



## НАБЛЮДЕНИЕ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ В ПРАКТИКУМЕ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Е.Дубровин<sup>1</sup> к.ф.-м.н., Г.Мешков<sup>1</sup> к.ф.-м.н.,  
И.Яминский<sup>1, 2</sup> д.ф.-м.н. / yaminskiy@nanoscopy.ru

Успешное развитие технологий нередко шло по пути подражания природным объектам и процессам, получившего название биомимикрии. Среди известных примеров этого подхода к развитию технологий – создание самоочищающихся поверхностей (имитация поверхности лотоса), "липучки" (воспроизведение поверхности репейника), адгезивной ленты на основе межмолекулярного взаимодействия поверхностей, полученной имитацией поверхности лапы ящерицы-геккона, скоростных бесшумных поездов с носом, как у зимородка. Разумеется, и в нанотехнологиях биомимикрия имеет большой потенциал. Одним из наиболее простых (с точки зрения строения) природных объектов, размеры которых лежат в нанометровом диапазоне, являются вирусы. Наблюдение вируса табачной мозаики (ВТМ) с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) является как увлекательным, так и познавательным процессом.

**В**ирус (от лат. *virus* – яд) – микроскопическая частица, способная инфицировать клетки живых организмов. Вирусы являются облигатными паразитами – они не способны размножаться вне клетки. В настоящее время известны вирусы, размножающиеся в клетках растений, животных, грибов и бактерий (последних обычно называют бактериофагами). Вирусные частицы (вирионы) представляют собой белковую капсулу – капсид, содержащую геном вируса, представленный одной или несколькими молекулами ДНК или РНК. Капсид построен из капсомеров – белковых комплексов, состоящих, в свою очередь, из протомеров. Нуклеиновая кислота в комплексе с белками обозначается термином нуклеокапсид. Некоторые вирусы имеют также внешнюю липидную оболочку. Размеры различных вирусов колеблются от 20 до 500 и более нанометров. Вирионы часто имеют правильную геометрическую форму

## OBSERVATION OF THE TOBACCO MOSAIC VIRUS IN THE LABORATORY COURSE OF SCANNING PROBE MICROSCOPY

E.Dubrovin<sup>1</sup>, Ph.D., G.Meshkov<sup>1</sup>, Ph.D.,  
I.Yaminskiy<sup>1-2</sup> D.Sc. / yaminskiy@nanoscopy.ru

Successful development of the technologies was often followed the path of imitation of natural objects and processes, which called biomimicry. Among the well-known examples of this approach to technology development is creation of the self-cleaning surfaces (imitation of the lotus surface), "sticker" (imitation of the thistles surface), adhesive tape based on the intermolecular interaction of the surfaces obtained by simulation of surface of the gecko lizard paw, creating of high-speed silent trains with a nose like a kingfisher. Undoubtedly, the biomimicry has a great potential also in the nanotechnology. The viruses are ones of the simplest (in terms of structure) natural objects, whose dimensions are in the nanometer range. Observation of the tobacco mosaic virus (TMV) using atomic force microscopy (AFM) is both fascinating and informative processes.

**V**irus (from the Latin: *Virus* – poison) – a microscopic particle that can infect the cells of living organisms. The viruses are obligate parasites – they cannot reproduce themselves outside the cell. Today, the viruses reproduce themselves in the cells of plants, animals, fungi and bacteria (the latter usually called bacteriophages) are known. The virus particles (virions) represent proteinaceous capsule – capsid, containing the viral genome, presented by one or more molecules of DNA or RNA. The capsid is built of capsomeres – protein complexes, in turn consisting of the protomers. The nucleic acid in complex with proteins is denoted by the term nucleocapsid. Some viruses also have an outer lipid cover. The sizes of different viruses are ranged from 20 to 500 nm and more. The virions often have regular geometric shape (icosahedron, cylinder), more complicated structures also occurs (figs. 1-3).

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова  
<sup>2</sup> Центр перспективных технологий

<sup>1</sup> Lomonosov Moscow State University  
<sup>2</sup> Advanced Technologies Center



(икосаэдр, цилиндр), встречаются также и более сложные структуры (рис.1-3).

