

## Сканирующая зондовая бионаноскопия: методы и аппаратура, результаты и достижения

И.В. Яминский<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
физический факультет, кафедра физики полимеров и кристаллов  
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

(Поступила в редакцию 12.07.2024; после доработки 30.07.2024; подписана в печать 22.08.2024)

Благодаря изобретению в 1981 г. Гердом Биннигом и Хайнрихом Рорером туннельного микроскопа на свет появилась целая индустрия сканирующей зондовой микроскопии с уникальными возможностями и широким спектром аппаратуры для изучения материи с субнанометровым пространственным разрешением в вакууме, на воздухе и в жидкостях. Одним из предметов пристального наблюдения стали объекты живой природы: биомолекулы, вирусы, бактерии, клетки, нервная ткань и пр. Таким образом, появился новый раздел физических измерений — бионаноскопия, сканирующая зондовая микроскопия биологических объектов. Методы, аппаратура, объекты бионаноскопии — предмет настоящей статьи.

PACS: 42.70.-a. УДК: 53.082.532

Ключевые слова: сканирующая туннельная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, сканирующая капиллярная микроскопия, биомолекулы, вирусы, бактерии, клетки, нейроны, живая материя.

DOI: 10.55959/MSU0579-9392.79.2460701

### ВВЕДЕНИЕ

#### Как всё начиналось. Немного истории

Первый в СССР сканирующий туннельный микроскоп был разработан и создан на физическом факультете МГУ имени М.В. Ломоносова в группе ведущего научного сотрудника Панова Владимира Ивановича в 1985 г. [1–3]. Впервые о сканирующем туннельном микроскопе я услышал на еженедельном семинаре кафедры физики колебаний физического факультета. Доктор физико-математических наук К.К. Лихарев рассказывал о зарубежной поездке. Самое сильное его впечатление было от доклада на конференции про миниатюрное устройство, перемещающееся по поверхности образца и наблюдающее в режиме туннельного контакта распределение электронной плотности вокруг атомов поверхности. Лихарев занимался эффектом одноэлектронного туннелирования, тема доклада была близка ему, и его сообщение было очень ярким. Через год, в 1986 г., авторы доклада Герд Бинниг и Хайнрих Рорер получили Нобелевскую премию по физике за изобретение сканирующего туннельного микроскопа [4]. Работу над созданием микроскопа Г. Бинниг и Х. Рорер начали в 1981 г. в исследовательском центре компании ИВМ. В 1982 г. они опубликовали работу об измерении туннельного тока — наблюдении экспоненциальной зависимости величины тока от расстояния зонд–образец [5]. На тот момент это был абсолютный рекорд

по прошедшему времени от первой публикации, открытия, изобретения до вручения Нобелевской премии — всего четыре года. В год вручения премии за изобретения сканирующего туннельного микроскопа Binnig G., Gerber Ch., Quate C.F. создали новую версию зондового микроскопа — атомно-силовой микроскоп [6, 7].

#### Как получить Нобелевскую премию по физике

В 1979 г. научный проект, предложенный Гердом Биннигом и Хайнрихом Рорером, был отобран конкурсной комиссией компании ИВМ, и они были зачислены в штат только что созданного в Цюрихе исследовательского института. Ученые планировали исследовать распределение электронной плотности на поверхности сверхпроводника с разрешением около 50 нм. За два года при выполнении экспериментальной работы всё получилось существенно лучше. Удалось увидеть распределение электронной плотности вокруг отдельных атомов и сделать это для атомов обычных проводников и при комнатной температуре. В увлекательной и содержательной форме об этих исследованиях и их результатах рассказал Хайнрих Рорер в своей лекции при присуждении Нобелевской премии в Стокгольме в 1986 г. [8]. Надо отметить, что абсолютное большинство лауреатов Нобелевской премии — люди большого обаяния и высокой эрудиции. Так что от прочтения текста Нобелевской лекции вы получите только удовольствие и новые знания.

О чём в Стокгольме умолчали лауреаты Нобелевской премии? Так это о том, что на свою первую публикацию про туннельный микроскоп они полу-

\* E-mail: yaminsky@nanoscopy.ru

чили практически отрицательную рецензию. Один из рецензентов отметил, что туннельный эффект давно известен и в статье нет ничего нового, второй — что это всего лишь инженерная разработка, хотя и истинный бриллиант. Однако редакция уже по своим соображениям решила, что статью надо опубликовать. В общем, чтобы получить Нобелевскую премию, надо верить в свои силы и уверенно идти к намеченной цели.

В 1990 г. Хайнрих Рорер посетил физический факультет, посмотрел туннельные микроскопы на кафедре квантовой электроники, пригласил нас на международную конференцию. Обаяние и открытость Хайнриха Рорера были гармоничны и в высшей степени приятны. На память он записал нам: «I wish you all the best in local probing». И надо сказать, что удача нам сопутствовала. И не только благодаря напутствию, но и той атмосфере увлеченности, работоспособности, энергии и энтузиазма в лаборатории, которая способствовала только успеху.

Хайнрих Рорер и Герд Бинниг были не единственными лауреатами Нобелевской премии по физике за работы, связанные с туннельным эффектом. В 1973 г. сразу трое ученых стали лауреатами престижной премии. Брайан Дэвид Джозефсон — за теорию туннельного перехода в сверхпроводниках, а японский физик Лео Эсаки и норвежский учёный Айвор Джайвер — за экспериментальные работы по туннелированию в полупроводниках и сверхпроводниках. Айвор Джайвер в 2011 г. посетил физический факультет и проводимую нами Международную конференцию «Современные достижения бионаноскопии». Благодаря пионерским работам Эсаки, Джайвера и Джозефсона изучение туннельных явлений превратилось в большую и очень активную область исследований, которая привела ко многим важным результатам фундаментального характера и открыла новые технические возможности. А разработка Х. Рорера и Г. Биннига открыла принципиально новую чрезвычайно обширную и уникальную область микроскопии нанометрового масштаба.

### Не отстаём!

Надо сказать, что в ещё 1987 г. на физическом факультете уже не только работали различные экспериментальные установки туннельной микроскопии, но и были созданы коммерческие варианты сканирующего туннельного микроскопа версии «Скан-7». Вскоре появилась и модернизированная и полностью автоматизированная версия «Скан-8». В 1987 г. в МГУ в группе доктора физ.-мат. наук. В.И. Панова был сконструирован первый в нашей стране атомно-силовой микроскоп с использованием туннельного датчика перемещений [9]. Анализируя конструкции этих микроскопов, можно точно сказать, что все до одной детали их механических и электронных систем были советского производства. В том числе и прецизионные цифро-

аналоговые и аналого-цифровые преобразователи, операционные усилители, высоковольтные транзисторы, сверхточные и малошумящие резисторы и всё, всё остальное.

В 1989 г. в журнале Успехи физических наук вышел содержательный и обширный обзор Н.С. Масловой и В.И. Панова по сканирующей туннельной микроскопии атомной структуры, электронных свойств и поверхностных химических реакций, подводящий итог проведенных новаторских работ [10].

Сканирующая зондовая микроскопия стремительно развивалась. Появилось множество её разновидностей. Объединяло их то, что у всех микроскопов был зонд с окончанием нанометрового размера. Стало возможно измерять, помимо объёмной топографии, трехмерные карты механических свойств — упругости, жесткости, трения, предела разрушения; карты электрических свойств: — электрического сопротивления, диэлектрической проницаемости, заряда поверхности; карты магнитных свойств. С помощью туннельного микроскопа научились измерять локальную работу выхода, плотность электронных состояний на разных уровнях, шумовые характеристики перехода и поверхности. С помощью зонда туннельного и атомно-силового микроскопа стали перемещать атомы и молекулы, делать рисунки на поверхности. Появилась отдельная область — нанолитография.

Сканирующая зондовая микроскопия стала достаточно информативной и продвинутой, чтобы приблизиться к изучению самой сложной субстанции — живой материи. Сначала в фокусе зондового микроскопа появились биомакромолекулы: белки, нуклеиновые кислоты, липиды и их комплексы. Появился и термин применительно к сканирующей зондовой микроскопии биологических объектов — бионаноскопия.

### И даже впереди!

Методы зондовой микроскопии успешно развиваются на физическом факультете.

В 1997 году на физическом факультете МГУ появился многофункциональный сканирующий зондовый микроскоп «ФемтоСкан» с полным управлением через Интернет. Микроскоп управлялся с помощью сигнального процессора ADSP 2171, а данные с него передавались на встроенный TCP-IP сервер, к которому мог подсоединиться любой санкционированный пользователь в режиме мастера или клиента. Мастером может быть только один пользователь, ему предоставлены все возможности управления микроскопом. Все экспериментальные данные поступают в режиме реального времени как на компьютер мастера, так и на все компьютеры пользователей. Встроенный чат позволяет пользователям обмениваться короткими сообщениями. Права мастера можно передавать любому клиенту. Такая возможность оказалась очень удобной при наблюдении продолжительных процессов — роста бел-

ковых кристаллов, изменения конформации ДНК в растворах, перестройки липидов. На физическом факультете был запущен практикум сканирующей зондовой микроскопии с доступом к приборам через интернет. Демонстрация возможностей интернет-микроскопии была проведена в разных городах России, из Санта-Барбары и Аризоны в США, из Катаньи в Италии, а также многих других мест. В 1999 г. компания Asylum Research вдруг разместила на своем сайте информацию, что они создали первый в мире микроскоп с интернет-доступом. Мы порадовались за их успехи, сообщили о наших достижениях и предложили продвигать наши умения в область дистанционного образования в университетах и школах. Ответа не последовало, но всю новую информацию про интернет-микроскоп они сразу убрали. Так что дистанционное обучение, интернет-практикум зондовой микроскопии мы стали развивать и внедрять самостоятельно. Вскоре при поддержке академика РАН Виктора Александровича Кабанова такой практикум появился на кафедре высокомолекулярных соединений химического факультета МГУ. Сейчас интернет-практикум сканирующей зондовой микроскопии успешно работает на физическом факультет МГУ благодаря поддержке правительства Москвы. В практикуме 6 многофункциональных сканирующих зондовых микроскопов «ФемтоСкан», графические станции и программное обеспечение ФемтоСкан Онлайн. Реализованы все возможности удаленного доступа и удаленного интернет-практикума. Вскоре к своему удивлению мы обнаружили, что студенты любят выполнять удаленные измерения в практикуме по ночам, и часто это выпадает в ночь с воскресенья на понедельник. И так уж получилось, что пандемию коронавируса мы встретили со стопроцентной готовностью. Все практические занятия на зондовом микроскопе можно проводить удаленным образом.

