



Получено: 27.09.2022 г. | Принято: 30.09.2022 г. | DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2022.15.6.328.332>

Научная статья

ПРАКТИКУМ ПО ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ ФИЗИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА МГУ ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

И.В.Яминский^{1, 2}, д.ф.-м.н., проф., физический и химический факультеты, генеральный директор Центра перспективных технологий, директор Энергоэффективных технологий, ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

А.И.Ахметова^{1, 2}, инженер НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ, ведущий специалист Центра перспективных технологий, ORCID: 0000-0002-5115-8030

Аннотация. Сканирующая зондовая микроскопия является простым методом для изучения материалов, в том числе полимеров и биополимеров с нанометровым разрешением в жидкости и на воздухе. Зондовая микроскопия позволяет визуализировать поверхностную структуру образцов, оценить их конформацию, адгезию, адсорбцию на различных подложках. При этом метод не требует длительной пробоподготовки, нужно лишь разместить образец на атомно гладкой подложке, какими являются, например, графит и слюда. Навык работы с зондовым микроскопом и умение обрабатывать полученные данные являются важным этапом в программе обучения молодых специалистов. Для развития этих компетенций на физическом факультете МГУ постоянно совершенствуется и модернизируется практикум по зондовой микроскопии. Практикум представляет собой восемь лабораторных работ по ключевым тематикам и включает обучение как базовым, так и углубленным навыкам по работе с микроскопом, по обработке и интерпретации данных зондовой микроскопии.

Ключевые слова: сканирующая зондовая микроскопия, полимеры, биополимеры, трехмерная визуализация, FemtoScan, сканирующая туннельная микроскопия

Для цитирования: И.В. Яминский, А.И. Ахметова. Практикум по зондовой микроскопии физического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. НАНОИНДУСТРИЯ. 2022. Т. 15, № 6. С. 328–332. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2022.15.6.328.332>

Received: 27.09.2022 | Accepted: 30.09.2022 | DOI: <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2022.15.6.328.332>

Original paper

PROBE MICROSCOPY WORKSHOP AT THE PHYSICAL DEPARTMENT OF LOMONOSOV MOSCOW STATE UNIVERSITY

I.V.Yaminsky^{1, 2}, Doct. of Sci. (Physics and Mathematics), Prof. of Lomonosov Moscow State University, Physical and Chemical departments, Director of Advanced Technologies Center, Director of Energy Efficient Technologies, ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

A.I.Akhmetova^{1, 2}, Engineer of A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Leading Specialist of Advanced Technologies Center, ORCID: 0000-0002-5115-8030

Abstract. Scanning probe microscopy is a simple method to study materials, including polymers and biopolymers at nanometre resolution in liquid and air. Probe microscopy allows of visualizing the surface structure of samples, assess their conformation, adhesion and adsorption on different substrates. The method does not require

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



time-consuming sample preparation, it is sufficient to just place a sample on an atomically smooth substrate, such as graphite and mica. Probe microscope skills and ability to process the data present an important step in the training programme for young professionals. To develop these competences, the Physical department of MSU is continuously improving and upgrading the probe microscopy workshop. The workshop is composed of eight laboratory work sessions on key topics and includes training in both basic and advanced skills in microscope handling, processing and interpretation of the probe microscopy data.

Keywords: scanning probe microscopy, polymers, biopolymers, 3D imaging, FemtoScan, scanning tunnelling microscopy

For citation: I.V. Yaminsky, A.I. Akhmetova. Probe microscopy workshop at the physical department of Lomonosov Moscow State university. NANOINDUSTRY. 2022. V. 15, no. 6. PP. 328–332. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2022.15.6.328.332>

ВВЕДЕНИЕ

С момента своего изобретения сканирующий зондовый микроскоп (СЗМ) использовался во многих сферах материаловедения и микроэлектроники для определения характеристик твердых поверхностей, визуализации топографии микросхем и электронных устройств. Особый интерес представляют исследования биологических объектов с помощью СЗМ [1]. Неинвазивный характер метода делает его идеальным инструментом для изучения живых систем. Основная задача его использования при изучении биологических объектов заключается в том, что при этом необходимо поддерживать минимальное воздействие зонда на поверхность изучаемого объекта.