Первый известный вирус - ВТМ - был выделен русским исследователем Дмитрием Ивановским в 1882 году и более подробно изучен голландским ученым Мартинусом Бейжеринком в 1898 году. В настоящее время описано более 5000 типов вирусов. Вирусы являются одной из самых распространенных по численности форм существования органической материи на планете: воды мирового океана содержат колоссальное количество бактериофагов (около  $10^{11}$  частиц на миллилитр воды).

### РОЛЬ ВИРУСОВ В БИОЛОГИИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЧЕЛОВЕКОМ

Вирусы имеют генетические связи с представителями флоры и фауны Земли. Согласно последним исследованиям, геном человека более чем на 30% состоит из информации, кодируемой вирус-подобными элементами. С помощью вирусов может происходить так называемый горизонтальный перенос генов, т.е. передача генетической информации не от отца к сыну и т.д., а между двумя неродственными (или даже относящимися к разным видам) особями. Благодаря этому свойству вирусы вносят существенный вклад в биологическую эволюцию планеты.

Вирусы используют в молекулярной и клеточной биологии, так как с их участием можно создавать простые системы для изучения функций клеток. Например, использование вирусов помогло в понимании основных механизмов молекулярной генетики и иммунологии. Вирусы широко используют как переносчики генов в генной инженерии, и в частности при создании генетически модифицированных организмов (например, вирус мозаики цветной капусты). Лечение инфекционных болезней с помощью бактериофагов - фаговая терапия - активно развивается в последнее время, поскольку является альтернативой антибиотикам, имеющим побочные эффекты и низкую эффективность из-за приспособляемости бактерий к ним.

Вирусы являются многообещающим объектом для развития нанотехнологий (впрочем, применения, описанные выше, можно также отнести к этому виду технологий). С точки зрения науки о материалах вирусы являются органическими наночастицами, которые умеют проникать через стенки клеток-хозяев. Размеры и форма вирусов, а также количество и природа функциональных