## 1. АППАРАТУРА

Перед тем как перейти к самим изображениям и результатам наблюдений в микроскопах, давайте немного остановимся на рассказе об аппаратуре.

### Сканирующий туннельный микроскоп

Итак, самый первый микроскоп — сканирующий туннельный. Он же и самый капризный. Для него нужны проводящие чистые поверхности, желательно без адсорбата. Поэтому лучше проводить исследования в вакууме. А в вакууме уже можно изучать и свойства адсорбированных на поверхности молекул. Всё же, удаётся проводить измерения на воздухе. Очень подходят для этого подложки из золота и свежесколотого высокоориентированного пиролиитического графита. Кстати, качественный высокоориентированный пиролиитический графит произво-

дят в России в компании «Атомграф». На поверхности графита легко увидеть отдельные атомы — получить атомное разрешение.

Принцип работы сканирующего туннельного микроскопа представлен на рис. 1. Между металлическим зондом (остриём) и проводящей поверхностью прикладывается разность потенциалов в десятки–сотни милливольт. Зонд приближают к поверхности до появления туннельного тока, обычно величиной около наноампера. Затем зонд ведёт над поверхностью, поддерживая на постоянном уровне величину туннельного тока. Иголка отслеживает рельеф поверхности, например над атомом поднимается вверх, между атомами опускается вниз. Так дело обстоит в самом популярном режиме — постоянного туннельного тока. Чтобы этот режим работал, надо построить цепь обратной связи: если ток уменьшился, зонд надо приблизить к поверхности, в обратном случае — отдалить. Осуществляется это с помощью пропорционально-интегрального-дифференциального регулятора, в сокращении ПИД-регулятора. Кстати, большая часть обычных пользователей не понимает, как он работает. Но это не мешает им эмпирическим образом получать прекрасные изображения.

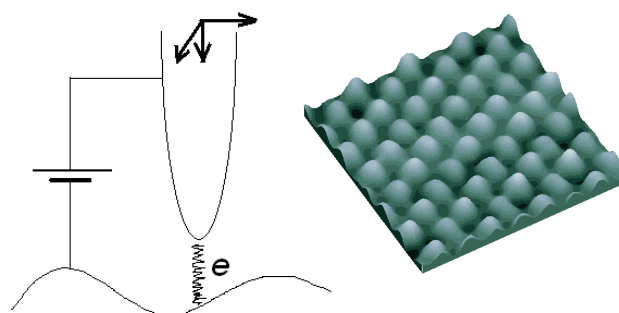


Рис. 1. В сканирующем туннельном микроскопе проводящая игла перемещается над поверхностью образца так, чтобы величина ток была постоянной (например, в 1 нА). Справа — пример изображения атомной решётки графита

Важным элементом туннельного микроскопа, а также любого другого зондового микроскопа является система прецизионного перемещения. Для этого используются, как правило, пьезоэлектрические подвижки. Прикладываем напряжение к электродам подвижки, и в соответствии с обратным пьезоэффектом создаваемое перемещение становится пропорциональным приложенному напряжению. Такие подвижки надо делать аккуратным образом. Например, чтобы при перемещении в 50 мкм погрешность и шумы были ниже уровня в 0.01 нм. Технически задача получается непростой, но решаемой.

### Атомно-силовой микроскоп

Следующий вариант зондового микроскопа — атомно-силовой микроскоп. Название общепринятое. Но когда-то оно нам чуть не создало много неприятностей. Мы вывозили микроскоп для совместной работы в Королевский институт технологий в Швеции. На обратном пути нас задержала таможня, и, поскольку микроскоп атомный и к тому же силовой, таможня потребовала от нас разрешения от Министерства атомной энергетики, Министерства внутренних дел и Министерства обороны. Мы быстро сообразили и спросили их: «Если он такой страшный, то как же вы его выпустили из России месяц назад?». Таможенники задумались... и пустили нас без задержек.

В самом простом варианте атомно-силовой микроскоп — это грамофонный проигрыватель: игла скользит по поверхности и отслеживает рельеф (рис. 2). Только сигнал преобразуется не в звук, а записывается на экране монитора. Но для развлечения сигнал можно также отправить и на звуковую карту. Существенное отличие в том, что сила между зондом и образцом в атомно-силовом микроскопе в 10 миллионов раз меньше, чем в грамофонном проигрывателе. В результате можно увидеть один атом. То, что мы упомянули — это контактный режим атомно-силового микроскопа. В целом, в многофункциональном сканирующем зондовом микроскопе мы насчитали около 100 различных режимов измерений. К ним относятся, например, режимы измерения силовых кривых, силового картирования поверхности, измерения локальных механических свойств: адгезии, упругости, вязкости, предела прочности, износостойкости и деформируемости. Определение электрических и магнитных свойств материалов — другая информативная область микроскопии.

### Сканирующий капиллярный микроскоп

Для проведения наблюдений биологических объектов и живой материи становится популярным сканирующий капиллярный микроскоп. В литературе он часто называется сканирующим ион-проводящим микроскопом. Но нам больше нравится первое наименование, где зонд — капилляр, а микроскоп — капиллярный. Точно и понятно.

Первый такой микроскоп изобрел Пол Хансма в Санта-Барбаре в МГУ [11].

В микроскопе используется капилляр с острым кончиком с выходным отверстием в десятки нанометров (рис. 3). Капилляр и чашку Петри с образцом заполняют электролитом, например физиологическим раствором, солёной водой. Используются два хлорсеребряных электрода. Один — в капилляре, другой — в чашке Петри. Между электродами прикладывается напряжение около 200 мВ. Когда капилляр находится в электролите далеко от образца, ток между электродами имеет постоянную

величину, обычно около ед. наноампера. Если капилляр приближается к поверхности, то ток из-за геометрических ограничений пространства пространства падает. Обычно приближение капилляра к поверхности образца останавливают, когда ток падает на доли процента. Это соответствует расстоянию до образца около диаметра отверстия капилляра. Повторяя процесс удаления и приближения капилляра, и запоминая точки его остановки, мы получаем карту, соответствующую рельефу образца. У капиллярного микроскопа есть как минимум три достоинства. Во-первых, капилляр имеет очень острый и узкий кончик, и может спокойно проходить все узкие расщелинки. То есть наблюдать привычный и очень шероховатый рельеф живых объектов. Во-вторых, при правильном сканировании удается избежать силового воздействия на поверхность образца. Ток через капилляр успевает уменьшиться раньше, чем появляется сила воздействия. И третье, немаловажное достоинство: капилляры можно изготавливать самому на пуллере, и стоит это будет недорого, что неплохо для экономики измерений.

### Программное обеспечение для обработки данных и изображений сканирующей зондовой микроскопии

Как правило, сканирующий зондовый микроскоп получает изображения за значительно более короткий срок, чем то время, которое потом потребуются для анализа экспериментальных данных. По этой причине качество и эффективность программного обеспечения играют ключевую роль во всём процессе сканирующей зондовой микроскопии. Этой ответственной работой — созданием программного обеспечения — занялся студент 3 курса физического факультета МГУ Александр Филонов в 1996 г. при поддержке индустриального партнера. Сейчас полноценную версию программного обеспечения можно скачать на сайте [www.femtoscan.ru](http://www.femtoscan.ru). Программное обеспечение также успешно работает для управления сканирующими зондовыми микроскопами серии «ФемтоСкан», находящимися в практике физического факультета и в Центре молодёжного инновационного творчества «Нанотехнологии» физического факультета.

В сканирующей зондовой микроскопии в изображениях используются различные цветовые палитры. Любимая в электронной микроскопии палитра в градациях серых оттенков в зондовой микроскопии не прижилась. Её заменила палитра в коричневых тонах. Человеческий глаз при наблюдении коричневого цвета включает не только палочки, но и все три типа колбочек, отвечающих за восприятие цвета. Вместе с тем разнообразные цветовые палитры позволяют удачно высветить ключевые детали на изображениях и тем самым существенно повысить эффективность восприятия. Таким образом, построение цветовой гаммы изображения превращается в настоящее изобразительное

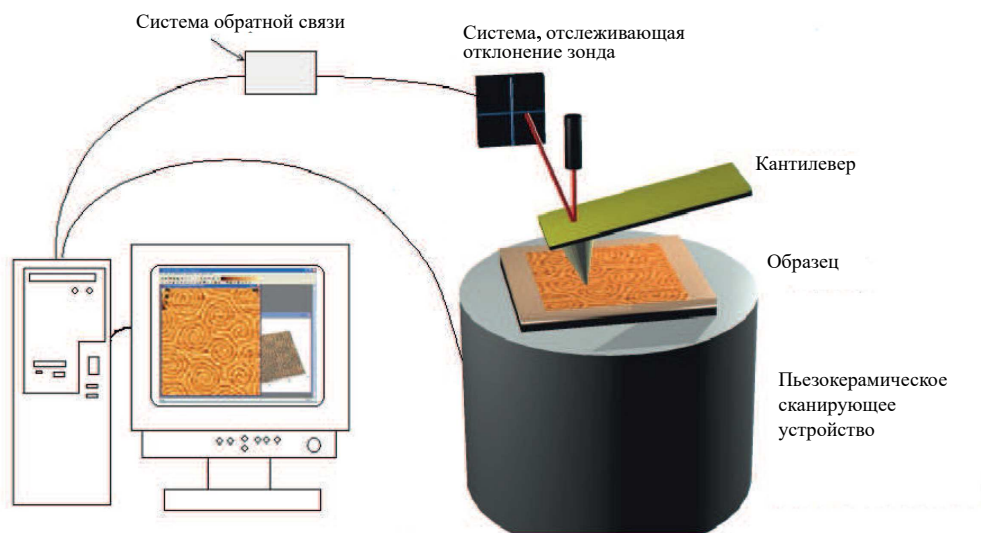


Рис. 2. Блок схема атомно-силового микроскопа

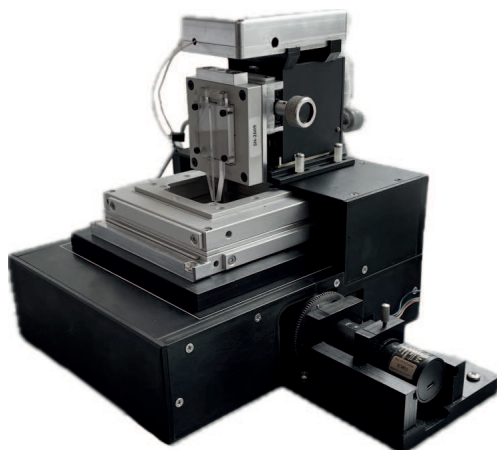


Рис. 3. Механическая система сканирующего капиллярного микроскопа. Диапазон прецизионного перемещения по осям  $X$ ,  $Y$ ,  $Z$  — 50 мкм, 50 мкм, 30 мкм, точность перемещения — 0.05 нм. Диапазон плавного автоматизированного перемещения по осям  $X$  и  $Y$  — 12 мм. Наличие встроенной инвертированной оптической системы наблюдения образца с автоматизированной системой фокусирования

искусство. Вместе с тем не надо забывать, что во многих случаях в зондовой микроскопии оттенки цвета передают информацию о высоте поверхности наблюдаемого объекта.