В настоящее время лабораторный практикум состоит из восьми лабораторных работ по ключевым тематикам и включает начальное знакомство с методами получения и обработки изображений, а также последующее детальное изучение четырех образцов: графита, полимера (блок-сополимера бутадиена-стирола), нуклеиновых кислот и бактериальных клеток:

1. Основы работы на сканирующем зондовом микроскопе;
2. Обработка изображений сканирующей зондовой микроскопии;
3. Сканирующая зондовая микроскопия: получение трехмерных изображений. Часть 1;
4. Сканирующая зондовая микроскопия: получение трехмерных изображений. Часть 2;
5. Сканирующая туннельная микроскопия. Визуализация атомной решетки графита;
6. Сканирующая зондовая микроскопия блок-сополимеров;
7. Сканирующая зондовая микроскопия нуклеиновых кислот;
8. Сканирующая зондовая микроскопия бактериальных клеток.

INTRODUCTION

Since its invention, the scanning probe microscope (SPM) has been used in many areas of materials science and microelectronics, to characterise solid surfaces and visualise topography of microcircuits and electronic devices. The main interest present the studies of biological objects using SPM [1]. The non-invasive nature of the method makes it an ideal tool for studying living systems. The main problem of its use while studying biological objects is that it is necessary to keep the minimal probe impact on the object surface under study.

The current laboratory workshop consists of eight lab exercises on key topics and includes an initial introduction to image acquisition and processing techniques, followed by a detailed study of four samples: graphite, polymer (butadiene styrene block copolymer), nucleic acids and bacterial cells:

1. Basics of the scanning probe microscope;
2. Scanning probe microscopy image processing;
3. Scanning probe microscopy: taking three-dimensional images. Part 1;
4. Scanning probe microscopy: three dimensional imaging. Part 2;
5. Scanning tunneling microscopy. Visualization of atomic lattice of graphite;
6. Scanning probe microscopy of block copolymers;
7. Scanning probe microscopy of nucleic acids;
8. Scanning probe microscopy of bacterial cells.

In the laboratory work, the state-of-the-art FemtoScan Online software is used to control the microscope and analyse the data obtained [2]. All laboratory tasks have a practical orientation. Thus, evaluation of morphological features of bacterial cells is particularly important when studying the effect of biocidal drugs on cells. Basic morphological characteristics of a bacterium can be obtained using built-in algorithms. Different methods, such as threshold filtering, can be used to distinguish individual bacterial cells in an image. Figure 1 shows an AFM image of *E. coli*, the cells were fixed in

В лабораторных работах для управления микроскопом и анализа получаемых данных используется современное программное обеспечение "ФемтоСкан Онлайн" [2]. Все лабораторные задачи имеют практическую направленность. Так, оценка морфологических признаков бактериальных клеток особенно важна при исследовании влияния биоцидных препаратов на клетки. Основные морфологические характеристики бактерии можно получить с помощью встроенных алгоритмов. При этом при выделении на изображении отдельных бактериальных клеток можно использовать различные способы, например, пороговую фильтрацию. На рис.1 представлено АСМ-изображение кишечной палочки, клетки фиксированы формалином в течение 15 мин, после чего отмыты от формалина и PBS и нанесены на поверхность слюды.

Полученные характеристики бактериальной клетки:

- объем бактерии = $0,226 \text{ мкм}^3$;
- форм-фактор $1 = 0,08$ (отношение радиуса окружности эквивалентной площади к радиусу окружности эквивалентного периметра), что свидетельствует об изрезанности периметра объекта. Для круглого объекта форм-фактор 1 равен единице;
- форм-фактор $2 = 1,4$ (отношение удвоенной длины скелета объекта к его периметру) характеризует продолговатость формы бактерии;
- средняя высота = 131 нм (среднее значение высот на всех строках, занимаемых объектом);
- среднеквадратичное значение шероховатости поверхности 12 нм .

Зондовая микроскопия дает полезную информацию о морфометрических характеристиках эритроцитов, которую можно использовать в диагностических целях. В частности, объем эритроцитов является важным параметром, который характеризует снабжение кислородом. Отклонение параметра от нормы может привести к гипоксии.

С помощью программного обеспечения, построив сечение и 3D-вид, можно рассчитать морфометрические параметры эритроцита [3]. На рис.2 представлен эритроцит с диаметром 8 мкм , высотой 500 нм , объем составляет 12 мкм^3 .