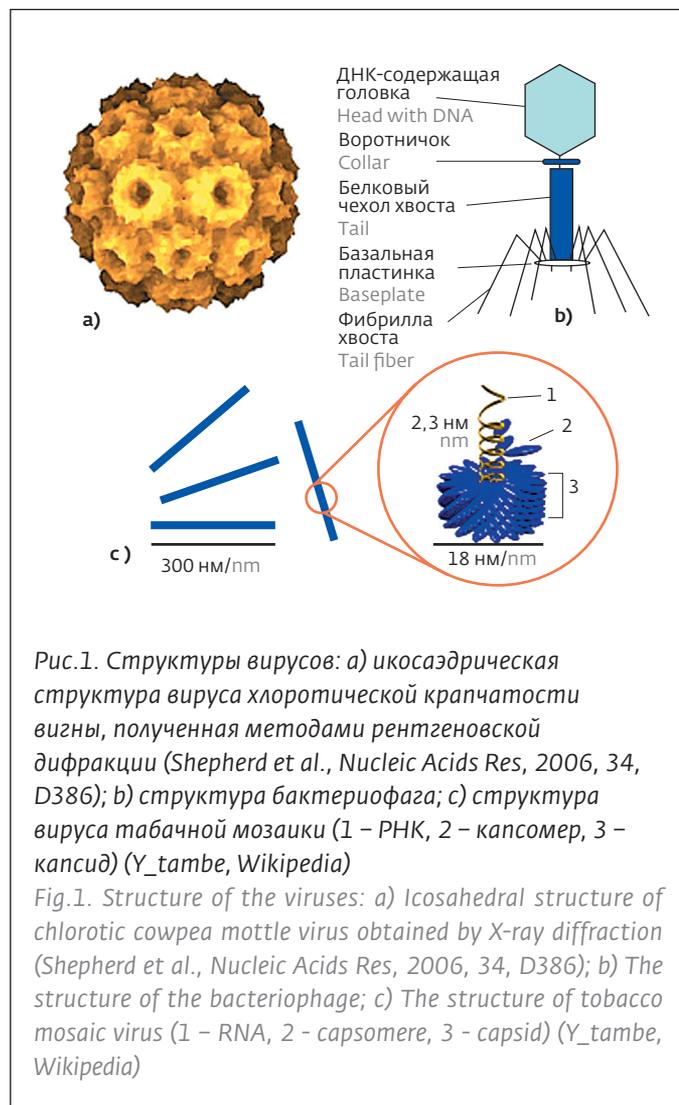


Рис.1. Структуры вирусов: а) икосаэдрическая структура вируса хлоротической крапчатости вигны, полученная методами рентгеновской дифракции (Shepherd et al., *Nucleic Acids Res*, 2006, 34, D386); б) структура бактериофага; в) структура вируса табачной мозаики (1 - РНК, 2 - капсомер, 3 - капсид) (Y\_tambe, Wikipedia)

Fig.1. Structure of the viruses: a) Icosahedral structure of chlorotic cowpea mottle virus obtained by X-ray diffraction (Shepherd et al., *Nucleic Acids Res*, 2006, 34, D386); b) The structure of the bacteriophage; c) The structure of tobacco mosaic virus (1 - RNA, 2 - capsomere, 3 - capsid) (Y\_tambe, Wikipedia)

The first known virus - TMV - was grown by Russian researcher Dmitry Ivanovsky in 1882 and studied in details by Dutch scientist Martinus Beyzherink in 1898. Currently, over 5,000 types viruses are described. The viruses are one of the most common forms of existence of organic matter in the world by the number: the ocean's contain a colossal amount of bacteriophages (about  $10^{11}$  particles per milliliter of water).

### ROLE OF VIRUSES IN THE BIOLOGY AND ITS USE BY THE HUMAN

The viruses have a genetic connection with the flora and fauna of the Earth. According to the recent studies, the human genome on more than 30% consists of the information encoded by the virus-like elements. The so-called horizontal gene transfer can occur with the help of viruses, i.e. the transfer of genetic information not from



групп на их поверхности точно определены, благодаря чему вирусы можно использовать как шаблоны для организации материала на наномасштабе. Например, частицы вируса мозаики вигны (CPMV) были применены для усиления сигнала биосенсора, основанного на ДНК-матрице. В этой работе вирусными частицами разделяли флуоресцентные красители, чтобы препятствовать возникновению нефлуоресцентных димеров, которые действуют как тушители [1]. Другим примером является применение CPMV в качестве наномакета для молекулярной электроники [2]. Палочковидные вирусы, покрытые металлическими наночастицами или проводящими полимерами, например полианилином, используют для создания нанопроводов и новых проводящих материалов.

### СТРОЕНИЕ И СОСТАВ ВТМ

ВТМ – классический объект вирусологии. Он вызывает мозаичную болезнь табака, которая проявляется как пятнистость листьев. Вирус представляет собой палочки диаметром 18 нм и длиной 300 нм (рис.1), состоящие из белка и РНК [3]. Молекула РНК длиной в 6390 нуклеотидных оснований имеет вид спирали с длиной витка 2,3 нм, а оболочка сформирована из 2130 белковых субъединиц. Белок оболочки самоорганизуется в палочковидную спиральную структуру (16,3 мономерного белка на один поворот спирали) вокруг РНК, которая расположена в цилиндрическом кольце радиусом около 6 нм и недоступна для воздействия клеточных энзимов, ее разрушающих. Электронные микрофотографии показывают наличие в вирионах внутреннего канала диаметром около 4 нм. ВТМ является термостабильным вирусом: он может выдерживать температуры до 500°C в течение 30 мин. Современная вирусология обязана этому вирусу не только своим рождением, но и основными концепциями, которые складываются до настоящего времени, поэтому его дальнейшее изучение, особенно с помощью новых методов, актуально по сей день.

