



ПОСТРОЕНИЕ, ОБРАБОТКА И АНАЛИЗ ТРЕХМЕРНЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ В БИМЕДИЦИНСКОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

3D-IMAGE CONSTRUCTION, PROCESSING AND ANALYSIS IN BIOMEDICAL SCANNING PROBE MICROSCOPY

И.В.Яминский^{1,2,3}, д.ф.-м.н., профессор МГУ имени М.В.Ломоносова, физический и химический факультеты, генеральный директор Центра перспективных технологий, директор Энергоэффективных технологий, вед. науч. сотр. ИНЭОС РАН (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: 0000-0002-5115-8030) / yaminskiy@nanoscopy.ru

I.V.Yaminskiy^{1,2,3}, Doct. of Sci. (Physics and Mathematics), Prof. of Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, Director of Advanced Technologies Center, Leading Sci. of INEOS RAS, 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

DOI: 10.22184/1993-8578.2021.14.7-8.430.433

Получено: 26.11.2021 г.

Сканирующая зондовая микроскопия становится важным и информативным инструментом в биомедицине и медицинской диагностике благодаря разработке эффективных алгоритмов обработки данных. Программное обеспечение позволяет проводить измерения размеров, объемов, площади объектов, контурных длин, углов кристаллических структур, шероховатости поверхности, форм-фактора, коэффициентов трения и упругости, а также величины адгезии. В статье приведены данные по визуализации бактериальных и клеточных структур и результаты их последующей количественной характеристики.

The scanning probe microscopy is becoming an important and informative tool in biomedicine and medical diagnostics due to the development of efficient data processing algorithms. The software allows measuring sizes, volumes, object areas, contour lengths, angles of crystal structures, surface roughness, form factor, friction and elasticity coefficients, and adhesion values. The data on the imaging of bacterial and cellular structures and the results of their subsequent quantitative description are presented in this paper.

ВВЕДЕНИЕ

В биомедицинской сканирующей зондовой микроскопии построение, обработка и анализ данных является ключевым, ответственным и весьма трудоемким процессом. Вирусы, бактерии, клетки, живая материя и другие биологические образцы являются сложными объектами, требующими бережного

отношения на всех этапах пробоподготовки, измерений, количественного анализа, оформления полученных результатов, составления отчетов, приготовления презентаций, статей и другого иллюстративного материала. По этой причине программное обеспечение, обладая всеми необходимыми функциями, должно иметь богатый, дружелюбный

¹ МГУ имени М.В.Ломоносова, физический и химический факультеты, Москва, Россия / Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, Moscow, Russia.

² ООО НПП "Центр перспективных технологий", Москва, Россия / Advanced Technologies Center, Moscow, Russia.

³ ООО "Энергоэффективные технологии", Москва, Россия / Energy Efficient Technologies, Moscow, Russia.

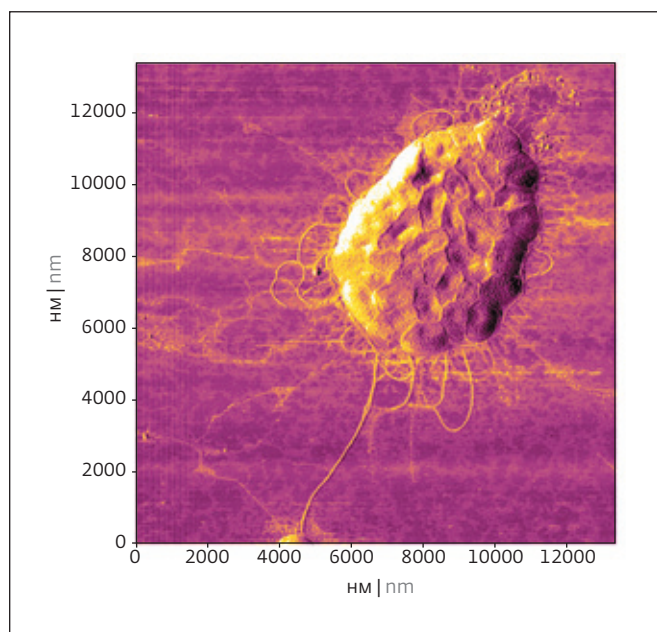


Рис.1. Изображение островковой колонии бактерий *Escherichia coli*. ПО "ФемтоСкан Онлайн"

