

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

ЖСБ
№ 34

Наука и нанотехнологии

Материалы научной сессии Президиума

Сибирского отделения РАН

22 декабря 2006 г.



НОВОСИБИРСК
ИЗДАТЕЛЬСТВО СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

2007

НАНОТЕХНОЛОГИИ — НОВЫЕ ИМПУЛЬСЫ РАЗВИТИЯ НАУКИ И ЭКОНОМИКИ

академик Г. Н. Кулипанов

Институт ядерной физики им. Г. И. Будкера СО РАН

Введение

Последние двадцать лет во всем мире наблюдается экспоненциальный рост числа статей, специальных журналов, книг, публикующих результаты исследований, относящихся к тому, что в мировой литературе называется «nanoscience» и «nanotechnology». В переводе на русский язык «нанонаука» звучит очень плохо, но поскольку трудно придумать более толковый перевод, то в российской литературе, как правило, используется только один термин — «нанотехнология». На важность нанотехнологий, по-видимому, впервые обратил внимание в конце пятидесятих годов прошлого века Ричард Фейнман, заявив в своей лекции: «Если бы меня спросили, какая область науки может обеспечить нам прорыв в будущее, я бы назвал нанотехнологию».

Освоение человечеством новых технологий всегда сопровождалось качественными скачками в его развитии, начиная от технологии освоения огня и выращивания продуктов питания в далеком прошлом до современного освоения космических и информационных технологий. Совершенно не исключено, что нанотехнологии, мультидисциплинарной базой развития которых являются достижения в физике, химии, материаловедении, биологии, информатике, могут обеспечить очередной качественный скачок развития человечества. Все ведущие мировые государства уже включились в нанотехнологическую гонку, обеспечивая государственное финансирование инфраструктуры, необходимой для развития нанотехнологий, создавая целостную государственную образовательную систему подготовки нового поколения специалистов, ориентированных на развитие нанотехнологий и обладающих междисциплинарными фундаментальными знаниями. Во всех странах созданы условия реализации государственно-частных партнерств для привлечения частного капитала к финансированию работ по развитию нанотехнологий.

Что такое нанотехнологии; этапы развития нанотехнологий

Нанотехнология — это способ создания производства и использования структур, приборов и систем заданной формы с размерами нанометрового диапазона (1—100 нм)

$$1 \text{ нм} = 10^{-9} \text{ м} = 10^{-7} \text{ см} = 10^{-3} \text{ мкм} = 10 \text{ \AA}.$$



Рис. 1. Направления развития нанотехнологий.

Нанотехнология — это область прикладной науки, опирающаяся на результаты фундаментальных исследований свойств материалов и способов обращения с материалами на атомном, молекулярном и макромолекулярном уровнях.

Исторически развитие нанотехнологий шло по двум направлениям (рис. 1). Первое направление — это «снизу вверх»: получение наноструктур, наноизделий путем сборки или самосборки на атомарном уровне (химический синтез нанопродуктов, молекулярная эпитаксия, поатомная сборка). Второе направление — это «сверху вниз»: получение наноструктур обработкой вещества с последовательным уменьшением размеров вещества до нанометровых (резка, травление, размол, полировка, литография). Из рис. 1 видно, что в девяностых годах прошлого столетия технологические возможности обоих направлений перекрылись и появилась возможность использовать комбинацию различных технологий.

Очень впечатляющими выглядят результаты последних лет и планы производства нового поколения приборов микроэлектроники (см. таблицу), использующих одну из технологий направления «сверху вниз» — литографию. Еще 10 лет назад в технологии оптической литографии использовались источники излучения видимого диапазона ($\lambda \sim 300$ нм), сейчас литография использует источники ультрафиолетового диапазона ($\lambda \sim 100$ нм), в ближайшем будущем производство микроэлектроники перейдет на EUV-литографию ($\lambda \sim 13,6$ нм). С уменьшением длины волны источника излучения пропорционально уменьшается и размер производимых структур. На рис. 2 показано изображение, полученное с помощью электронного микроскопа, поперечного среза многослойного рентгеновского зеркала — ключевого элемента проекционной EUV-литографии, с помощью которой будут производиться следующие поколения прибо-