### ДЛЯ ЧЕГО НЕОБХОДИМА АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ?

При АСМ-исследовании топографии поверхности вирусов в режимах постоянного или прерывистого контакта можно изучать следующие аспекты: морфологию частиц, особенности адсорбции вирусных частиц на поверхность (кинетику адсорбции, степень адгезии,

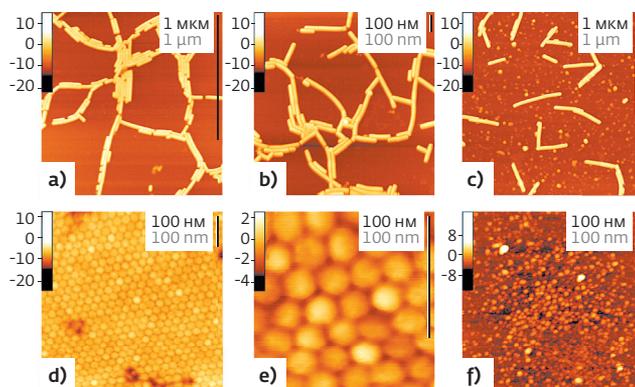


Рис.2. АСМ-изображения: а) семилатентный вирус мятлики (PSLV); б) вирус штриховатой мозаики ячменя (BSMV); в) вирус табачной мозаики (TMV); д) и е) вирус мозаики костра (BMV); ф) вирус мозаики люцерны (AMV) (Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, vol.3(2), E.V.Dubrovin, Yu.F.Drygin, V.K.Novikov, I.V.Yaminsky, "Atomic force microscopy as a tool of inspection of viral infection", pp.128-131, ©2007, опубликовано с разрешения Elsevier)

Fig.2. AFM images: a) semilattice bluegrass virus (PSLV); b) barley stripe mosaic virus (BSMV); c) tobacco mosaic virus (TMV), d) and e) bromo mosaic virus (BMV); f) alfalfa mosaic virus (AMV) (Reprinted from Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, vol.3(2), E.V.Dubrovin, Yu.F.Drygin, V.K.Novikov, I.V.Yaminsky, "Atomic force microscopy as a tool of inspection of viral infection", pp.128-131, ©2007, with permission from Elsevier)

father to son and so on, but between two unrelated individuals (or even belong to the different species). Due to this property, the viruses significantly contribute to the biological evolution of the planet.

The viruses are used in molecular and cellular biology, as their participation can help to create the simple systems for studying of the cell's functions. For example, the use of viruses has helped in understanding the basic mechanisms of molecular genetics and immunology. The viruses are commonly used as gene vectors in genetic engineering and, in particular, when creating the genetically engineered organisms (for example, cauliflower mosaic virus). Treatment of the infectious diseases using bacteriophages - phage therapy - is actively developed as an alternative to the antibiotics, which have side effects and low efficiency due to the adaptability of bacteria to them.



взаимную ориентацию частиц на поверхности [4–6]), зависимость адсорбции от вида поверхности (например, при модификации подложки различными химическими соединениями [5]), процессы кристаллизации вирусных частиц на поверхности [7], механическую прочность вирионов и отдельных белковых субъединиц [8], локализацию генома внутри вирионов [9]. Также могут изучаться такие процессы, как одевание-раздевание вирусных частиц [10], высвобождение РНК (ДНК) из частиц [4], взаимодействие с клеткой-хозяином.

Примеры АСМ-изображений шести типов вирусов приведены на рис.2. На рис.3 показано АСМ-изображение, на котором видна адсорбция бактериофагов на поверхность клетки *Escherichia coli*. АСМ позволяет также манипулировать отдельными вирусными частицами с помощью кантилевера и создавать заданную архитектуру в наномасштабе. Кроме того, в режимах АСМ-спектроскопии (снятие силовых кривых, т.е. зависимости силы, действующей со стороны кантилевера на образец, от вертикального положения пьезосканера) появляются дополнительные возможности количественно изучать силу взаимодействия вириона с подложкой, РНК (ДНК) с белковой оболочкой, белковых субъединиц между собой.

АСМ позволяет получать уникальную информацию об исследуемом образце. Чрезвычайно важно, что в АСМ можно исследовать вирусные частицы без дополнительного контрастирования атомами тяжелых металлов (как это необходимо, например, для электронной микроскопии). Можно получать трехмерную топографию с высоким разрешением (типичное разрешение для мягких объектов: доли нанометров для латерального и доли ангстрем для вертикального направлений), изучать живые объекты на поверхности, как в воздушных, так и в водных средах. Информация, получаемая с помощью АСМ, требуется как для фундаментальной науки, так и для развития нанотехнологий.

