052.

18. **Vo-Dinh T., Yan F., Wabuyele M.B**. Surface-enhanced Raman scattering for medical diagnostics and biological imaging. *J. Raman Spectrosc.*, 2005, Vol. 36. No. 6-7, pp. 640-647.

19. **Qian X., Peng X., Ansari D.O., Yin-Goen Q., Chen G.Z., Shin M.D., Yang L., Young A.N., Wang M.D., Nie S.** *In vivo* tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags. *Nature Biotechnology*, 2008, Vol. 26, No. 1, pp. 83-90.

20. **Sun L., Irudayar J.** Quantitative surface-enhanced Raman for gene expression estimation. *Biophysical Journal*, 2009, Vol. 96, No. 11, pp. 4709-4716.

21. **Kukushkin V.I., Van'kov A.B., Kukushkin I.V.** K voprosu o dal'nodeystvii poverkhnostno-usilennogo ramanovskogo rasseyaniya. *Pis'ma v ZhETF*, 2013, Vol. 98, No. 2, pp. 72-77. (rus)

22. **Bayramov B.Kh., Toporov V.V., Bayramov F.B., Irmer G., Dutta M., Stroscio M.A**. *Neuprugoe rezonansnoe rasseyanie sveta v poluprovodnikakh: ot ob''emnykh materialov do kvantovykh tochek, funktsionalizirovannykh s biomeditsinskimi strukturami. Kollektivnaya monografiya, Kombinatsionnoe rasseyanie - 80 let issledovaniy*, Moskva, FIAN im. P.N. Lebedeva, 2008, pp. 326-338. (rus)

23. **Bayramov F.B., Irmer G., Toporov V.V., Bairamov B.H.,** Structural, optical and electrical properties of semiconductor compounds studied by means of inelastic light scattering from phonon, electron and coupled electron-phonon excitations: From bulk to nanoscale structures. *Jap. J. Appl. Phys.*, 2011, Vol. 50, No. 5, Iss. 3, 05FE06 (4 p.).

24. **Bayramov F.B., Toporov V.V., Poloskin E.D., Bairamov B.H., Röder C., Sprung C., Bohmhammel G., Seidel K., Irmer G., Lashkul A., Lähderanta E., Song Y.W.** Resonance inelastic light scattering and photoluminescence of individual nc-Si/$SiO_2$ quantum dots. *FTT*, 2013, Vol. 47. pp. 608-612.

## THE AUTHORS

**BAYRAMOV Farid B.**
*St. Petersburg Academic University of the Russian Academy of Sciences*
8/3 Khlopina St., St. Petersburg, 195220, Russia
pharrid@gmail.com

**POLOSKIN Egor D.**
*Ioffe Physical Technical Institute of the Russian Academy of Sciences*
26 Politekhnicheskaya St., St. Petersburg, 194021, Russia
e.poloskin@mail.ioffe.ru

**CHERNEV Andrei L.**
*St. Petersburg Academic University of the Russian Academy of Sciences*
8/3 Khlopina St., St. Petersburg, 195220, Russia
chernev.andrew@gmail.com

**TOPOROV Vladimir V.**
*Ioffe Physical Technical Institute of the Russian Academy of Sciences*
26 Politekhnicheskaya St., St. Petersburg, 194021, Russia
toporov@mail.ioffe.ru

**DUBINA Michael V.**
*St. Petersburg Academic University of the Russian Academy of Sciences*
8/3 Khlopina St., St. Petersburg, 195220, Russia
michael.dubina@gmail.com

**LÄHDERANTA Erkki**
*Lappeenranta University of Technology*
Lappeenranta, FI-53851, Finland

**LASHKUL Alexander**
*Lappeenranta University of Technology*
Lappeenranta, FI-53851, Finland

**LIPSANEN Harri**
*Department of Micro- and Nanosciencies, Micronova, Aalto Unversity*
FI-00076, Aalto, Finland
harri.lipsanen@aalto.fi

**BAIRAMOV Bakhysh H.**
*Ioffe Physical Technical Institute of the Russian Academy of Sciences*
26 Politekhnicheskaya St., St. Petersburg, 194021, Russia
bairamov@mail.ioffe.ru

© Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, 2014