Fig.1. Image of an islet colony of *Escherichia coli* bacteria. FemtoScan Online software

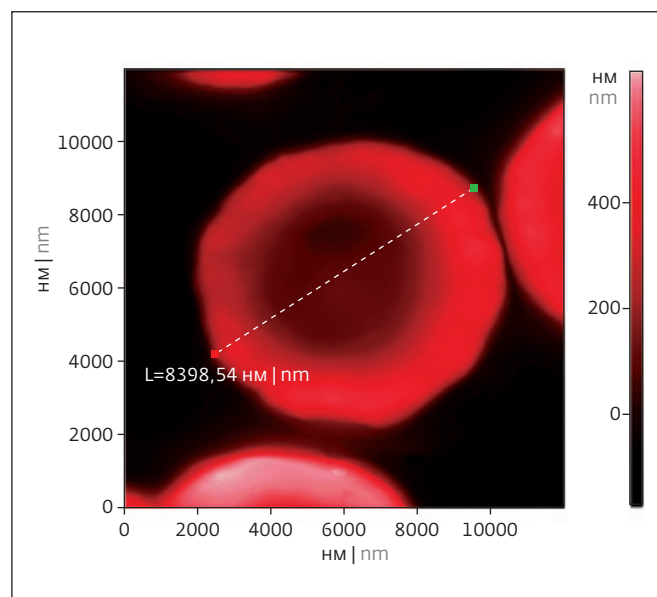


Рис.2. Изображение эритроцита, полученное с помощью атомно-силовой микроскопии и обработанное в ПО "ФемтоСкан Онлайн"

Fig.2. Atomic force microscopy image of an erythrocyte processed with FemtoScan Online software

и интуитивно понятный интерфейс для того, чтобы эти данные были эффективно использованы в решении задач биомедицинской диагностики.

АНАЛИЗ И ОБРАБОТКА 3D-ИЗОБРАЖЕНИЙ

При визуализации биообъектов с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ),

например, бактерий *Escherichia coli* (рис.1), помимо 3D-изображения, одновременно можно получить большой массив количественных данных – размеры, объем, площадь, контурную длину, шероховатость, форм-фактор, коэффициенты трения и упругости, а также величину адгезии [1]. Аналогичную многофакторную

INTRODUCTION

In modern biomedical scanning probe microscopy (SPM), construction, processing and analysis of data is the important, challenging and time-consuming task. Viruses, bacteria, cells, living matter and other biological samples are complex objects that require solicitude at all phases of sample preparation, measurement, quantification, results reporting, presentations, papers and other illustrative material. For this reason, the software, with all its necessary features, must have a rich, user-friendly and intuitive interface so that these data can

be effectively used in solving problems of biomedical diagnostics.

3D-IMAGES ANALYSIS AND PROCESSING

When imaging biological objects using atomic force microscopy (AFM), e.g., such as *Escherichia coli* bacteria (see Fig.1), a large amount of quantitative data like size, volume, area, contour length, roughness, form factor, friction and elasticity coefficients, and adhesion value can be obtained in addition to 3D-imaging [1]. Similar multifactorial information can be received when studying viruses, blood cells (see Fig.2), neuronal networks and

various tissues of living organisms. Measurements can be carried out both in liquid and in air, which also gives an estimated degree of shrinkage that biological objects undergo as a result of drying and dehydration.

During the measurements, a histogram can be plotted according to the size of the particles. For example, when measuring viral particles the size scattering is not always related to the measurement error, which is not more than several nanometres, but represents the real size variation of the particles formed during cell infection [2].