Некоторые примеры построения и обработки изображений приведены ниже (рис. 4–7, 9–16).

Здесь мы старались затронуть самые простые аспекты в технике зондовой микроскопии. Впрочем, вполне достаточные для начала знакомства с этими методами.

### Развитие микроскопии

Можно без особого преувеличения сказать, что сканирующая зондовая микроскопия — это физика в объеме одного нанометра.

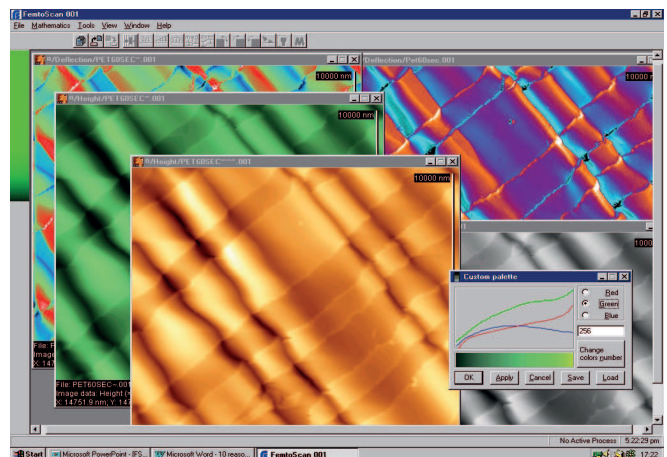


Рис. 4. Подбор цветовой палитры для отображения образца полиэтилентерафталата с нанесенным слоем платины толщиной 20 нм после одноосного растяжения плёнки

Ключевое слово в этом методе — зондовая. Наличие зонда различной модификации приводит к целому созвездию различных типов сканирующих зондовых микроскопов. Подчас, замена одного типа зонда приводила к появлению нового типа микроскопа. Так, проводящий зонд используется для электростатического микроскопа, магнитный зонд — для магнитно-силового микроскопа. Приведем ниже далеко не полный список различных типов микроскопов, появившихся в первое десятилетие зондовой микроскопии:

1. Сканирующий туннельный микроскоп, G. Binnig, H. Rohrer (1981), визуализация атомной структуры проводящих поверхностей [5].
2. Сканирующий ближнепольный оптический микроскоп, D.W. Pohl (1982), оптические

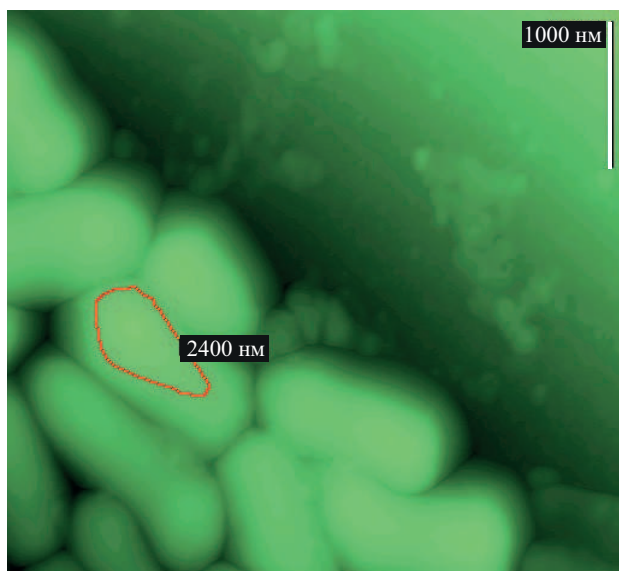


Рис. 5. Фрагмент колонии бактерий *Helicobacter pilory* на поверхности слюды. Цветовая палитра в зеленых тонах. Выделение красной линией уровня постоянной высоты на поверхности выбранной бактерии *Helicobacter pilory*

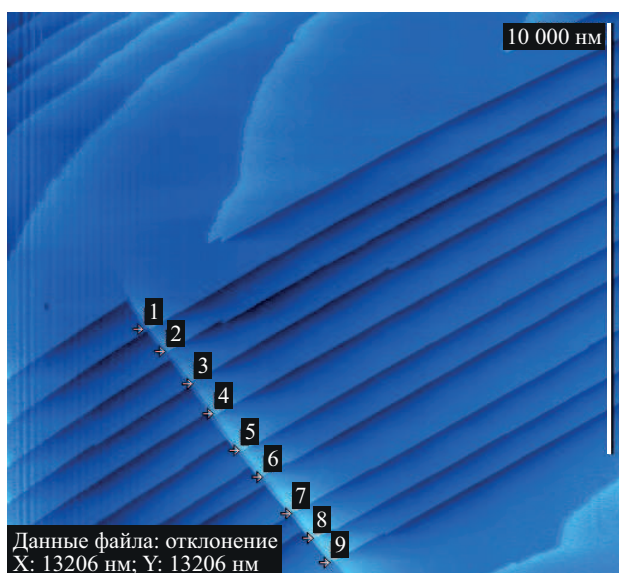


Рис. 6. Поверхность растущего кристалла лизоцима. На изображении поставлены метки для нумерации отдельных элементарных ступеней на поверхности кристалла

изображения с продольным разрешением 50 нм [12].

3. Сканирующий емкостной микроскоп, J.R. Matey, J. Blanc (1984), регистрация вариаций электрической емкости с разрешением 500 нм [13].
4. Сканирующий тепловой микроскоп, С.С. Williams, Н.К. Wickramasinghe (1985), регистрация перепадов температуры с продольным пространственным разрешением

50 нм [14].

5. Атомно-силовой микроскоп (сканирующий силовой микроскоп), G. Binnig, С.Ф. Quate, Ch. Gerber (1986), атомное разрешение на проводящих и непроводящих поверхностях [6].
6. Сканирующий бесконтактный микроскоп, Y. Martin, С.С. Williams, Н.К. Wickramasinghe (1987), визуализация поверхностей в режиме сил притяжения, пространственное разрешение в плоскости образца — 5 нм [15].
7. Магнитно-силовой микроскоп, Y. Martin, Н.К. Wickramasinghe (1987). изображения магнитных доменов с разрешением менее 100 нм [16].
8. Сканирующий фрикционный микроскоп, С.М. Mate, G.M. McClelland, S. Chiang (1987), атомные изображения в режиме сил трения [17].
9. Электростатический силовой микроскоп, Y. Martin, D.W. Abraham, Н.К. Wickramasinghe (1987), обнаружение элементарных зарядов [18].
10. Сканирующий ион-проводящий микроскоп, Paul Hansma (1989), получение трехмерных изображений объектов в солёной воде и электролитах при минимальном силовом воздействии [11].

Практически все эти методы реализованы в современных зондовых микроскопах, в том числе в аппаратуре, используемой на физическом факультете МГУ.

Были созданы и более экзотические методы:

1. Ближнепольный акустический микроскоп, К. Takata, Т. Hasegawa, S. Hosaka, S. Hosoki, Т. Komoda, низкочастотные звуковые измерения с разрешением в 10 нм [19].
2. Сканирующий микроскоп неупругого туннелирования, D.P.E. Smith, D. Kirk, С.Ф. Quate (1987), регистрация фоновых спектров молекул с помощью СТМ [20].
3. Сканирующий туннельный микроскоп, управляемый лазерным лучом, L. Arnold, W. Krieger, Н. Walther (1988), визуализация с помощью нелинейного преобразования света в области туннельного перехода [21].
4. Микроскоп с эмиссией баллистических электронов, изучение барьеров Шоттки с нанометровым пространственным разрешением, Kaiser W., Bell L. (1988) [22].
5. Силовой микроскоп с инверсной фотоэмиссией, J.H. Coombs, J.K. Gimzewski, B. Reihl, J.K. Sass, R.R. Schlitter (1988), люминесцентные спектры с пространственным разрешением в единицы нанометра [23].

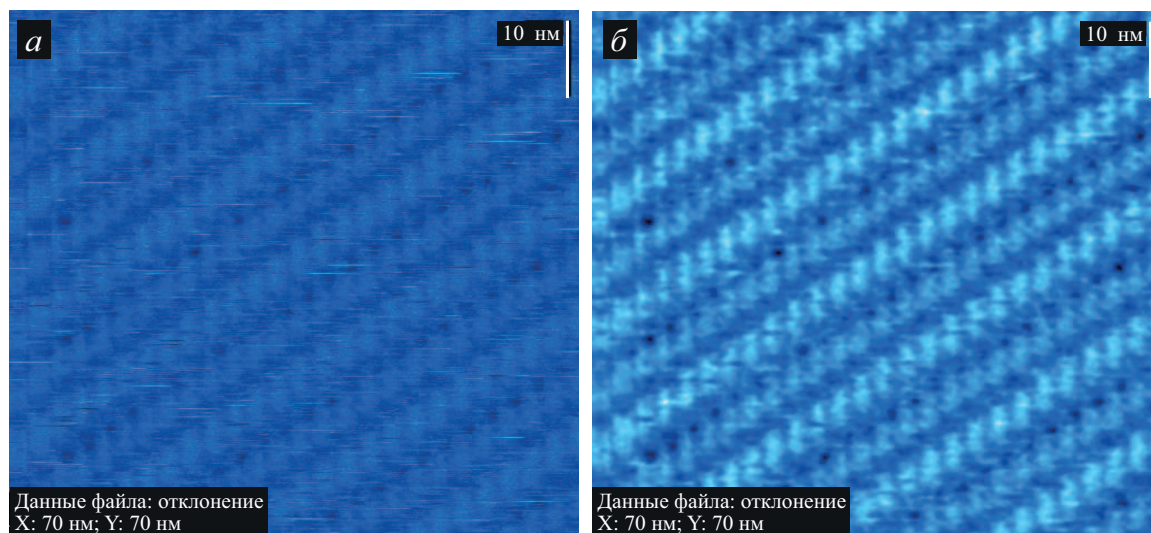


Рис. 7. Использование фурье-фильтрации для контрастирования молекулярной упаковки белка лизоцима: *a* — исходное изображение, *б* — после обработки

### Разработки микроскопов на физическом факультете

Первый на физическом факультете и первый в СССР зондовый микроскоп — сканирующий туннельный микроскоп — был разработан и создан в научной группе Владимира Ивановича Панова в 1985 году [3]. На протяжении многих лет в группе проводятся интенсивные исследования в области высоковакуумной туннельной микроскопии: изучение взаимодействия фторфуллеренов с поверхностью металлов [24, 25], туннельных особенностей в полупроводниковых наноструктурах [26], ближнепольной оптической микроскопии [27, 28] и многих других вопросов. В лаборатории криоэлектроники физического факультета МГУ проводятся интенсивные исследования в области одноэлектронного туннелирования [29–31]. В 1987–1990 гг. в группе В.И. Панова были созданы промышленные варианты микроскопов — сначала туннельного, а потом и атомно-силового микроскопа [32]. Справедливым будет заметить, что в это время все сотрудники научной группы активно делились знаниями и умениями со всеми заинтересованными. Видимо, в том числе благодаря этой открытости и доброжелательности, впоследствии в нашей стране была создана индустрия зондовой микроскопии мирового уровня.