Миниатюризация элементов и рост параметров чипов: прогноз и реальность

| Первый год массового производства | 2001 | 2003* | 2005* | 2007* | 2009* | 2011* |
|---|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| Создание технологии (плотно расположенные линии, впечатанные в резист) | 130 нм | 90 нм | 65 нм | 45 нм | 32 нм | 22 нм |
| Изолированные линии (в резисте) (физический раствор в результате травления) | 90 нм (65 нм) | 53 нм (37 нм) | 35 нм (25 нм) | 25 нм (18 нм) | 18 нм (13 нм) | 13 нм (9 нм) |
| Частота микросхемы | 1,7 ГГц | 4,0 ГГц | 6,8 ГГц | 12 ГГц | 19 ГГц | 29 ГГц |
| Количество транзисторов в микросхеме (HV) (3× для НР; 5× для ASIC) | 100 М | 190 М | 390 М | 780 М | 1,5B | 3,1 B |
| Динамическое ОЗУ (биты) | 510 М | 1,1 G | 4,3 G | 8,5 G | 34 G | 69 G |
| Контроль минимального размера затвора | 5 нм | 3 нм | 2 нм | 1,5 нм | 1,1 нм | 0,7 нм |
| Размер поля (мм×мм) | 25×32 | 25×32 | 22×26 | 22×26 | 22×26 | 22×26 |
| Размер микросхемы (2,2× для НР; до 4× для ASIC) | 140 | 140 | 140 | 140 | 140 | 140 |
| Размер подложки (диаметр) | 300 нм | 300 нм | 300 нм | 450 нм | 450 нм | 450 нм |

*Ассоциация полупроводниковой промышленности, декабрь 2001 г.; возможен цикл продолжительностью 2 г.

ров микроэлектроники с размерами элементов до 9 нм (см. таблицу). Сами многослойные рентгеновские зеркала изготавливаются поочередным напылением на сферическую подложку диаметром ~ 200 мм сотни слоев Mo и Si, причем точность напыления этой многослойной структуры, имеющей период 6,9 нм, не хуже 0,1 нм. Точность изготовления и размер шероховатостей поверхности подложки также составляет ~0,1 нм! (см. рис. 2).

Развитие технологических процессов направления «снизу вверх» наглядно видно на примере развития технологии производства углеродных нанотрубок (рис. 3). Процесс открытия и изучения самоорганизующихся наноматериалов был начат в 1952 г. статьей русских физиков Радужкевича и Лукьяновича в «Журнале физической химии», где впервые были помещены электронные изображения «самообразовавшихся» углеродных нанотрубок диаметром 50 нм. Однако статья на русском языке в первые послевоенные годы не обратила на себя внимания и была надолго забыта. Повторно углеродные нанотрубки были «открыты» только в 1976 г. (A. Oberlin, M. Endo, T. Koyama, 1976, «Filamentous growth of carbon through benzene decomposition», J. Cryst. Growth 32:335) и сразу стали объектом пристального внимания многих ис-

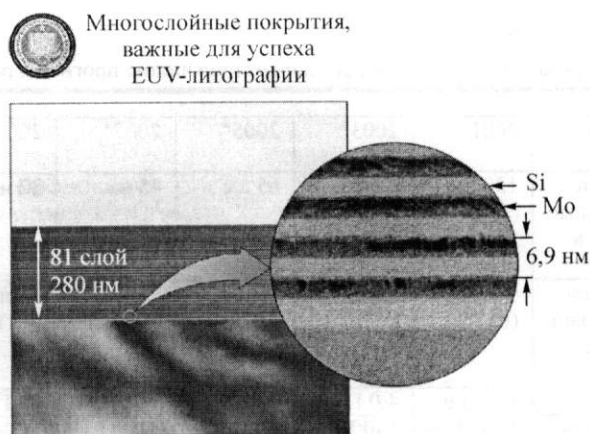


Рис. 2. Поперечный срез рентгеновского зеркала, полученный с помощью электронного микроскопа.