The modern 3D-imaging capabilities of biomedical microscopy

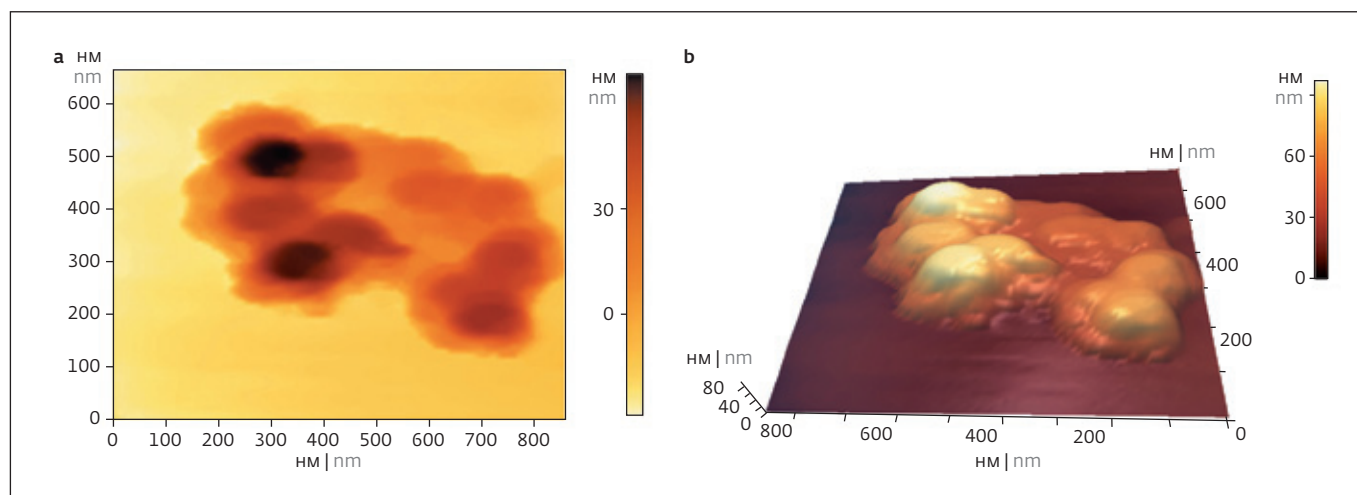


Рис. 3. Атомно-силовая микроскопия вируса гриппа. Ореол вокруг вирусных частиц соответствует расположению гемагглютинаина: 3а – двумерный вид; 3б – трехмерный вид

Fig. 3. Atomic force microscopy of an influenza virus. The halo around the viral particles corresponds to the location of the haemagglutinin: 3a – 2D view; 3b – 3D view

информацию можно получить при изучении вирусов, клеток крови (рис. 2), сетей нейронов и различных тканей живых организмов. Измерения можно проводить как в жидкости, так и на воздухе, что также дает оценку степени усадки, которой подвергаются биообъекты в результате высушивания и обезвоживания.

В процессе измерений, в соответствии с размерами частиц, можно построить гистограмму. Например, при измерении вирусных частиц разброс размеров не всегда связан с погрешностью

измерений, которая составляет не более нескольких нанометров, а представляет собой реальное изменение размера частиц, образующихся при инфицировании клетки [2].

Современные возможности по обработке 3D-изображений биомедицинской микроскопии легко продемонстрировать с помощью программного обеспечения "ФемтоСкан Онлайн" [4].

Недавно на примере данных атомно-силовой микроскопии белковых наночастиц мы показали, что для поиска наночастиц, размеры которых

can easily be demonstrated using FemtoScan Online software [4].

We have recently shown an example, using atomic force microscopy (AFM) data on protein nanoparticles, that a neural network algorithm [5] provides more accurate results for finding nanoparticles whose size is comparable to the noise level.

In biomedical microscopy measurements are made on live bacteria and cells in the natural environment. The initial stage of cell infection is of particular interest. In [6] the receptor layer on the cell surface was visualized in the process of virus binding in the first milliseconds of virus-cell contact with high

resolution (<50 nm). In the force spectroscopy mode AFM shows interaction of individual peptides, proteins and living cells [7].

CONCLUSIONS

Force curves analysis provides data on the mechanical properties of the biological sample concerning adhesion, rigidity, deformation, elastic modulus and energy dissipation. The cantilever modification allows detecting specific biochemical interactions [8].

Thus, biomedical scanning probe microscopy remains a useful tool in research, perfectly complementing the alternative measurement

methods and providing researchers with unique information.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was completed with the financial support of the RFBR and the London Royal Society No. 21-58-10005, and RFBR, Project No. 20-32-90036. This research was carried out with financial support from the FASIE, Project No. 71108, and Agreement No. 0071108. ■

Declaration of Competing Interest. The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.