Интересный факт. В коммерческом варианте сканирующего туннельного микроскопа все без исключения комплектующие были советского производства: сопротивления, конденсаторы, диоды, стабилитроны, транзисторы, ЦАПы и АЦП, операционные усилители, пьезокерамика, корпуса, экраны, трансформаторы и т.д.

Забавный факт. При конструировании механики мы считали, что пьезокерамику к основанию для уменьшения температурного дрейфа надо обязательно прикреплять титановым винтом. Для этого специально из титана вытачивали винт. Потом

стали использовать и обычный латунный винт. Для винта было важно всего лишь зафиксировать точку касания двух материалов с низким коэффициентом термического расширения — кварца и пьезокерамики ЦТС-19. С этой задачей справлялся и простой латунный винт.

Второй забавный факт. В 1996 г. при наличии скромного бюджета появилось большое желание создать новую версию высокотехнологичного микроскопа. Технологических возможностей было немного, поэтому для конструктивных деталей выбрали простые металлы: сплавы алюминия и латуни, хорошо поддающиеся механической обработке. Идея состояла в отработке самой конструкции микроскопа. Затем просто планировали поменять материалы на более механически подходящие и термостабильные варианты. К нашему удивлению, оказалось, что ничего менять не надо. Температурный дрейф составлял менее нанометра за несколько минут. Разработанная механическая система атомно-силового микроскопа приведена на рис. 8.

## 2. БИОНАНОСКОПИЯ. НАБЛЮДЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

### Бактерии

Первые публикации в России по атомно-силовой микроскопии биологических объектов вышли уже в 1997 г. в журнале, один из разделов которого посвящен микробиологии [33, 34], и в отдельной монографии [35]. В настоящее время атомно-силовая микроскопия стала важным методом для лабораторной диагностики особо опасных бактериальных инфекционных болезней [36]. Такая работа проводится в Российском научно-исследовательском противочумном институте «Микроб» [37].

Получилось так, что у нас, как и во всем мире,



Рис. 8. Механическая система атомно-силового микроскопа. Три основные части: измерительная головка с кантилевером, лазером и фотодиодом, основание с прецизионным сканером, пассивная виброзащитная подставка

сканирующие зондовые микроскопы сначала стали появляться в физических лабораториях. Лишь существенно позднее в химических, биологических и медицинских учреждениях. Физики стали изучать биообъекты подчас методом проб и ошибок.

Изучать живую природу увлекательно и интересно. Мы решили попробовать идти этим путем. Что-то мы слышали о бактериях и решили их понаблюдать. Моя знакомая Вера Гостева, много лет изучавшая бактерии на электронном микроскопе, посоветовала обратиться к доктору биологических наук Виктору Михайловичу Бондаренко, сотруднику НИИ микробиологии и эпидемиологии РАМН. В этом институте есть мировая коллекция бактериальных клеток. Виктор Михайлович привез к нам в чашке Петри на агаре колонии кишечных палочек — *Escherichia coli*. Как и на что их правильно наносить мы не понимали и опыта не имели. Выбрали способ, который нам казался возможным, но против которого были строгие возражения со стороны микробиологов. Как мы поступили? Бактериологической петлей аккуратно с колонии сняли часть бактерий, опустили их в пробирку с дистиллированной водой, взболтали до образования однородной взвеси и примерно 4 мкл поместили на поверхность только что сколотой слюды марки мусковит. Вода быстро растекается на гидрофильной поверхности чистой слюды, бактерии располагаются на её поверхности. Через 5 мин после высыхания плёнки воды помещаем образец в атомно-силовую микроскоп. Каково же было наше удивление, когда на экране компьютера появлялись бактерии с отростками-пилями и уложенные в красивый орнамент липополисахариды клеточной стенки (рис. 9). Как нам потом стало понятно, за счёт быстрого приготовления образца мы сумели избежать осмотического шока бактерий и разрыва их оболочки, чего очень боялись микро-

биологи. Потом, уже при детальном изучении, мы обнаружили, что разрушение бактериальной стенки в дистиллированной воде наблюдается при нахождении в ней бактерий не менее чем в течение 15–20 мин. Нам повезло, потому что меньше думая, мы быстро делали.

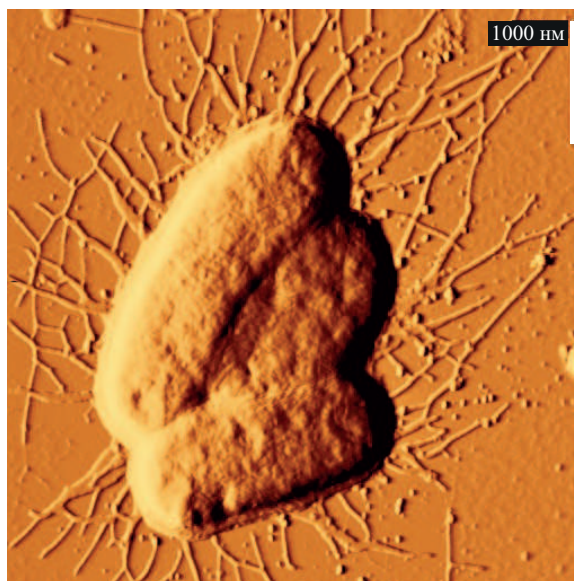


Рис. 9. Изображение бактерий *Escherichia coli*

Окрыленные успехом, мы перешли к более систематическому изучению бактерий. И вскоре на примере исходного родительского штамма кишечной палочки и генномодифицированного штамма с пришитым геном *rfb-a3,4* от возбудителя дизентерии — *Shigella flexneri* мы увидели существенное различие в упаковке полисахаридов наружной мембраны (рис. 10). В результате вышла статья про векторные бактериальные вакцины [34].

### Биомакромолекулы

Белки [38], нуклеиновые кислоты ДНК [39, 40] и РНК [41], липиды [42, 43], полисахариды стали интересными объектами для сканирующей зондовой микроскопии.

Для успеха этих наблюдений надо было соблюдать несколько правил. Во-первых, работать с чистыми препаратами и подложками. Во-вторых, использовать надежные и хорошо апробированные протоколы нанесения образцов на гладкие подложки. В-третьих, для достижения высокого разрешения особое внимание надо уделять на качество используемых зондов [44]. В целом оказалось, что надо работать в тесном контакте с молекулярными биологами. В МГУ имени М.В. Ломоносова есть уникальные возможности для такого сотрудничества. Недаром сейчас в МГУ 41 факультет.

В результате были получены уникальные результаты по компактизации ДНК в растворах — переходу в тороидальные структуры. Для наблюдения



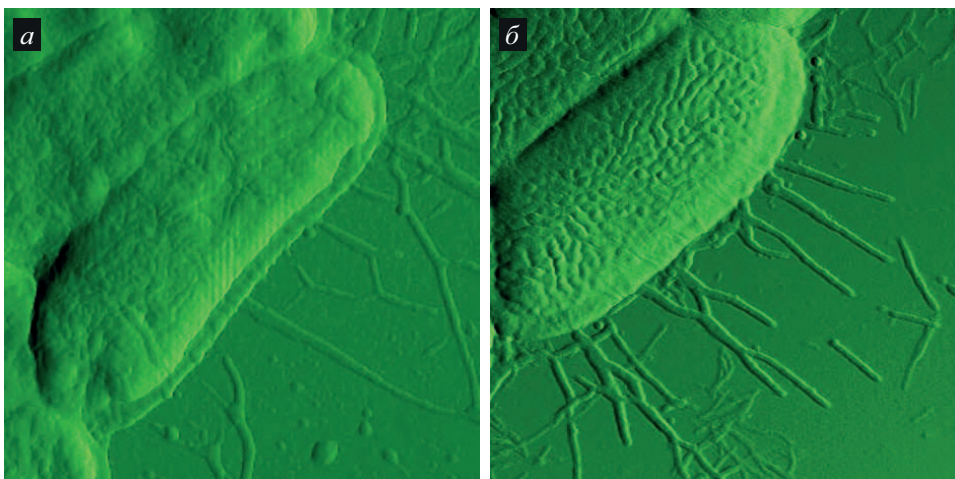


Рис. 10. Различия в клеточной поверхности исходных (а) и гибридных (б) бактерий *Escherichia coli* K12, наследующих *gfb-a3,4* ген *Shigella flexneri*, выявляемые с помощью атомно-силовой микроскопии [34]

менее стабильных, чем ДНК, молекул РНК был предложен метод постепенного раздевания вируса табачной мозаики при постепенном высвобождении молекул РНК. Раздеванием в данном случае было освобождение вируса от белковой оболочки под действием мочевины. Подробнее об этом мы расскажем в разделе «Вирусы раздеваются».

Совместно с Институтом имени Н.Ф. Гамалеи была обнаружена разница в структуре и упаковке липополисахаридов наружной мембраны клеточной стенки исходного и генетически модифицированного штаммов. Для этого в ДНК исходной кишечной палочки был добавлен *gfb-3,4* ген от *Shigella flexneri*, отвечающий за более разветвленную упаковку молекул наружной мембраны.

### Как растут белковые кристаллы

Атомно-силовая микроскопия позволила в режиме реального времени проводить наблюдения роста белковых кристаллов [45–48].