Форма, жесткость и шероховатость мембраны также имеют важное значение для диагностики патологий. В работе [4] с помощью АСМ исследовались свежeweделенные эритроциты от женщин с ранней потерей беременности (EPL), их эритроциты отличались как по величине

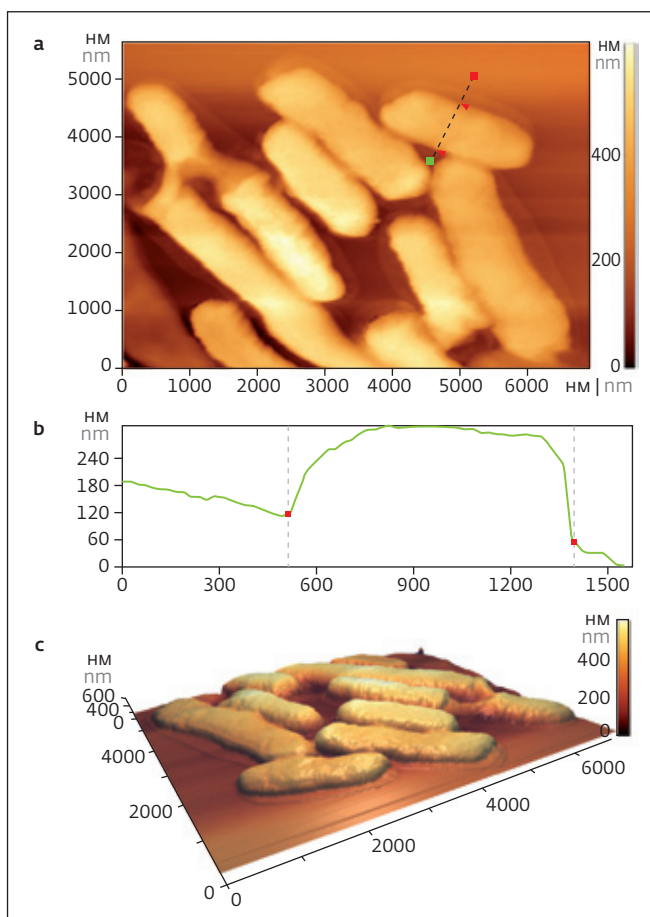


Рис.1. АСМ-изображение кишечной палочки: а – 2D; б – сечение; в – 3D-вид

Fig.1. AFM image of *E. coli* (a) 2D, (b) sectional view, (c) 3D view

formalin for fifteen minutes, then washed off formalin and PBS and applied onto the mica surface.

Bacterial cell characteristics obtained:

- bacterial volume = $0.226 \text{ }\mu\text{m}^3$;
- shape factor $1 = 0.08$ (ratio of radius of circumference of equivalent area to radius of circumference of equivalent perimeter), indicating that the perimeter of the object is irregular. For a circular object, the shape factor 1 is equal to unity;
- shape factor $2 = 1.4$ (ratio of twice the length of the skeleton of the object to its perimeter), characterises the elongated shape of the bacterium;
- mean height = 131 nm (mean value of heights on all lines occupied by the object);
- root-mean-square value of the surface roughness is 12 nm .

Probe microscopy provides useful information about the morphometric characteristics of red blood cells, which can be used for diagnostic purposes. In particular, erythrocyte volume is an important

шероховатости, так и по модулю Юнга, а также демонстрировали тенденцию к снижению морфометрических параметров клеток (размера клеток и шероховатости поверхности) и эластичности мембраны по сравнению со значениями для небеременных и здоровых беременных. Ускоренное старение эритроцитов выражалось в более раннем появлении клеток спикулярной и шаровидной формы, уменьшении шероховатости и эластичности мембраны с возрастной эволюцией.

Таким образом, в рамках практикума студенты получают не только полезные навыки по работе с микроскопом, но и учатся анализировать образцы с медицинской точки зрения. Лабораторные работы выполняют как бакалавры, так и магистры. С описаниями лабораторных работ можно подробно ознакомиться на сайте МГУ имени М.В. Ломоносова [5]. В настоящее время в разработке находится описание задачи лабораторного практикума "Атомно-силовая микроскопия: определение персистентной длины полимеров и биополимеров". Организация работы студентов в практикуме, включая запись на задачи, хранение результатов работ, расписание, осуществляется с помощью портала с авторизуемым и идентифицируемым доступом: практикум лаборатории СЗМ [6]. Портал построен на базе свободно распространяемой системы с открытым исходным кодом Moodle.

Оборудование практикума современным микроскопом позволяет проводить практические занятия на существенно более высоком уровне, и одним из наиболее подходящих вариантов, как по техническим характеристикам, так и по удобству использования, является многофункциональный сканирующий зондовый микроскоп "ФемтоСкан". Он является многофункциональным сканирующим зондовым микроскопом, в котором впервые в мире реализована технология дистанционного управления прибором и анализа данных через сеть Интернет. Это позволяет осуществлять полномасштабные измерения с любого компьютера, подключенного к локальной сети или сети Интернет, при этом неограниченное количество санкционированных сетевых пользователей могут иметь доступ к данным эксперимента в реальном масштабе времени и осуществлять самостоятельный анализ, обработку и построение трехмерных изображений.