ВТМ неоднократно исследовали с помощью АСМ [4, 5, 11–13]. В частности, была отмечена более высокая адсорбционная способность вирусных частиц на поверхности высокоориентированного пиролитического графита (ВОПГ) по сравнению с поверхностью слюды [4], что объяснялось гидрофобными взаимодействиями частиц с подложкой. В этой работе после обработки вирионов ВТМ диметилсульфоксидом или мочевиной наблюдали "раздевание" вирусной

The viruses are a promising target for the development of nanotechnology (however, the applications described above, can also be attributed to this type of technology). From the point of view of materials science, the viruses are the organic nanoparticles, which are able to penetrate through the walls of the host cells. The size and shape of viruses, as well as the number and nature of functional groups on their surface, are exactly defined, whereby the viruses can be used as templates for organization of the material on the nanoscale level. For example, the particles of cowpea mosaic virus (CPMV) were used to amplify the signal of the biosensor based on the DNA matrix. In this study, the viral particles separated the fluorescent dyes in order to prevent occurrence of non-fluorescent dimers that act as quenchers [1]. An another example is the use of CPMV as nanomodel for molecular electronics [2]. The baculoviruses coated with metal nanoparticles or conducting polymers such as polyaniline, are used for creating of nanowires and new conductive materials.

#### THE STRUCTURE AND COMPOSITION OF TMV

TMV is a classic object of virology. It causes tobacco mosaic disease, which manifests itself as spots on the leaves. The virus represents the rods with the diameter of 18 nm and the length of 300 nm (fig.1) consisting of RNA and protein [3]. The RNA molecule of the nucleotide with the length of 6390 bases has the form of a spiral coil with a length of 2.3 nm, while the shell is formed of 2130 protein subunits. The protein of the cover is self-organizing in a rod-helical structure (16.3 monomeric protein on one turn of the spiral) around the RNA, which is located in a cylindrical ring with the radius of about 6 nm, which could not be affected by the cellular enzymes, destroying it. The electron micrographs show the presence of virions in the internal channel with the diameter of about 4 nm. TMV is a thermostable virus: it can withstand the temperatures of up to 50°C for 30 minutes. The modern virology owes not only its birth to this virus, but also the basic concepts that add up to the present time, so its further study, especially with new techniques, is relevant to this day.

#### WHICH THE ATOMIC FORCE MICROSCOPY OF VIRAL PARTICLES IS REQUIRED FOR?

At the AFM study of the viruses surface topography in continuous or intermittent contact, the following issues can be studied: the particle's morphology, especially the adsorption of viral particles to the surface (adsorption kinetics, the degree of adhesion, the relative orientation of the particles on the surface



частицы и выход из нее молекулы РНК. Более подробное изучение адсорбции частиц ВТМ на поверхностях, модифицированных различными химическими соединениями, показало высокую чувствительность процесса адсорбции к природе модификатора [5]. Например, модификация слюды бромистым цетилтриметиламмонием повысила адгезию ВТМ на слюду более чем в 10 раз. Следует отметить, что при изучении ВТМ на таких подложках, как слюда или графит, мы имеем дело с физической адсорбцией вирионов на поверхности, т.е. адсорбцией прежде всего за счет ван-дер-ваальсовых взаимодействий (и гидрофобных для поверхности графита).

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ ВТМ ДЛЯ АСМ

Типичная процедура приготовления образца ВТМ для исследования с помощью АСМ описана в [5].

Перед нанесением на подложки для АСМ аликвоту раствора вируса центрифугировали при 13000 об./мин на центрифуге Eppendorf 5415С, разводили фосфатным буфером (5 мМ фосфата натрия, рН 7.3, 150 мМ NaCl) до концентрации 1,3 мг/мл для слюды или до 0,325 мг/мл для графита. Пять микролитров образца нанесли на свежий скол слюды или ВОПГ и выдерживали во влажной камере в течение 30 мин на слюде или 15 мин – на графите. Сорбированные образцы вируса 2–3 раза промывали тридистиллированной водой и высушивали в вакуум-эксикаторе.