История с ростом белковых кристаллов для меня была очень увлекательной. Но связано это было в первую очередь не с лизоцимом, рост которого мы изучали, а с тем человеком, с которым мне посчастливилось работать, — с профессором Леонидом Николаевичем Рашковичем. С человеком поразительной деликатности и душевности и одновременно удивительной увлеченности выбранным научным направлением — ростом кристаллов. Мы часто беседовали с Леонидом Николаевичем на разные темы, и беседы, благодаря ему, были очень глубокими. Но каждый раз каждая из наших бесед заканчивалась обсуждением проблем и вопросов физики роста кристаллов. И это тоже было в высшей степени интересно. Очень хорошо было бы, чтобы и сам атомно-силовой микроскоп умело решал старые задачи и создавал новые. Точнее, не микроскоп, а новые экспериментальные данные, полученные с его

помощью.

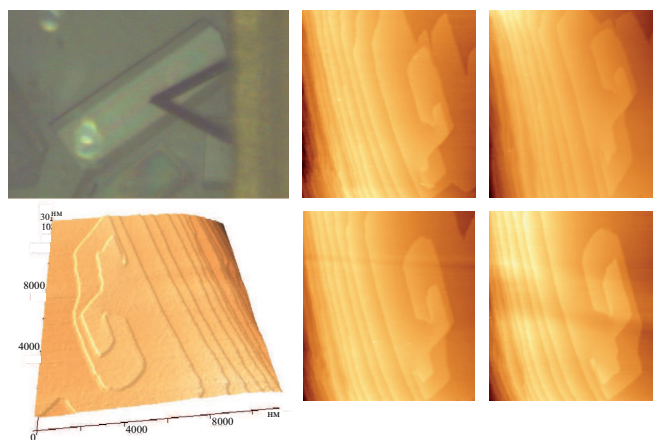


Рис. 11. Образование двухзаходовой спирали на поверхности кристалла лизоцима

Какие вопросы мы ставили перед атомно-силовым микроскопом? Что является элементарной строительной единицей? Например, в случае лизоцима — одна молекула, две или четыре? Каков механизм роста? Каковы кинетические параметры роста: скорость присоединения строительных единиц в излом ступени, скорость движения самих ступеней, вероятность присоединения и отсоединения строительных единиц? Для всего этого надо было получить молекулярное разрешение на поверхности кристалла лизоцима в пересыщенном растворе в процессе его роста. В течение целого года этого достичь не удавалось. Кристаллы видны, поверхность их ровная, молекул не видно. Анализ литературы давал нерадостные прогнозы. Утверждалось, что на столь мягком материале в атомно-силовом микроскопе увидеть отдельные молекулы нельзя. Но что-то нам подсказывало, что это не так. Через год мы поняли, что должны сойтись одновременно два условия. Первое — сканировать надо практически при нулевой силе воздействия в контактной моде.

Это вполне возможно, поскольку в жидкости нет адгезионных сил, которые на воздухе сильно мешают уменьшить силу в точке контакта зонд-образец. И второе — сканировать поверхность лизоцима надо после нескольких часов его нахождения в жидкостной ячейке в условиях контроля за температурой и уровнем пересыщения раствора. Если работа начиналась утром, то молекулярное разрешение на лизоциме удавалось получить только вечером, когда формально рабочий день заканчивался. С вечера и до самой поздней ночи получались высококачественные изображения поверхности растущего кристалла лизоцима с молекулярным разрешением [49]. В результате удавалось даже создавать видеоролики о росте кристалла лизоцима. Наблюдения стали рутинными, и их передали аспиранту. Но тут произошло что-то странное. В течение года ему не удалось получить ни одного изображения кристалла лизоцима с молекулярным разрешением. Разгадка оказалась простой. Он просто уходил по окончании рабочего дня. В то самое время, когда микроскоп только готовился к показу белковых молекул на кристалле.

### Вирусы

Сканирующая зондовая микроскопия существенно помогла в изучении вирусов [50, 51], в том числе вызвавшего пандемию коронавируса [52].

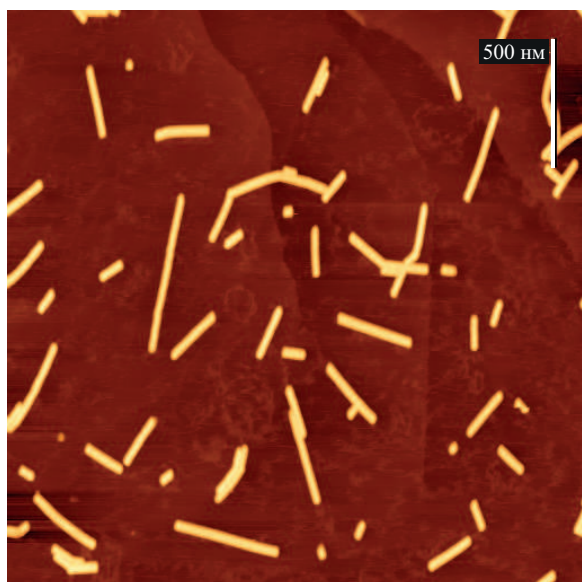


Рис. 12. Изображение вирусных частиц. Видны целые частицы с длиной в 300 нм, фрагменты вирусов и их агрегаты, соединенные по торцам

Вирусы — одни из тех объектов, которые можно и нужно изучать в атомно-силовой микроскоп (рис. 12). Впоследствии, после накопления опыта, методику измерений мы описали в журнале *Methods* [53].

Начинали мы изучать растительные вирусы, ко-

торые абсолютно безопасны для наблюдающих их студентов, аспирантов и научных сотрудников. В общем, для всех людей. Пока не известен ни один случай заражения человека вирусом растений.

Атомно-силовая микроскопия не только позволила получать трехмерные изображения вирусных частиц, но открыла и принципиально новые возможности проводить измерения механических свойств вирусных частиц. Например, атомно-силовой микроскоп позволил получить данные о вкладе в величину механической жесткости как белковой оболочки, так и молекулы РНК, расположенной внутри белковой оболочки.

### Вирусы раздеваются

Наблюдение вирусов позволило нам решить другую задачу. Впервые провести в атомно-силовом микроскопе наблюдение молекулы нуклеиновой кислоты — РНК. Для этого мы воздействовали на вирус реагентом (мочевинной) таким образом, чтобы началась частичная разборка белковой оболочки и высвобождение молекулы РНК. Именно так впервые мы увидели сначала фрагмент молекулы РНК, высвобождающейся из белковой оболочки, а потом и молекулы РНК, полностью освобожденные от белковой защиты.

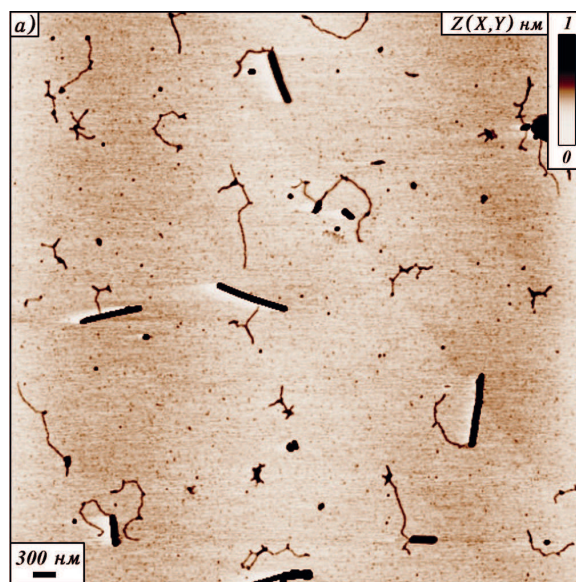


Рис. 13. Частицы ВТМ на слюдяной подложке; частицы были частично депротенизированы в 72% ДМСО, на торцах частиц ВТМ видны высвободившиеся молекулы РНК. Изображение на атомно-силовом микроскопе получено М. О. Галлямовым [7]

Наблюдение РНК вызывает определенные сложности. Во-первых, препарат должен быть очень чистым. Наблюдаемая высота молекул РНК находится на уровне долей нанометра. Поэтому любая примесь в растворе может декорировать подложку и создавать шумовой фон. Во-вторых, надо обес-

печить релаксацию РНК на подложке, чтобы она была в развернутом состоянии. В-третьих, популярны чистые атомно-гладкие подложки — графит и слюда — для этого не подходят. Необходимо проводить модификацию поверхности. Для слюды используют в качестве модификаторов АРТЕС или более практический вариант в виде аминопропилсилатрана. Эти модификаторы убирают отрицательный заряд на слюде, создают небольшой положительный заряд, который способствует адсорбции отрицательно заряженной нуклеиновой кислоты. Раньше наблюдение нуклеиновых кислот было целым искусством, теперь — строгим соблюдением чистоты препаратов и педантичным выполнением практических рекомендаций.

### Эритроциты

Атомно-силовая микроскопия предоставила уникальные возможности в изучении эритроцитов [55, 56].

Если рассматривать клетки высших организмов, то в атомно-силовой микроскопии удобным для исследования объектом являются красные кровяные клетки — эритроциты. Подготовка эритроцитов для наблюдения в сканирующей зондовой микроскопии ничем не отличается от ручного нанесения мазка крови на покровное стекло в медицинской лаборатории при взятии медсестрой капли крови на анализ. Сейчас, правда, процедура упростилась, медсестра берёт просто образец крови и отправляет в лабораторию, где автомат осуществляет нанесение, наблюдение и измерение. Но при наблюдении эритроцитов в микроскопе их нанесение надо проводить по старинке.

Первые эксперименты с эритроцитами были приведены совместно с Институтом реаниматологии. Эритроциты первоначально были подвергнуты электропорации, в результате которой под действием электрического поля было достигнуто локальное повреждение мембраны. Неясен был характер этих повреждений. Первые же эксперименты позволили наблюдать образование локальных пор (отверстий) нанометрового размера в мембране эритроцитов.

Сканирующая капиллярная микроскопия позволила провести наблюдение за эритроцитами в жидкой среде (буфере Аллена) в процессе его трансформации из двояковогнутой дискообразной формы в эхиноцит и далее в форму акантоцита.

### Нейроны

Атомно-силовая микроскопия является удачным методом для детального изучения нейронов [57]. Она успешно применяется при изучении неврологических расстройств на экспериментальных моделях [58]. Отдельные исследования по характеристике биофизических свойств нейронов проведены на молекулярном уровне (картирование белков на мембранах нейронных клеток) [59–61], клеточном

уровне (биомеханика нейронов) [62, 63] и тканевом уровне (механика тканей головного мозга) [64–66].

