



ПЕРЕДОВЫЕ МЕТОДЫ ВЫСОКОСКОРОСТНОЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ БИМЕДИЦИНЫ И НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ

ADVANCED METHODS OF HIGH-SPEED PROBE MICROSCOPY FOR BIOMEDICINE AND NEW FUNCTIONAL MATERIALS

И.В.Яминский^{1,2,3}, д.ф.-м.н., проф., генеральный директор Центра перспективных технологий, директор Энергоэффективных технологий (ORCID: 0000-0001-8731-3947), А.И.Ахметова^{1,2,3}, инженер НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ, ведущий специалист Центра перспективных технологий и Энергоэффективных технологий (ORCID: 0000-0001-6363-8202), Г.Б.Мешков¹, к.ф.-м.н., ст. науч. сотрудник (ORCID: 0000-0003-3930-3730) / yaminsky@nanoscopy.ru

I.V.Yaminsky^{1,2,3}, Doctor of Sc. (Physics and Mathematics), Prof., Director of Advanced Technologies Center, Director of Energy Efficient Technologies, (ORCID: 0000-0001-8731-3947), A.I.Akhmetova^{1,2,3}, Engineer of A.N.Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Leading Specialist of Advanced Technologies Center and of Energy Efficient Technologies, (ORCID: 0000-0001-6363-8202), G.B.Meshkov¹, Cand. of Sc. (Physics and Mathematics), Senior Researcher, (ORCID: 0000-0003-3930-3730)

DOI: 10.22184/1993-8578.2019.12.3-4.190.192

Получено: 06.05.2019 г.

Визуализация биологических объектов в естественных средах в движении с высокой разрешающей способностью, не нарушая их функций – крайне сложная задача. Исследования последних лет подтверждают, что динамическая структура и морфология белков и клеток, выявленные с помощью быстродействующего сканирующего зондового микроскопа, могут дать уникальную информацию о том, как функционируют различные клеточные процессы на молекулярном уровне.

One of the most complicated tasks is the high resolution visualization of moving biological objects without interference in their functions. Modern investigations proved that dynamic structure and morphology of the proteins and cells identified by high-speed scanning probe microscopy may present the unique information about functioning of different cell processes on the molecular level.

С помощью сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ) возможно наблюдение за такими процессами, как движение РНК-полимеразы вдоль ДНК, конформационные изменения мембранных белков, движение хроматина, рост белковых кристаллов и др. Быстродействующий сканирующий зондовый микроскоп позволяет по-новому взглянуть на исследования клеточных процессов. Однако до сих пор он остается эксклюзивным прибором, используемым только передовыми лабораториями микроскопии [1].

Прямая визуализация морфологических изменений, происходящих в живых клетках, пока остается проблемой для высокоскоростной сканирующей зондовой микроскопии, поскольку большую площадь поверхности приходится сканировать с высокой скоростью. Развитие высокоскоростных, широкополосных сканеров и активных методов демпфирования вибраций сделали такую визуализацию возможной, что продемонстрировано при отображении различных динамических событий, происходящих в живых бактериальных и эукариотических клетках:

¹ МГУ имени М.В.Ломоносова / Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments.

² ООО НПП «Центр перспективных технологий» / Advanced Technologies Center.

³ ООО «Энергоэффективные технологии» / Energy Efficient Technologies.



бактериолиз, вызванный лизоцимом и антимикробным пептидом, процесс эндоцитоза от начального образования углубления до отпочкования выступов и их исчезновения, а также ретроградного течения актина.

Динамические биологические процессы обычно происходят за миллисекунды. Современная биология требует, чтобы СЗМ обладала способностью показывать динамическое поведение молекулы белка, слабо зафиксированной на подложке в физиологическом растворе. Требуемая скорость изображения должна составлять не менее нескольких сотен строк сканирования в секунду.

Физиологические функции часто проявляются при взаимодействии нескольких видов молекул. Если все молекулы присоединены к подложке, у них практически нет возможности взаимодействовать друг с другом. Поэтому требуется избирательное присоединение молекул одного вида к поверхности. Например, сила, создаваемая двигательными (моторными) белками при гидролизе АТФ, обычно составляет несколько пиконьютон. Следовательно, при сканировании необходимо, чтобы сила воздействия кантилевера на образец поддерживалась на меньших значениях – порядка сотен фемтоньютон.