сравнимы с уровнем шума, более точный результат дает алгоритм с использованием нейронной сети [5].

В биомедицинской микроскопии измерения проводятся на живых бактериях и клетках в естественной среде. Процесс начального этапа инфицирования клетки представляет особый интерес. В работе [6] был визуализирован рецепторный слой на поверхности клеток в процессе связывания вируса в первые миллисекунды контакта "вирус – клетка" с высоким разрешением (<50 нм). В режиме силовой спектроскопии АСМ показывает взаимодействия отдельных пептидов, белков и живых клеток [7].

ВЫВОДЫ

Анализ силовых кривых позволяет получить данные о механических свойствах биологического образца, касающиеся адгезии, жесткости, деформации, модуля упругости и рассеяния энергии. Модификация кантилевера позволяет обнаруживать специфические биохимические взаимодействия [8].

Таким образом, биомедицинская сканирующая зондовая микроскопия остается полезным инструментом в исследованиях, прекрасно дополняя альтернативные методы измерения и предоставляя исследователям уникальную информацию.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Лондонского Королевского Общества № 21-58-10005, РФФИ, проект № 20-32-90036. Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям, проект № 71108, договор 0071108.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. High resolution imaging of viruses: scanning probe microscopy and related techniques. *Methods*, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2021.06.011>
2. Kuznetsov Y.G., Gurnon J.R., Van Etten J.L., McPherson A. Atomic force microscopy investigation of a chlorella virus, PBCV-1. *J Struct Biol* 149, 256–263 (2005).
3. Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. FemtoScan Online software in virus research. *Nanoindustry*. т. 14, № 1 (103), с. 62–67, 2021. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2021.14.1.62.67>
4. Электронный источник: www.nanoscopy.ru
5. Yaminsky I.V., Sinitsyna O.V., Vorobiev M.M. Automated search for nanoparticles in probe microscopy images using a neural network. *Nanoindustry*, т. 14, № 5, с. 276–280, 2021. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2021.14.5.276.280>
6. Alsteens D., Newton R., Schubert R. et al. Nanomechanical mapping of first binding steps of a virus to animal cells. *Nature Nanotech* 12, 177–183 (2017). <https://doi.org/10.1038/nnano.2016.228>
7. Müller D., Dufrène Y. Atomic force microscopy as a multifunctional molecular toolbox in nanobiotechnology. *Nature Nanotech* 3, 261–269 (2008). <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.100>
8. Hinterdorfer P., Dufrène Y.F. Detection and localization of single molecular recognition events using atomic force microscopy. *Nat. Methods* 3, p. 347–355, 2006. <https://doi.org/10.1038/nmeth871>

Декларация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в данной статье.



ИЗДАТЕЛЬСТВО «ТЕХНОСФЕРА» ПРЕДСТАВЛЯЕТ КНИГУ:



1090 руб.

АНАЛИТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ БЛАГОРОДНЫХ МЕТАЛЛОВ

коллективная монография

под ред. Карпова Ю.А., Барановской В.Б., Житенко Л.П.

М.: ТЕХНОСФЕРА, 2019. – 400 с. ISBN 978-5-94836-554-1

Благородные (драгоценные) металлы относятся к важнейшим видам современных материалов. Они являются валютными ценностями, широко применяются в ювелирном деле, в электронной, химической, машиностроительной промышленности, в медицине и многих других областях человеческой деятельности. Функциональные свойства этих материалов неразрывно связаны с их химическим составом, который устанавливается с помощью аналитического контроля. В настоящей монографии рассмотрены современные методы анализа (атомно-спектральные, рентгеноспектральные, физико-химические и другие), методы пробирного концентрирования, методики аналитического контроля конкретных объектов, стандарты на методы анализа и проблемы развития аналитической химии благородных металлов. Эта информация представляет интерес для работников аналитических лабораторий, научно-исследовательских организаций и многочисленных потребителей материалов и изделий, содержащих благородные металлы.

КАК ЗАКАЗАТЬ НАШИ КНИГИ?

125319, Москва, а/я 91; тел.: +7 495 234-0110; факс: +7 495 956-3346; e-mail: knigi@technosphere.ru; sales@technosphere.ru