Конечно, изучать нейроны надо в живом состоянии в процессе их функционирования. Пока это удается, но далеко не полноценным образом. Группа Юрия Корчева, с которым мы установили творческое сотрудничество в 2013 г., продемонстрировала уникальные возможности сканирующей ион-проводящей микроскопии по трехмерному наблюдению живых нейронов с детальной визуализацией тела клетки: сомы, аксонов, дендритов и синапсов [67].

На разработанной совместно с Юрием Корчевым установке капиллярного микроскопа мы получили изображения единичных дендритов с диаметром в десятки нанометров [68]. Здесь используется режим деликатного сканирования практически без силового воздействия на изучаемый объект (рис. 14).

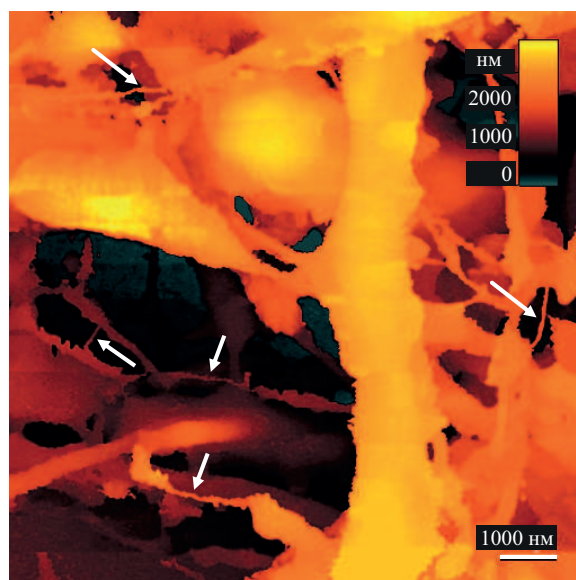


Рис. 14. 2D-изображение нейронов эмбрионов крысы на 14 день внутриутробного развития. Стрелки указывают на дендриты диаметром около 50 нм. Капилляр не оказывает силового воздействия на дендриты, тем самым не приводя к их разрушению во время сканирования [68]

### Клетки

Удачным объектом для наблюдения в атомно-силовом и сканирующем капиллярном микроскопах являются эритроциты (рис. 15). Главное, что они всегда под рукой. Точнее — и в руке, и в нас.

Опухолевые клетки являются объектом многих наблюдений в сканирующем капиллярном микроскопе [69–72]. Одним из диагностических критериев могут служить параметры шероховатости клеточной мембраны в различных её участках [73]. При этом в сканирующей капиллярной микроскопии измерение шероховатости проводится без дополнительного силового воздействия. Показано, что при воздействии противоопухолевых препаратов неко-

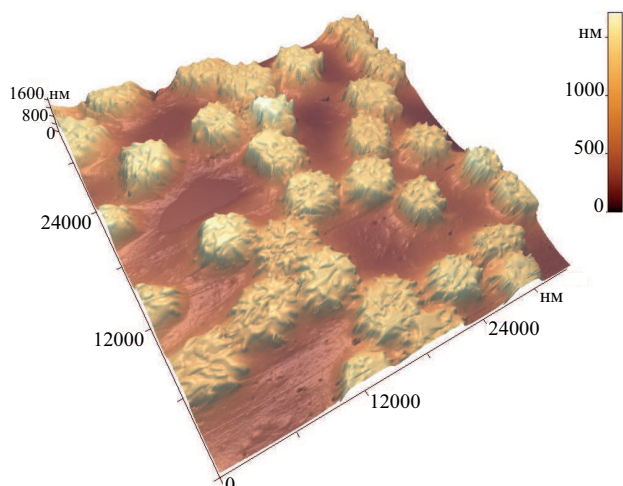


Рис. 15. Изображение клеток крови на поверхности кровяного стекла. Все клетки имеют характерную для эритроцитов морфологию. Атомно-силовая микроскопия

дазола и цисплатина наблюдаются различия в характерной шероховатости поверхности опухолевых клеток HeLa [74].

### Срезы ткани

Наблюдение живой материи с помощью сканирующей зондовой микроскопии является активно развивающимся и высокоинформативным направлением исследований [75].

В рамках работы [76] с помощью сканирующей капиллярной микроскопии были исследованы образцы *Substantia nigra* от донора без неврологических патологий и донора с болезнью Паркинсона. Была оценена 3D морфология срезов, визуально показано, что срезы донора без неврологических патологий имеют более разветвленную поверхность по сравнению с образцами от больного паркинсонизмом.

Образцы ткани от здоровых характеризуются большей структурированностью поверхности, наличием характерных впадин с кратерами и ярко выраженными краями (рис. 16). Морфология срезов от больных паркинсонизмом визуально более однородная, не имеет характерных перепадов с выраженными кратерами.

### 3. НЕМНОГО О СКУЧНОМ. МЕТРОЛОГИЯ

Хотя эта тема может показаться и скучной, но учитывая её важность, вполне закономерно, что ей посвящено большое количество публикаций [77, 78]

Пространственное разрешение сканирующего туннельного и атомно-силового микроскопа по вертикали, что соответствует минимально измеряемым перепадам высоты поверхности образца, находится на уровне сотых и тысячных долей нанометра. Латеральное разрешение (в плоскости

образца) определяется конечными размерами зонда — кончика зонда туннельного микроскопа или острия кантилевера атомно-силового микроскопа — на уровне 0.1–1 нм. В случае сканирующего капиллярного микроскопа латеральное разрешение сопоставимо с диаметром выходного отверстия нанокapилляра и может составлять десятки нанометров.

Возникает вопрос: «Какими средствами производить измерение перемещений нанометрового и субнанометрового разрешения?» Для этих целей можно использовать калибровочные решетки. Широко используются статические измерительные меры, изготовленные методом фотолитографии на кремниевой пластине. Также широко используются кварцевые меры [79], полимерные решетки и пр. У статических решёток есть ряд недостатков, они требуют бережного обращения, боятся загрязнений и механических повреждений.

Есть также динамические меры. Динамические меры в процессе калибровки микроскопа изменяют свои геометрические размеры. При этом можно варьировать не только величину перемещения, но и скорость, а также его траекторию [80].

Примером такой динамической меры является стандарт нанометра. В нем используется пьезокерамическая пластинка. Метрологическая точность достигается тем фактом, что на электроды пластины прикладывается напряжение одинаковой амплитуды и частоты. В результате гистерезис и крип имеют постоянную величину. В таких мерах целесообразно использовать пьезоэлектрический материал с малым гистерезисом [81]. Перемещение пьезокерамической пластины в поперечном направлении (по оси  $Z$ ) зависит только от величины приложенного напряжения  $U$  и пьезомодуля  $d_{33}$ :

$$dZ = U d_{33}.$$

Для типичного значения  $d_{33} = 2 \times 10^{-10}$  м/В и приложенного напряжения  $U = 5$  В достигаемое перемещение пластины составит 1 нм.

Гистерезис и нелинейность в керамике проявляется тем меньше, чем меньше величина напряженности электрического поля в ней. Поскольку перемещение пьезокерамической пластины в поперечном направлении не зависит от толщины самой пластинки, то увеличивая толщину пластинки можно уменьшить гистерезис и нелинейность, не влияя на величину её перемещения.

Воспроизводимость эталона нанометра находится на уровне 0.001 нм. При этом точность такого эталона нанометра выше, чем точность эталона метра, которая находится на уровне 0.01 нм. Эталон нанометра удобно использовать для определения геометрических размеров атомных структур (рис. 17).

Метрология является верной спутницей сканирующей зондовой микроскопии.

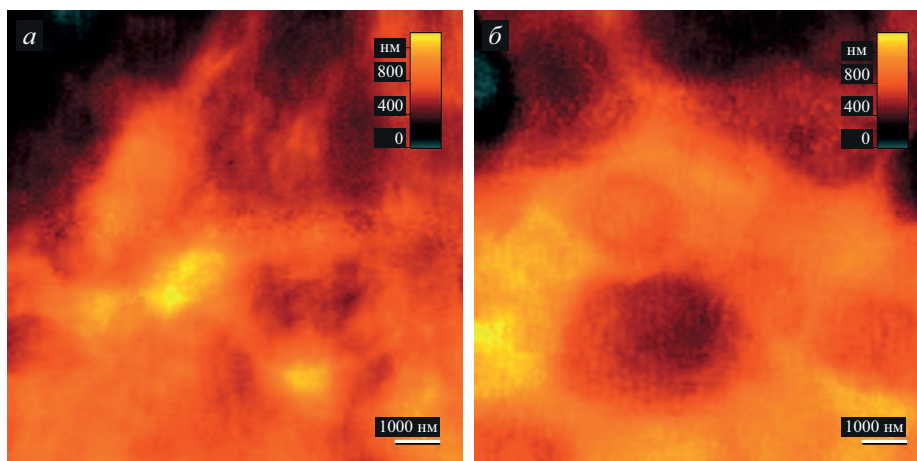


Рис. 16. Сканирующая капиллярная микроскопия. *a* — Образец среза ткани черной субстанции донора без неврологических патологий ( $Rq_{\text{среднее}} = 250 \pm 48$  нм); *б* — образец среза ткани донора, страдающего болезнью Паркинсона ( $Rq_{\text{среднее}} = 180 \pm 22$  нм). Образцы срезов тканей доноров, страдающих болезнью Паркинсона, демонстрируют менее разветвленную структуру поверхности в сравнении с образцами доноров без неврологических патологий [76]

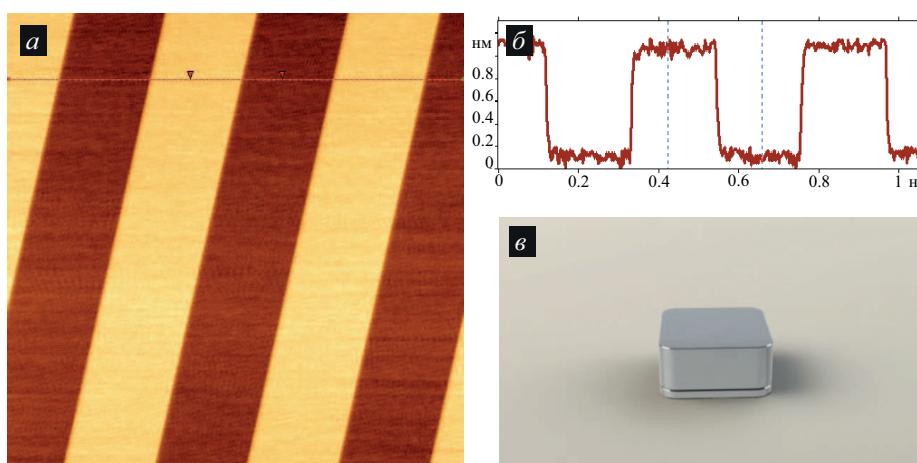


Рис. 17. Получаемый рельеф измерительной динамической меры стандарта нанометра в атомно-силовом микроскопе: *a* — 2D-изображение, *б* — поперечное сечение, *в* — общий вид меры

#### 4. ОБ ОЧЕНЬ ИНТЕРЕСНОМ!

В сканирующем туннельном микроскопе измеряемой величиной является значение туннельного тока. Туннельный эффект является квантово-механическим явлением. При наличии разности электрических потенциалов между иглой и образцом наблюдается направленный поток туннелирующих электронов. Величину тока часто выбирают около 1 нА. При сканировании величину тока поддерживают постоянной и при этом даже не упоминают о квантовой механике.