следователей. Три года спустя уникальная удельная прочность нового материала породила одно из первых предложений о возможности его прикладного использования (Космический лифт, А. С. Clarke, 1979). На примере нанотрубок можно проследить процесс исследования и коммерциализации этого материала и выделить три этапа:

1. 1952—1979 гг.: Открытие первых наноматериалов, первые публикации и первые предложения по их применениям. Этот процесс в значительной мере был обусловлен усовершенствованием электронных микроскопов и их широким распространением в исследовательских лабораториях.

2. 1980—1999 гг.: Широкомасштабные исследования и начало процесса коммерциализации наноматериалов. Резкое расширение числа методов исследования: изобретение сканирующего туннельного и атомно-силового микроскопов, использование нейтронов на исследовательских реакторах, использование синхротронного излучения (СИ) в созданных в тот период центрах СИ, использование лазеров на свободных электронах. В конце периода в работы включаются крупнейшие мировые компании: IBM, NEC, General Electric, NASA.

3. 2000—2006 гг.: **Разработка наноматериалов и нанотехнологий включается в число государственных приоритетов.**

2000 г. — президент США объявил программу «Национальная нанотехнологическая инициатива». Создается сеть специализированных научных центров и лабораторий для разработки наноматериалов и нанотехнологий.

2001 г. — объявляется национальная программа Японии «Нанотехнология и будущее общество».

2002 г. — наноматериалы и нанотехнологии включены в список шести приоритетных направлений развития российской науки и техники.

2003 г. — сформирован единый сайт мировых производителей наноматериалов «Azonano.com», на котором сейчас представлено около 3000 коммерческих продуктов, несколько сотен фирм-производителей, новости, книги, журналы по нанотехнологии.

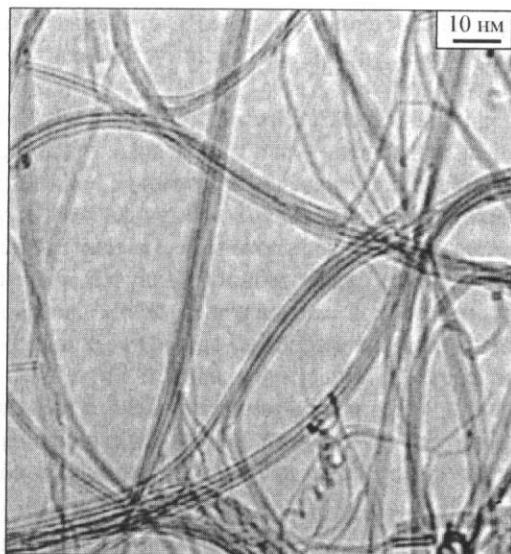


Рис. 3. Один из видов углеродных нанотрубок (современная фотография).

2006 г. — принята программа ЕС «Nanosciences and Nanotechnologies» по развитию нанотехнологий на 2007—2013 гг.

По оценкам экспертов Национального научного фонда США мировой рынок на продукты нанотехнологий к 2015 г. будет составлять ~1 триллион долларов США. Наиболее заметными (~300 миллиардов долларов) будут рынки наноматериалов (нанопорошки, нанотрубки и др.) и микроэлектроники, затем идут фармацевтика (~180 миллиардов долларов), химия (~100 миллиардов долларов) и аэрокосмическая промышленность (~70 миллиардов долларов).

Состояние и перспективы развития нанотехнологий в институтах СО РАН

Проводимую научную сессию можно рассматривать как инвентаризацию нанотехнологий, развиваемых в институтах Сибирского отделения РАН. Подробную информацию мы получим из докладов. Однако даже перечисление этих технологий является достаточно интересным и информативным. Вот далеко не полный список этих технологий: электронно-лучевые и ионно-лучевые, молекулярно-лучевая эпитаксия, технология «Принца», лазерные, LIGA-технологии на базе источников синхротронного излучения, технологии на базе лазера на свободных электронах, технологии самосборки, взрывные технологии, золь-гель-технологии, СВС-технологии, механоактивационные, плазмотронные, технологии роста кристаллов, газофазные, каталитические, технологии биочипов и микрофлюидных систем, технологии модификации поверхностей. Некоторые из этих технологий уникальны, так как развиваются на основе оборудования, создаваемого в институтах СО РАН. Это электронные и ионные ускорители, источники синхротронного излучения, мощные и фемтосе-

кундные лазеры, лазеры на свободных электронах, взрывные камеры, шаровые мельницы, установки молекулярно-лучевой эпитаксии, установки прецизионного напыления.