### ПОЛУЧЕНИЕ И ОБРАБОТКА АСМ-ИЗОБРАЖЕНИЙ ОБРАЗЦА ВТМ

Получить изображение образца ВТМ можно в резонансном режиме. В практикуме сканирующей зондовой микроскопии МГУ им. М.В.Ломоносова мы используем атомно-силовые микроскопы "ФемтоСкан". Для обработки данных используется программное обеспечение "ФемтоСкан Онлайн" [14, 15]. Программное обеспечение со сроком действия в 1 месяц можно скачать на сайтах [www.nanoscopy.ru](http://www.nanoscopy.ru) и [www.nanoscopy.net](http://www.nanoscopy.net) [15].

В этом ПО командой Distance контекстного меню проводится измерение длин вирусных частиц и построение гистограммы распределения по длинам. Измеренные частицы удобно помечать маркерами, используя команду контекстного меню Marks. При анализе изображений

[4-6]), dependence of the adsorption on the surface form (e.g., at modification of the substrate with the various chemical compounds [5]), crystallization processes at the surface of the viral particles [7], mechanical strength and individual virion protein subunits [8], localization of the genome inside of the virions [9]. Such processes can also be studied, as: dressing-undressing of viral particles [10], release of RNA (DNA) from the particles [4], the interaction with the host cell.

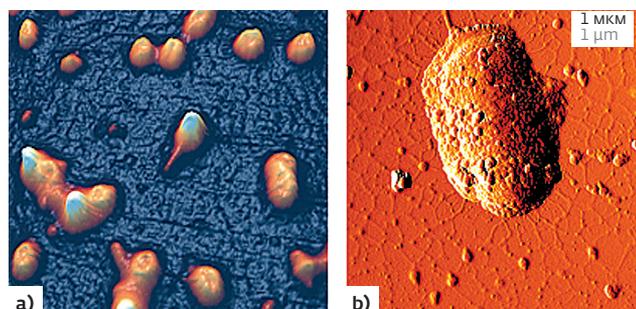


Рис.3. АСМ-изображения: а) бактериофага к *Escherichia coli* (трехмерное изображение, размер кадра приблизительно  $1 \times 1 \times 0,06$  мкм); б) – клетки *Escherichia coli*, инкубированной с бактериофагом в течение 30 мин. при  $37^\circ\text{C}$  (опубликовано с разрешения Langmuir, vol. 24, E.V.Dubrovin, A.G.Voloshin, S.V.Kraevsky, T.E.Ignatyuk, S.S.Abramchuk, I.V.Yaminsky, S.G.Ignatov. "Atomic force microscopy investigation of phage infection of bacteria", pp.13068–13074. ©2008 American Chemical Society)

Fig.3. AFM images of : a) bacteriophage to *Escherichia coli* (three-dimensional image, the frame size is approximately  $1 \times 1 \times 0.06 \mu\text{m}$ ); b) - *Escherichia coli* cells, incubated with bacteriophage for 30 minutes at  $37^\circ\text{C}$  (Adapted with permission from Langmuir, Vol. 24, E.V.Dubrovin, A.G.Voloshin, S.V.Kraevsky, T.E.Ignatyuk, S.S.Abramchuk, I.V.Yaminsky, S.G.Ignatov. "Atomic force microscopy investigation of phage infection of bacteria", pp.13068–13074. ©2008 American Chemical Society)

The examples of AFM images of six types of viruses are shown in fig. 2. Fig. 3 shows the AFM image, which shows the adsorption of the bacteriophages on the *Escherichia coli* cells' surface. AFM can also manipulate the individual viral particles using cantilever and create a given architecture in the nanoscale level. In addition, the modes of AFM spectroscopy (removal of power curves, i.e. the dependence of the force, exerted from the side of the cantilever on the sample from the vertical position



можно найти наиболее вероятное значение длины вирусных частиц и оценить дисперсию получившегося распределения.