Во многих случаях при проведении биологических исследований быстродействующую СЗМ удается сочетать с флуоресцентной микроскопией, что позволяет сопоставить морфологические изменения с лежащими в их основе молекулярными процессами, которые протекают внутри клетки. С помощью флуоресцентной микроскопии можно обнаруживать небольшие молекулы, такие как флуоресцентно меченые нуклеотиды, что невыполнимо методом СЗМ. Кроме того, флуоресцентной микроскопией возможно идентифицировать два или три вида молекул в многокомпонентном образце путем специфической маркировки молекул флуоресцентными красителями разного цвета или путем создания флуоресцентных белков разных цветов. Однако с флуоресцентной микроскопией (даже высокого разрешения) невозможно исследовать структуру самих меченых молекул, поскольку мы видим только флуоресцентный свет, излучаемый мечеными молекулами. Поэтому быстродействующая СЗМ и флуоресцентная микроскопия являются взаимодополняющими методиками и совместно являются ценным, универсальным инструментом в биологических исследованиях.

Высокоскоростная сканирующая зондовая микроскопия важна для решения фундаментальных вопросов в области наук о полимерах: управление процессами молекулярной перестройки в жидко-кристаллических полимерах, изучения характера нанофазного



Рис.1. Прототип планарной автоматизированной подвижки 3D-манипулятора с полем позиционирования $100 \times 100 \text{ мм}^2$ и встроенным сквозным отверстием
Fig.1. A prototype of a planar automated movement of a 3D manipulator with a positioning field of $100 \times 100 \text{ mm}^2$ and a built-in through-hole

разделения в блоксополимерах, разработки сенсорных слоев для молекулярной диагностики высокомолекулярных соединений, создания физико-химических принципов 3D-печати единичными полимерными молекулами, решения вопросов по созданию новых методов полимеризации с помощью многоканальных нанокпилляров.

Нами запланирована разработка технологии быстродействующей сканирующей зондовой микроскопии для биомедицинских приложений с тактовой частотой измерений на уровне единиц гигагерц. С помощью такой технологии будет возможно увеличение временного разрешения сканирующей зондовой микроскопии при исследовании отдельных макромолекул, а также АСМ-визуализация конформационной динамики отдельных биомолекул на подложке в режиме реального времени.

Создание экспериментальной установки с рекордными параметрами по чувствительности, быстродействию и пространственному разрешению даст толчок к изучению процессов самоорганизации макромолекул на различных подложках, характеристики механизмов и свойств самоорганизующихся полимерных структур, а также позволит найти применение

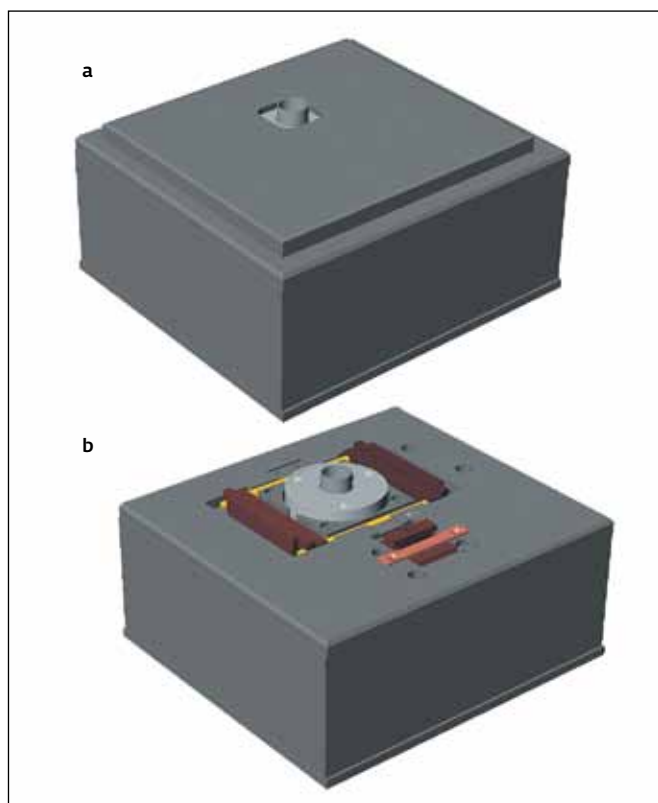


Рис.2. Общий вид компактного 3D-манипулятора с линейризованным пьезокерамическим трубчатый манипулятором: а – общий вид, б – вид с удаленной верхней подвижной рамкой
Fig.2. General view of a compact 3D-manipulator with a linearized piezoceramic tubular manipulator: a – general view, b – view with the upper moving frame removed

самоорганизующихся полимерных структур для дизайна функциональных молекулярных структур и шаблонов в микро- и нанометровом масштабах.

В дальнейшем эти установки будут превращены в новые уникальные коммерческие приборы, востребованные на мировом рынке СЗМ.

В настоящее время нами разработаны два варианта 3D-манипулятора прецизионного позиционирования и перемещения образца для реализации 3D-сканирования.