В атомно-силовом микроскопе в контактном и резонансном режимах возникают силы отталкивания. Возникает вопрос, какова природа этой силы? В стандартной физической модели есть четыре типа взаимодействия: гравитационное, электромагнитное, сильное и слабое. К какому из этих взаимодействий относится сила отталкивания в атомно-силовом микроскопе? Правильный ответ ставит

многих в тупик. Ни к какому из этих взаимодействий. Зонд микроскопа не проваливается сквозь образец из-за квантово-механического запрета — правила Паули: два электрона с одинаковым набором всех квантовых чисел не могут находиться в одном месте пространства [82]. Позднее этот запрет Вольфганг Паули установил как решение релятивистской квантовой механики для фермионов — частиц с полуцелым спином [83].

В сканирующем капиллярном микроскопе проводят измерение ионного тока, протекающего через капилляр от одного электрода ко второму. Просто закон Ома. Единственно — надо не забывать об электрокинетических явлениях. Вблизи поверхности стекла в воде находится приповерхностный слой противоионов. Наличие этого слоя может приводить к забавному эффекту. Если использовать капилляр с небольшим отверстием и подавать положительный потенциал на электрод, расположенный внутри капилляра, то при приближении ка-

пилляра к поверхности образца может происходить не уменьшение ионного тока, а его кратковременное увеличение. Наблюдается так называемый пик-эффект [84]. Причиной явления является смещение положительных ионов приповерхностного слоя. Это эффект электроосмоса. Электроосмос был впервые открыт в 1807 г. профессором Московского университета Федором Федоровичем Рейссом [85]. Компьютерное моделирование этого эффекта для случая сканирующего капиллярного микроскопа проведено в работе А.О. Голубка и соавторов [86]. Для уверенного применения сканирующего капиллярного микроскопа и рациональной интерпретации полученных данных весьма полезно очень внимательно изучить отличную монографию О.Н. Григорова «Электрокинетические явления» [87].

## 5. ЧТО ДАЛЬШЕ?

Предсказывать дальнейшее будущее развитие бионаноскопии не очень благодарное дело. Ещё в своей первой оценке возможностей сканирующей туннельной микроскопии Г. Бинниг и Х. Рорер предполагали получить пространственное разрешение на уровне 50 нм. А вышли сотые доли нанометра.

Ясно, что зондовая микроскопия будет постепенно внедряться в практику клинической медицины. Путь этот будет не столь простым и прямолинейным, как может показаться. Объясняется это не только традиционной консервативностью современной медицины, но и необходимостью автоматизировать рутинные операции сканирующей зондовой микроскопии. На этом пути ещё много новых интересных физических и инженерных решений. Причём подчас отделить инженерные и физические решения друг от друга будет непросто или даже невозможно. Ясно, что прогресс будет значительным.

## Благодарности

Работать на физическом факультете оказалось большой радостью и удачей. И в основном благодаря умным и доброжелательным людям, которых так много в МГУ. Это так хорошо, когда можно прийти с вопросом и получить полноценный и содержательный ответ. Я с большей благодарностью отношусь к мудрым людям, которые меня научили многому: академикам Владимиру Васильевичу Мигулину, Виктору Александровичу Кабанову, Иосифу Георгиевичу Атабекову, Валерию Васильевичу Лунину, Алексею Михайловичу Егорову, Алексею Ремовичу Хохлову. Не только научили, но и во многом помогли. Мой первый руководитель на кандидатской диссертации Александр Александрович Белов терпеливо и настойчиво учил меня экспериментальному мастерству. Я очень благодарен ему за то, что у меня хоть что-то получилось из того, чему он меня учил. По крайней мере, я так надеюсь.

Все время меня окружали очень талантливые коллеги, без которых мало бы что удалось сделать: Николай Викторович Русанов, Александр Викторович Степанов, Сергей Валентинович Савинов, Сергей Иванович Васильев, Маслова Наталья Сергеевна, Юрий Николаевич Моисеев, Владимир Глебович Сергеев, Ольга Анатольевна Пышкина. Мне очень повезло, что мне помогали умные и очень талантливые аспиранты. На выходе получилось 20 отличных диссертационных работ. Особую благодарность я хотел бы выразить Марату Галлямову, Ольге Киселёвой и Евгению Дубровину не только за их постоянную помощь, но и за то, что они свою крайне полезную и творческую работу продолжают на физическом факультете МГУ.

Моё быстрое продвижение в области сканирующей зондовой микроскопии стало возможно благодаря вхождению в 1987 г. в научную группу Владимира Ивановича Панова. Я ему искренне благодарен за его неоценимую помощь. Умения, талант, физическая интуиция Владимира Ивановича были залогом наших успехов не только в физике, но и в научном приборостроении.

Не могу не выразить искреннюю благодарность всем моим помощникам, которые активно участвуют в жизни лаборатории в настоящее время, членам нашей дружной научной группы физики живых систем Ахметовой А.И., Белову Ю.К., Пановой С.М., Советникову Т.О., Терентьеву А.Д. Особая благодарность мастеру по точным и специальным приборам Прохорову Александру Николаевичу. Великому мастеру, в руках которого рождаются важные и нужные механические детали микроскопов для проведения исследований.

## Послесловие

Нам всегда хотелось заниматься чем-то полезным. Физика даёт для этого много уникальных возможностей. В 1987 г. мы выбрали направление сканирующей зондовой микроскопии. В ней как минимум два в одном. С одной стороны, физические методы открывают новые возможности исследования материи, а с другой стороны, возникают столь же широкие возможности по созданию новой физической аппаратуры. Иногда физику противопоставляют инженерному искусству. В зондовой микроскопии они создают единое целое. Недаром Нобелевскую премию по физике 1986 г. вручили фактически за инженерную разработку — за изобретение сканирующего туннельного микроскопа. Общая дорога физики и инженерии — это путь успеха. У нас получилось при наличии единства эффективное разделение труда: на физическом факультете мы проводили исследования, измерения, а наш индустриальный партнёр ООО НПП «Центр перспективных технологий» занимался разработкой, конструированием и производством сканирующих зондовых микроскопов и программного обеспечения. Работали и работаем дружно и вместе.