При полноценной параллельной работе практикума, когда возможно одновременное

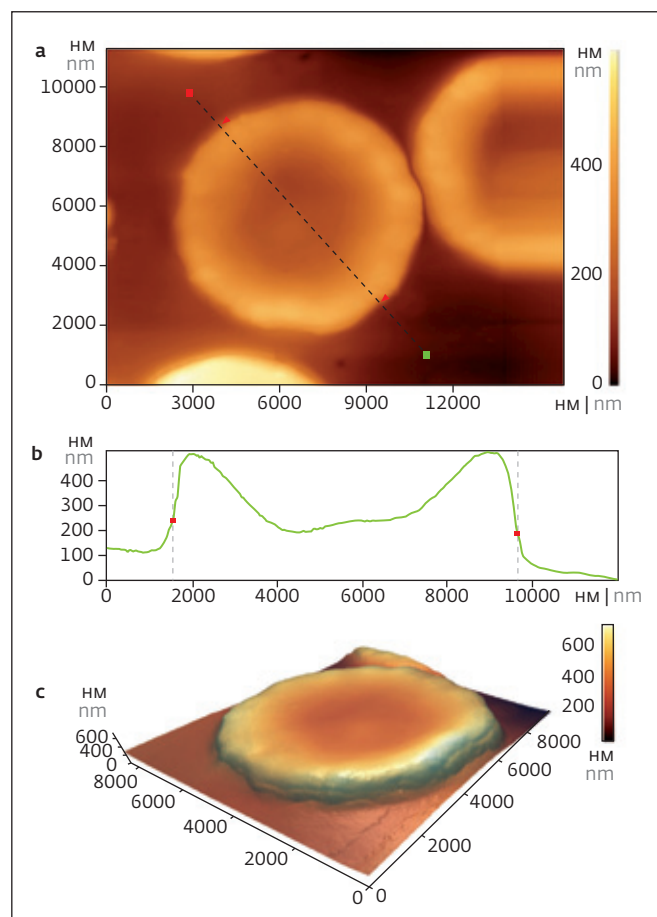


Рис.2. а – АСМ-изображение эритроцита; б – сечение вдоль линии на рис.2 а; в – 3D-вид

Fig.2. a – AFM image of erythrocyte; b – section along the line in Fig.2 a; c – 3D view

parameter that characterises the oxygen supply. A deviation from the norm can lead to hypoxia.

Using software, the morphometric parameters of the erythrocyte can be calculated by plotting the cross section and 3D view [3]. Figure 2 shows an erythrocyte with a diameter of 8 μm , a height of 500 nm and a volume of 12 μm^3 .

Membrane shape, stiffness and roughness are also important for the diagnosis of pathologies. In [4], AFM was used to examine freshly isolated erythrocytes from women with early pregnancy loss (EPL); their erythrocytes differed in both roughness and Young's modulus, and showed a trend towards a decrease in cell morphometric parameters (cell size and surface roughness) and membrane elasticity as compared with values of non-pregnant and healthy pregnant women. Accelerated erythrocyte aging was expressed by an earlier appearance of spicular and globular shaped cells, a decrease in membrane roughness and elasticity with age-related evolution.



выполнение всех лабораторных работ практика в режимах онлайн или офлайн, количество микроскопов должно совпадать с числом лабораторных работ. В этом случае каждый из микроскопов готов для наблюдения конкретного заранее выбранного и установленного образца. При последовательной работе практика оптимальное количество микроскопов – один, а лучше как минимум два. В этом случае переход с одного исследования на другое не будет занимать дополнительного времени.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям, проект № 71108, договор 0071108. Работа выполнена при содействии компании ООО "Эндор" (Москва).

ИНФОРМАЦИЯ О РЕЦЕНЗИРОВАНИИ

Редакция благодарит анонимного рецензента (рецензентов) за их вклад в рецензирование этой работы, а также за размещение статей на сайте журнала и передачу их в электронном виде в НЭБ eLIBRARY.RU.