3D-манипулятор предназначен для сканирующей зондовой микроскопии. Важное и существенное дополнительное применение – осуществление точного позиционирования для лазерной гравировки, резки и микромашиинга. Максимальное поле позиционирования – 10×10 см². При этом достигаемая механическая точность – 0,1 нм в плоскости образца и 0,05 нм по нормали к образцу. Частоту строчной развертки можно варьировать в диапазоне от 0,01–35 Гц. Для атомно-силовой микроскопии реализованы следующие режимы: контактный, резонансный и

прыжковый. Получаемые данные можно передавать по открытым каналам с использованием криптографической защиты.

Наличие сквозного отверстия в 3D-манипуляторе дает возможность эффективно комбинировать его с инвертированным оптическим микроскопом, что позволяет осуществлять как оптическое наблюдение поверхности образца, так и реализовывать воздействие на образец лазерным излучением, например, со стороны фемтосекундного импульсного лазера. Габаритные размеры 3D-манипулятора составляют 275×275 мм² при максимальной толщине в 40 мм. Перемещение образца осуществляется в указанных габаритах, подвижные части 3D-манипулятора за эти пределы не выходят. Перемещение осуществляется с помощью линейных передач с использованием шаговых двигателей. Для точного перемещения в диапазоне до 100 мкм на 3D-манипуляторе размещается планарный пьезокерамический сканер.

Для случая непрозрачного объекта нами был создан компактный 3D-манипулятор без сквозного отверстия. Габаритные размеры сканера $150 \times 150 \times 60$ мм². Широкоформатное перемещение по координатам XYZ выполняется передачей на основе шаговых двигателей. Точное перемещение в микронном диапазоне проводит линейризованный трубчатый пьезокерамический сканер с полем сканирования в диапазоне от 10×10 до 100×100 мкм². Разработанные варианты 3D-манипуляторов апробированы при проведении нанолитографии на поверхности высокоориентированного пиролиитического графита методом локального анодного окисления [2, 3].

Научная работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям (Договор № 422 ГРНТИС5/44715). Исследования по локальному анодному окислению проведены при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-29-06290 оф_и_м).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCE

1. Ахметова А.И., Яминский И.В. Быстродействующая сканирующая зондовая микроскопия. НАНОИНДУСТРИЯ, 11(7-8 (86)):530–533, 2018.
2. Sinitsyna O.V., Meshkov G.B., Grigorieva A.V., Antonov A.A., Grigorieva I.G., Yaminsky I.V. Blister formation during graphite surface oxidation by hummers' method. Beilstein journal of nanotechnology, 9:407–414, 2018.
3. Яминский И.В., Ахметова А.И., Мешков Г.Б., Оленин А.В. Сканирующая зондовая микроскопия 2D наноразмерных структур для энергонакопителей и катализаторов. НАНОИНДУСТРИЯ, 12(2):148–151, 2019.



**9–13 сентября 2019 года
Санкт-Петербург**



МЕНДЕЛЕЕВСКИЙ СЪЕЗД
по общей и прикладной химии

Уважаемые коллеги!

Приглашаем вас принять участие в работе XXI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии, который состоится с 9 по 13 сентября 2019 года в Санкт-Петербурге и станет одним из основных мероприятий Международного года Периодической таблицы химических элементов, провозглашённого ООН в декабре 2017 г.

В 2019 г. исполняется 150 лет создания Д.И. Менделеевым Периодической таблицы химических элементов – самого известного в мире научного достижения России за все времена существования отечественной науки.

Важно и то, что в 2018 г. исполнилось 150 лет Русского химического общества, созданного по инициативе Д.И. Менделеева при Санкт-Петербургском университете (сейчас – российское химическое общество имени Д.И. Менделеева).

Именно поэтому местом проведения XXI съезда выбран Санкт-Петербург – крупный центр химической науки и промышленности России. Тематика съезда охватывает основные направления развития химической науки, технологии и промышленности, химического образования и взаимодействия бизнеса с наукой и промышленностью, чем существенно отличаются от обычных тематических научных конференций.

В работе XXI Менделеевского съезда в Санкт-Петербурге планируется участие 2200–2500 человек, в том числе 300 иностранных учёных, включая лауреатов Нобелевской премии. Планируется также участие российских и зарубежных компаний, связанных с производством химических продуктов и материалов, в том числе фармацевтических субстанций (с презентацией результатов своей деятельности и выпускаемой продукции). Это, безусловно, будет способствовать привлечению внимания общественности к науке в целом.

Участие представителей различных научных организаций и высших учебных заведений в работе съезда будет способствовать укреплению научного сотрудничества в Российской Федерации, плодотворному обмену идеями между учёными и их вовлечению в совместные научно-исследовательские и образовательные проекты и программы.

Мы будем рады видеть вас в качестве участников съезда и деловых партнёров предприятий и организаций Санкт-Петербурга, а также других регионов России.

Ждём вас в Санкт-Петербурге!

www.mendeleev2019.ru

Оргкомитет XXI Менделеевского съезда