Работа учащегося практикума сканирующей зондовой микроскопии помогает ему освоить как теоретический материал, так и адекватно интерпретировать полученные результаты [16].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. **Soto C.M., Blum A.S., Vora G.J., et al.** Fluorescent signal amplification of carbocyanine dyes using engineered viral nanoparticles. – *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 5184–5189.
2. **Blum A.S., Soto C.M., Wilson C.D., et al.** An engineered virus as a scaffold for three-dimensional self-assembly on the nanoscale. – *Small*, 2005, 7, 702–706.
3. The Universal Virus Database. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/>.
4. **Drygin Y.F., Bordunova O.A., Gallyamov M.O., Yaminsky I.V.** Atomic force microscopy examination of TMV and virion RNA. – *FEBS Lett.*, 1998, 425, 217–221.
5. **Дубровин Е.В., Кирикова М.Н., Новиков В.К., Дрыгин Ю.Ф., Яминский И.В.** Изучение особенностей адгезии вируса табачной мозаики методом атомно-силовой микроскопии. – *Коллоидный журнал*, 2004, 66, 750–755.
6. **Образцова Е.А., Калинина Н.О., Тальянский М.Е., Габренайте-Верховская Р., Макинен К., Яминский И.В.** Атомно-силовая микроскопия А-вируса картофеля. – *Коллоидный журнал*, 2008, 70, 199–201.
7. **Malkin A.J., Kuznetsov Yu.G., Lucas R.W., McPherson A.** Surface processes in the crystallization of turnip yellow mosaic virus visualized by atomic force microscopy. – *J. Struct. Biol.*, 1999, 127, 35–43.
8. **Roos W.H., Ivanovska I.L., Evilevitch A., Wuite G.J.L.** Viral capsids: Mechanical characteristics, genome packaging and delivery mechanisms. – *Cell. Mol. Life Sci.*, 2007, 64, 1484–1497.
9. **Matsko N., Klinov D., Manykin A., Demin V., Klimenko S.** Atomic force microscopy analysis of bacteriophages φKZ and T4. – *J. Electron Microsc.*, 2001, 50, 417–422.
10. **Kiselyova O.I., Yaminsky I.V., Karpova O.V., Rodionova N.P., Kozlovsky S.V., Arkhipenko M.V., Tabekov J.G.** AFM study of potato virus X disassembly induced by movement protein. – *J. Mol. Biol.*, 2003, 332, 321–325.
11. **Falvo M.R., Washburn S., Superfine R., Finch M., Brooks F.P. Jr., Chi V., Taylor R.M.**

of the piezoscanner), the additional opportunities occur to quantitatively study the strength of interaction of the virion with the substrate, RNA (DNA) with a protein cover, the protein subunits between each other.

The AFM provides unique information about the sample. It is extremely important that the AFM helps to study the viral particles without additional contrasting by the atoms of heavy metals (as it is needed, for example, in electron microscopy). You can get a three-dimensional topography with high resolution (the ultimate solution for soft objects: the fractions of nanometers for lateral and the fractions of angstroms for vertical directions), to study the living objects on the surface, as in the air, and aquatic environments. The information obtained by AFM is required both for basic science and for development of the nanotechnology.

The TMV were repeatedly investigated by AFM [4,5,11-13]. In particular, a higher adsorption capacity of virus particles on the surface of highly oriented pyrolytic graphite (HOPG) as compared with the surface of mica [4] was noted, which was explained by hydrophobic interactions of the particles with the substrate. In this work, the "undressing" of the virus particle and extraction of the RNA molecule after treatment of the TMV virions with dimethyl sulfoxide or the urea were observed. A more detailed study of the adsorption of TMV particles on surfaces modified by various chemical compounds showed high sensitivity to the nature of the modifier of the adsorption process [5]. For example, modification of the mica by cetyltrimethylammonium bromide increased adhesion of TMV to the mica in more than 10 times. It should be noted that in the study of the TMV on such substrates as mica or graphite, we face with the physical adsorption of the virions on the surface, i.e. adsorption primarily due to van der Waals interactions (and the hydrophobic for graphite surface).

#### TMV SAMPLES PREPARATION FOR AFM

A typical procedure of TMV sample preparation for the study by AFM is described in [5].