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kuznetsov Y., McPherson A. Atomic Force Microscopy in Imaging of Viruses and Virus-Infected Cells. MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS, June 2011, PP. 268–285. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00041-10>
2. Yaminsky I.V., Akhmetova A.I. Construction, processing and analysis of three-dimensional images in biomedical scanning probe microscopy // NANOINDUSTRY. 2021. Vol. 14, no. 7–8. PP. 430–433. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2021.14.7-8.430.433>
3. Sinitsyna O.V., Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. Atomic force microscopy of erythrocytes: new diagnostic possibilities // Medicine and High Technologies. 2022. Vol. 1. PP. 9–12. <https://doi.org/10.34219/2306-3645-2022-12-1-9-12>
4. Langari A., Strijkova V., Komsa-Penkova R. et al. Morphometric and Nanomechanical Features of Erythrocytes Characteristic of Early Pregnancy Loss. Int. J. Mol. Sci. 2022. Vol. 23. P. 4512.
5. Электронный ресурс: <http://nano.msu.ru/education/systems/courses/IV/practical>
6. Электронный ресурс: <http://learn.nanoscopy.ru>

In this way, the workshop not only provides students with useful skills in working with a microscope, but also teaches them how to analyse samples from a medical point of view. The laboratory work is carried out by both undergraduate and graduate students. Descriptions of the laboratory work can be found in detail on the website of Lomonosov Moscow State University [5]. Currently, the task description of laboratory practical work "Atomic force microscopy: determination of persistence length of polymers and biopolymers" is under development. Organization of students' work in the workshop, including recording of the tasks, storage of the results of work, schedule is carried out with the help of a portal with authorized and identifiable access: SPM laboratory workshop [6]. The portal is based on the freely distributed open source system Moodle.

Provision of the workshop with a modern microscope enables practical training at a significantly higher level, and one of the most suitable options, both in terms of technical characteristics and ease to use, is a FemtoScan multifunctional scanning probe microscope. It is a multifunctional scanning probe microscope with the world's first remote control and data analysis technology implemented via the Internet. This allows full-scale measurements to be made from any computer connected to a local area network or the Internet with an unlimited number of authorised network users being able to access experiment data in real time and carry out independent analysis, processing and construction of three-dimensional images.

When a full parallel workshop is ongoing, where all workshop labs can be performed online or offline at the same time, the number of microscopes should be the same as the number of labs. In this case, each of the microscopes is ready for observation of a specific pre-selected and preset specimen. In a sequential workshop, the optimum number of microscopes is one, and preferably at least two. In this case, switching from one examination to another will not take extra time.

ACKNOWLEDGMENTS

The study was completed with the financial support of the Foundation for the Promotion of Innovation, Project No. 71108 and the JSC "Endor", Moscow, Russia.

PEER REVIEW INFO

Editorial board thanks the anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work. It is also grateful for their consent to publish papers on the journal's website and SEL eLibrary eLIBRARY.RU.

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.



УГЛЕРОДНЫЕ НАНОТРУБКИ – В МИНИАТЮРНЫЕ ТРАНЗИСТОРЫ

Японские ученые из Международного центра наноархитектоники материалов создали транзистор из углеродных нанотрубок, размеры которого на 25 тыс. меньше толщины человеческого волоса.

Компьютерная индустрия уже несколько десятилетий сосредоточена на разработке все более компактных транзисторов, но сталкивается с физическими ограничениями, связанными с кремнием. В последние годы произошел серьезный прогресс в разработке нанотранзисторов. Сотрудники центра сообщили, что электронными свойствами отдельной углеродной нанотрубки можно управлять. В ходе исследования был создан нанотранзистор путем одновременного приложения силы и низкого напряжения, которые нагревали углеродную нанотрубку, состоящую из нескольких слоев, пока внешние оболочки трубки не отделились, оставив только однослойную нанотрубку. Затем тепло и напряжение изменили хиральность нанотрубки, другими словами, произошла перестройка соединений атомов углерода друг с другом, образовав одноатомный слой стенки нанотрубки. В результате новая структура нанотрубки превратилась в транзистор.

Исследование продемонстрировало возможность манипулировать молекулярными свойствами нанотрубки для изготовления наноразмерного электрического устройства. Это открывает новые перспективы создания наноразмерных электронных устройств на новой элементной базе.

По материалам: <https://www.sci.news>



ИЗДАТЕЛЬСТВО «ТЕХНОСФЕРА» ПРЕДСТАВЛЯЕТ КНИГУ:



В.Н. Трещиков, В.Н. Листвин

DWDM-системы

Москва: ТЕХНОСФЕРА, 2021. – 420с.
ISBN 978-5-94836-634-0

Цена 1960 руб.

В книге собран курс лекций по DWDM-системам, предназначенный для специалистов, занимающихся разработкой, внедрением и эксплуатацией DWDM-оборудования. Это четвертое издание, расширенное и дополненное, состоящее из четырех разделов. В первой части рассмотрены основы DWDM-систем, история их возникновения и эволюция, во второй части — компоненты волоконно-оптического тракта, в третьей — приемник и передатчик канала-образующего оборудования, в четвертой части — механизмы формирования шумов и способы их расчета применительно к волоконно-оптическим линиям связи.

КАК ЗАКАЗАТЬ НАШИ КНИГИ?

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