Система организации науки в Сибирском отделении РАН способствует развитию междисциплинарных подходов — основы развития нанотехнологий. Примером решения междисциплинарных научных задач являются интеграционные проекты СО РАН. Развитию нанотехнологий способствует и научная инфраструктура Сибирского отделения РАН: разветвленные вычислительные сети, центры коллективного пользования (Суперкомпьютер, Центр синхротронного излучения, Центр фотохимических исследований, Центр электронной микроскопии, AMS, виварий), Опытный завод. Подготовку нового поколения специалистов, ориентированных на развитие нанотехнологий, можно вести через НГУ и частично через НГТУ.

Сибирское отделение РАН имеет потенциальные возможности занять лидирующие позиции по ряду направлений нанотехнологий. Сегодняшняя научная сессия — важный шаг на пути практической реализации этих возможностей.

ДИНАМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ИССЛЕДОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ

академик **В. М. Титов**¹, д. х. н. **Б. П. Толочко**², д. ф.-м. н. **В. М. Аульченко**³

¹Институт гидродинамики им. М. А. Лаврентьева СО РАН,

²Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН,

³Институт ядерной физики СО РАН

Введение

Синтезу наноалмазов при взрыве посвящено весьма большое число работ [1—5], но вопрос об их образовании, а также общий вопрос о конденсации углерода при детонации взрывчатых веществ (ВВ) с отрицательным кислородным балансом остаются дискуссионными до настоящего времени. Ответ на него важен как для понимания физики явления, так и для оценки количества энергии, которая выделяется при экзотермической коагуляции углеродных кластеров.

Одна из первых работ энергетического подхода была опубликована в 1987 г. [2]. В ней расчетным путем показана возможность добавки в 10 % к той энергии, которая выделяется при собственно детонационном процессе.

В 1988 г. опубликованы первые результаты об образовании при взрыве детонационных наноалмазов. В [3] высказано предположение, что процесс синтеза определяется в основном зоной химической реакции. Это утверждение базировалось на неизменности распределения частиц наноалмазов по размерам (в очищенных сохраненных продуктах взрыва) при разных масштабах увеличения размеров заряда. Очевидно, что при этом неизменными остаются только процессы в зоне химической реакции. Время синтеза было оценено в несколько десятых микросекунды (не более 0,5 мкс) [3]. Чтобы согласовать расчетные и экспериментальные данные, авторы [4] ввели в модель [2] априорное ограничение на рост размера частиц. При этом время роста хорошо согласуется с предложенной в [3] оценкой времени синтеза.

Опубликованные в 1999 г. результаты по сравнению расчетных и экспериментальных данных по ускорению очень тонких металлических пластинок продуктами детонации (ПД) ВВ с отрицательным кислородным балансом показали, что такой процесс точнее описывается в предположении о наличии конденсации углерода за зоной химической реакции или, как принято в теории детонации, — за плоскостью Чепмена—Жуге, которая отделяет зону реакции от газодинамического течения ПД [5].

В первых же экспериментах по применению синхротронного излучения (СИ) для диагностики детонационных процессов установлен факт относительно медленно-го роста сигнала при малоугловом рентгеновском рассеянии (МУРР) СИ — в течение 1,0—1,5 мкс при диаметре зарядов 10—15 мм [6]. На этом основании было предпо-

ложено, что образование частиц углерода (в том числе и наноалмаза) происходит за пределами зоны химической реакции (в данном случае протяженность ее порядка 0,7 мм).

Этот вывод вызвал ряд критических замечаний [7], которые сводятся к следующему. В методе МУРР интенсивность рассеянного сигнала (1) (см. ниже) в первом приближении пропорциональна квадрату разности плотностей рассеивающей частицы и окружающей среды (продуктов детонации). При плотности ПД в начальный момент порядка 2 г/см^3 сигнал может быть не заметен для детектора, и только при разлете ПД, т. е. уменьшении плотности, станет регистрируемым. Этим же может объясняться и тенденция к увеличению зоны запаздывания максимума сигнала с ростом диаметра заряда [8], так как разлет ПД займет в этом случае большее время.