Before application to the substrate for AFM, the aliquot of virus solution was centrifuged at 13,000 rpm on the Eppendorf centrifuge 5415S, diluted with phosphate buffer (5 mM sodium phosphate, pH 7.3, 150 mM NaCl) to a concentration of 1.3 mg/ml for the mica or up to 0.325 mg/ml for the graphite. 5 μl of the sample were applied to a fresh chip of the mica or HOPG and were incubated in a humid chamber



- Manipulation of individual viruses: Friction and mechanical properties. – Biophys. J., 1997, 72, 1396–1403.
12. **Britt D.W., Buijs J., Hlady V.** Tobacco mosaic virus adsorption on self-assembled and Langmuir-Blodgett monolayers studied by TIRF and SFM. – Thin Solid Films, 1998, 327–329, 824–828.
  13. **Maeda H.** An atomic force microscopy study for the assembly structures of tobacco mosaic virus and their size evaluation. – Langmuir, 1997, 13, 4150–4161.
  14. Руководство пользователя пакета программного обеспечения для управления сканирующим зондовым микроскопом и обработки изображений. [http://www.rusnanonet.ru/download/equipment/fsonline\\_manual.pdf](http://www.rusnanonet.ru/download/equipment/fsonline_manual.pdf).
  15. ФемтоСкан Онлайн, <http://www.nanoscopy.net/en/femtoscand.php>.
  16. **Дубровин Е.В., Мешков Г.Б., Яминский И.В.** Сканирующая зондовая микроскопия: получение трехмерных изображений. Начальное знакомство с методом исследования поверхности материалов и нанообъектов. Учебное пособие. Описание задачи лабораторного практикума. – М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2009.

for 30 min on mica or 15 min on the graphite. The sorbed virus samples were washed for 2-3 times in tridistilled water and dried in a vacuum desiccator.

#### PREPARATION AND PROCESSING OF AFM IMAGES OF THE TMV SAMPLE

An image of the TMV sample can be get in a resonant mode. The atomic force microscopes "FemtoScan" are used in the laboratory course of scanning probe microscopy in the Moscow State University. Data processing software "FemtoScan" is used [14, 15]. Software with the one month test period can be downloaded from websites [www.nanoscopy.ru](http://www.nanoscopy.ru) and [www.nanoscopy.net](http://www.nanoscopy.net) [15].

The command "Distance" of the software's context menu measures the lengths of viral particles and constructs the histogram of length distribution. The measured particle is convenient to tag with the markers using the context menu command "Marks". The most probable value of the length of the particles virus can be found and the variance of the resulting distribution can be estimated at the image analysis.

The training of a student in the laboratory course of scanning probe microscopy helps him to learn the theoretical material and to adequately interpret the received results [16]. ■

### НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА "ТЕХНОСФЕРА"



#### Вонг Б.П., Миттал А., Цао Ю., Старр Г. НАНО-КМОП-СХЕМЫ И ПРОЕКТИРОВАНИЕ НА ФИЗИЧЕСКОМ УРОВНЕ

При поддержке ООО "ТехноСтарт"  
Перевод с англ. под ред. д.т.н., проф. Н.А. Шелепина

МОСКВА: ТЕХНОСФЕРА,  
2014. – 432 С.  
ISBN 978-5-94836-377-6

Цена: 840 руб.

Книга содержит актуальные сведения об особенностях современных технологий СБИС уровня 130–90 нм (главы 1–3). Во втором разделе (главы 4–9) описаны приемы проектирования на физическом уровне схем смешанного сигнала и аналоговых компонентов, схем памяти, схем ввода/вывода и защиты от электростатического разряда, а также методы снижения потребляемой мощности. В третьем разделе (главы 10–11) рассмотрены приемы проектирования, обеспечивающие повышение выхода годных изделий и учет вариаций технологического процесса.

Следует отметить, что эта книга – первое системное пособие для разработчиков современных СБИС на транзисторном уровне. Книга будет полезна не только конструкторам, но и инженерам-технологам при разработке новых технологий и соответствующих правил проектирования.

КАК ЗАКАЗАТЬ НАШИ КНИГИ?

☎ 125319, Москва, а/я 91; ☎ (495) 956-3346, 234-0110; ✉ [knigi@technosphera.ru](mailto:knigi@technosphera.ru), [sales@technosphera.ru](mailto:sales@technosphera.ru)