- [1] Васильев С.И., Леонов В.Б., Панов В.И., Савинов С.В. // Докл. АН СССР. **297**. № 6, 1351 (1987). (Vasiliev S.I., Leonov V.B., Panov V.I., Savinov S.V. // Doklady Akademii nauk SSSR. **297**, N 6. 1351 (1987).)
- [2] Васильев С.И., Леонов В.Б., Панов В.И. // Сканирующая туннельная микроскопия в воздушной среде. Препринт физ. ф-та МГУ № 14/1987, 1987.
- [3] Васильев С.И., Леонов В.Б., Панов В.И. // Письма в ЖТФ. **13**, Вып. 15. 937 (1987).
- [4] Бинниг Г., Рорер Г. // УФН. **154**, № 2. 261 (1988).
- [5] Binnig G., Rohrer H., Gerber C., Weibel E. // Appl. Phys. Lett. **40**. 178. (1982).
- [6] Binnig G., Gerber Ch., Quate C.F. // Phys. Rev. Lett. **56**. 930 (1986).
- [7] Marti O., Drake B., Hansma P.K. // Appl. Phys. Lett. **51**, N 7. 484. (1987).
- [8] Бинниг Г., Рорер Г. // УФН. **154**, № 2 (1988).
- [9] Васильев С.И., Леонов В.Б., Моисеев Ю.Н., Панов В.И. // Письма в ЖТФ. **14**, Вып. 8. 727 (1988).
- [10] Maslova N.S., Panov V.I. // Uspekhi Fizicheskikh Nauk **157**, № 1. 185 (1989).
- [11] Hansma P.K., Drake B., Marti O. et al. // Science. **243** (4891). 641 (1989).
- [12] Pohl D.W., Denk W., Lanz M. // Appl. Phys. Lett. **44**, N 7. 651 (1984).
- [13] Matey J.R., Blanc J. // J. of Appl. Phys. **57**, N 5. 1437. (1985).
- [14] Williams C.C., Wickramasinghe H.K. // Appl. Phys. Lett. **49**. 1587 (1986).
- [15] Martin Y., Williams C.C., Wickramasinghe H.K. // J. of Appl. Phys. **61**. 4723 (1987).
- [16] Williams C.C., Wickramasinghe H.K. // Appl. Phys. Lett. **49**. 1587 (1986).
- [17] Mate C.M., McClelland G.M., Erlandsson R., Chiang Sh.S. // Phys. Rev. Lett. **59**, 1942 (1986).
- [18] Martin Y., David W., Abraham D.W., Wickramasinghe H.K. // Appl. Phys. Lett. **52**. 1103 (1988).
- [19] Takata K., Hasegawa T., Hosaka S. et al. // Appl. Phys. Lett. **55**, N 17. 1718-1720. (1989).
- [20] Smith D.P.E., Kirk M.D., Quate C.F. // J. Chem. Phys. **86**, N 11 6034 (1987).
- [21] Arnold L., Krieger W., Walther H. // J. Vac. Sci. Technol. **A6**, N 2. 466 (1988).
- [22] Kaiser W., Bell L. // Phys. Rev. Lett. **60**, N 14. 1406 (1988).
- [23] Gimzewski J.K., Reihl B., Coombs J.H., Schlittler R.R. // Zeitschrift Fur Physik B Condensed Matter. **72**, N 4. 497 (1988).
- [24] Орешкин С.И., Петухов М.Н., Музыченко Д.А. и др. // Письма в ЖЭТФ. **119**, № 3. 212 (2024).
- [25] Орешкин А.И., Бахтизин Р.З., Музыченко Д.А. и др. // Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. № 3. 3 (2021). (A.I. Oreshkin, R.Z. Bakhtizin, D.A. Muzychenko et al. // Moscow Univ. Phys. Bull. **76**, N 3. 117 (2021).)
- [26] Arseev P.I., Mantsevich V.N., Maslova N.S., Panov V.I. // Physics Uspekhi. **60** 1067 (2017).
- [27] Frolov A.Yu., Van de Vondel J., Panov V.I. et al. // Nanophotonics. **11**, N 3. 543. (2022).
- [28] Frolov A.Yu., Verellen Niels V., Jiaqi Li et al. // Nano Letters. N 17. 7629 (2017).
- [29] Shorokhov V.V., Presnov D.E., Amitonov S.V. et al. // Nanoscale. N 9. 613 (2017).
- [30] Дзегсян С.А., Шорохов В.В., Преснов Д.Е. и др. // Вестник Московского университета. Серия 3: Физика, астрономия. № 5. 32 (2017). (S.A. Dagesyan, V.V. Shorokhov, D.E. Presnov et al. // Moscow Univ. Phys. Bull. **72**, N 5. 474 (2017)).
- [31] Dobrynin D.M., Shorokhov V.V., Krupenin V.A. // J. of Physics: Conference Series. N 1482. (2020).
- [32] Moiseev Y.N., Panov V.I., Savinov S.V. et al. // Ultramicroscopy. **42** 1596 (1992).
- [33] Budashov I.A., Kurochkin I.N., Denisov A.K. et al. // Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii. N 6. 11 (1997).
- [34] Яминский И.В., Демин В.В., Бондаренко В.М. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. № 6. 15 (1997).
- [35] Яминский И.В., Филонов А.С., Киселева О.И. и др. // Сканирующая зондовая микроскопия биополимеров. М.: Научный мир, 1997.
- [36] Уткин Д.В., Кузнецов О.С., Ерохин П.С. и др. // Проблемы особо опасных инфекций. № 2 (112). 62 (2012).
- [37] Атлас возбудителей особо опасных бактериальных инфекционных болезней / О.С. Кузнецов, Д.В. Уткин и др. / Под ред. акад. РАН В.В. Кутырева. Саратов: Амирит, 2015.
- [38] Engel A., Muller D. // Nat Struct Mol Biol. N 7. 715 (2000).
- [39] Hinterdorfer P., Dufrene Y.F. // Nat. Methods. 3. 347 (2006).
- [40] Rivetti C., Guthold M., Bustamante C. // J. Mol. Biol. **264**, N 5. 919 (1996).
- [41] Schön P. // Seminars in Cell & Developmental Biology January, 73. 209 (2018).
- [42] Hansma H.G., Weisenhorn A.L., Edmundson A.B. et al. // Clin. Chem. **37**, N 9. 1497 (1991). PMID: 1893574.
- [43] Mingeot-Leclercq M.P., Deleu M., Brasseur R. et al. // Nat. Protoc. 1654 (2008).
- [44] Klinov D.V., Neretina T.V., Prokhorov V.V. et al. // Biochemistry. **74**. 1150 (2009).
- [45] Land T. A., Malkin A. J., Kuznetsov Yu.G. et al. // Phys. Rev. Lett. **75**. 2774 (1990).
- [46] Malkin A.J., Kuznetsov Yu.G., Glantz W., McPherson A. // The J. of Phys. Chem. **100**, N 28. 11736 (1996).
- [47] Wiechmann M, Enders O, Zeilinger C, Kolb H.-A // Ultramicroscopy. **86**, N 1. 159 (2001).
- [48] Thakuria R., Eddleston M.D., Chow E.H. et al. // Angew. Chem. Int. Ed Engl. Sep. 27 N 52(40). 10541 (2013).
- [49] Chernov A.A., Rashkovich L.N., Yaminski I.V., Gvozdev N.V. // Journal of Physics Condensed Matter. **11**, N 49. 9969 (1999).
- [50] Kuznetsov Y.G., McPherson A. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. **75**, N 2. 268 (2011).
- [51] de Pablo P.J., Schaap I.A.T. // Adv. Exp. Med. Biol. N 1215. 159 (2019).
- [52] Lyonais S., Henaut M., Neyret A. et al. // Sci. Rep. **11**. 11885 (2021).
- [53] Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. // Methods. Jan. N 197. 30 (2022).

- [54] Drygin Y.F., Bordunova O.A., Gallyamov M.O., Yaminsky I.V. // *FEBS Letters*. **425**, N 2. 217 (1998).
- [55] Yeow N., Tabor R.F., Garnier G. // *Advances in Colloid and Interface Science*. **249**. 149 (2017).
- [56] Sergunova V., Leesment S., Kozlov et al. // *Sensors*. N 22. 2055 (2022).
- [57] Spedden E., Staii C. // *Int. j. of molecular sciences*. **14**, N 8. 16124 (2013).
- [58] She D.T., Nai M.H., Lim C.T. // *Med-X*. **2**. 8 (2024).
- [59] Efremov Y.M., Okajima T., Raman A. // *Soft Matter*. **16**, N 1, 64 (2020).
- [60] Maciaszek J.L., Soh H., Walikonis R.S. et al. // *J. Neurosci*. **32**, N 33. 11435 (2012).
- [61] Sun A.X., Yuan Q., Fukuda M. et al. // *Science*. **366**, N 6472. 1486 (2019).
- [62] Magdesian M.H., Sanchez F.S., Lopez M. et al. // *Biophys. J*. **103**, N 3. 405 (2012).
- [63] Chuang Y-C., Alcantara A., Fabris G. et al. // *Eur. J. Neurosci*. **57**, N 8. 1225 (2023).
- [64] Ong W., Marival N., Lin J. et al // *Small*. **16**, N 37. e2003656. (2020).
- [65] Koser D.E., Thompson A.J., Foster S.K. et al. // *Nat. Neurosci*. **19**, N 12. 1592 (2016).
- [66] Moendarbary E., Weber I.P., Sheridan G.K. et al. // *Nat. Commun*. **8**, N 1. 14787 (2017).
- [67] Novak P., Li C., Shevchuk A. et al. // *Nat. Methods*. **6**. 279 (2009).
- [68] Sovetnikov T.O., Akhmetova A.I., Maksimova N.E. et al. // *Bio-Medical Engineering*. **57**, N 4, 250 (2023).
- [69] Muhammed Y., Lazenby R.A. // *Anal. Methods*. **16**, N 4, 503 (2024).
- [70] Wang D., Woodcock E., Yang Xi et al. // *Sci. Bull*. **69**, N 12. 1909 (2024).
- [71] Honda K., Yoshida K., Sato K. et al. // *Electrochimica Acta*. **469**. 143152 (2023).
- [72] Akhmetova A.I., Sovetnikov T.O., Tikhomirova M.A. et al. // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. **56**. 1159 (2022).
- [73] Яминский И.В., Ахметова А.И., Корнилов Д.В. // *Наноиндустрия*. **15**, № 3–4. 178 (2022).
- [74] Ахметова А.И., Советников Т.О., Тихомирова М.А. Яминский И.В. // *Гены и клетки*. **17**, № 3. 19 (2022).
- [75] Connelly J.T., Gavara N., Sliogeryte K., Blowes L.M. // *J. of Investigative Dermatology*. **141**, N 8. 1867 (2021). ISSN 0022-202X.
- [76] Ахметова А.И., Советников Т.О., Зорикова Е.О., Яминский И.В. // *Наноиндустрия*. **17**, № 1. 50 (2024).
- [77] Dixon R.G., Koenig R.G.J., Joseph Fu J. et al. // *Proc. SPIE 3998. Metrology, Inspection, and Process Control for Microlithography XIV*. 2000.
- [78] Dixon R., Koenig R., Fu J. et al. // *Proceedings of SPIE 3998. Metrology, Inspection, and Process Control for Microlithography XIV*. ed. Neal T. Sullivan, Santa Clara, CA. (2000).
- [79] Certificate of type approval of measuring instruments RU.C.27.004.A №42471
- [80] Яминский Д.И., Панова С.М., Яминский И.В. // *Нанотехнологии: разработка, применение—XXI век*. **16**, № 2, 48 (2024).
- [81] [https://rusneb.ru/catalog/000224\\_000128\\_0002626194\\_20170724\\_C1\\_RU/](https://rusneb.ru/catalog/000224_000128_0002626194_20170724_C1_RU/)
- [82] Pauli W. // *Zeitschrift für Physik*. **31** (1). 765 (1925). S2CID 122941900.
- [83] Паули В. Принцип запрета, группа Лоренца, отражение пространства, времени и заряда / Нильс Бор и развитие физики. М.: ИЛ, 1958. с. 46–74.
- [84] Жуков М.В., Горбенко О.М., Лукашенко С.Ю. и др. // *Физика твердого тела*. **65**, № 12. 2208 (2023).
- [85] Рейсс Ф.Ф. // *Memoires de la Societe Imperiale des Naturalistes de Moscou*. Москва, 1809. Т. II, с. 327–337.
- [86] Лукашенко С.Ю., Горбенко О.М., Жуков М.В. и др. // *Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования*. № 5. 65 (2023).
- [87] Григоров О.Н. Электрокинетические явления. Курс лекций. Изд-во ЛГУ, 1973.

## Scanning probe bionanoscropy: methods and equipment, results and achievements

I.V. Yaminsky

*Department of Physics of Polymers and Crystals, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University  
Moscow 119991, Russia  
E-mail: yaminsky@nanoscropy.ru*

Thanks to the invention of the tunneling microscope in 1981 by Gerd Binnig and Heinrich Rohrer, an entire industry of scanning probe microscopy was born with fundamental capabilities and a wide range of equipment for studying substances with subnanometer space resolution in vacuum, atmosphere and liquids. One of the subjects of observation was objects of living nature — biomolecules, viruses, bacteria, cells, nervous tissue, etc. Thus, a new section of physical measurements appeared — bionanoscropy — scanning probe microscopy of biological objects. Methods, equipment, objects of bionanoscropy are the subject of this article.

PACS: 42.70.-a.

*Keywords:* scanning tunneling microscopy, atomic force microscopy, scanning capillary microscopy, biomolecules, viruses, bacteria, cells, neurons, living matter.

*Received* 12 July 2024.

English version: *Moscow University Physics Bulletin*. 2024. **79**, No. 6. Pp. .

### Сведения об авторе

Яминский Игорь Владимирович — доктор физ.-мат. наук, профессор; тел.: (495) 939-10-09, e-mail: yaminsky@nanoscropy.ru.