Новый подход к задаче изложен в [8]. В ней показано, что при рассмотрении процесса конденсации углерода (в том числе и синтеза наноалмазов) за фронтом детонационной волны необходим учет волн разрежения от боковой поверхности реального заряда ВВ, т. е. обращение к трехмерной постановке (в случае цилиндрического заряда). Такое рассмотрение позволило построить в [8] гипотетическую модель явления, согласующуюся с экспериментальными данными. По сути дела это была первая работа, в которой исследователи отказались от классической одномерной постановки при анализе процесса.

В этом кратком обзоре следует упомянуть об очень близких по содержанию работах [9, 10], в которых авторы определяют возможное место синтеза наноалмазов на ($P-T$)-диаграмме углерода с учетом размера наночастиц. Анализ проводится в одномерной постановке.

Изложенные результаты малой доли работ по синтезу наноалмазов показывают наличие различных точек зрения на процесс. Цель данной работы — определить основные экспериментальные факты, на которых должно базироваться рассмотрение явления.

Постановка экспериментов

Экспериментальные работы выполнены с помощью метода малоуглового рентгеновского рассеяния излучения. Использовалось синхротронное излучение из вигглера с полем 2 Тл накопителя электронов ВЭПП-3 (ИЯФ СО РАН). Жесткость излучения — около 20 кэВ, частота импульсов — 4 МГц, длительность экспозиции — 1 нс, пространственное разрешение детектора излучения — 0,1 мм. Электронная схема детектора позволяет запоминать 32 кадра спектра рассеяния, сделанные через 500, 250 или 125 нс. В последнем случае на орбите накопителя ускоряются два сгустка электронов (банча), находящиеся в диаметрально противоположных точках орбиты. Так как средний ток накопителя должен оставаться неизменным, использование этого приема приводит к уменьшению отношения сигнал/шум, но позволяет улучшить временное разрешение.

При работе с методом МУРР невозможно разделить сигналы от наноалмазных и не алмазных форм углерода. Как показано в [3], процентное содержание наноалмаза в твердом остатке может достигать 80 % (при использовании исходного ВВ: тротил/гексоген 50/50). Рассеяние МУРР от монодисперсной системы наночастиц можно описать формулой

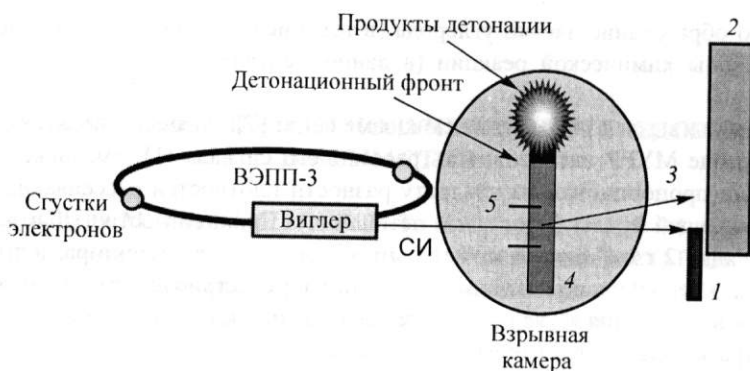


Рис. 1. Схема взрывного эксперимента на пучке синхротронного излучения: 1 — ловушка прямого пучка; 2 — однокоординатный детектор; 3 — малоугловое рассеянное излучение и прямой пучок; 4 — ВВ; 5 — проволочные датчики.

$$I(s) = n(t)(\rho - \rho_0)^2 F(s), \quad (1)$$

где $s = s - s_0$ — вектор рассеяния ($|s| = 4\pi \sin\theta/\lambda$, 2θ — угол рассеяния, λ — длина волны излучения), $n(t)$ — количество наночастиц плотности ρ в единице объема, ρ_0 — плотность среды, $F(s)$ — форм-фактор индивидуальной частицы.

Схема постановки экспериментов показана на рис. 1. Из пучка СИ с помощью нижнего коллиматора Кратки на центральной части заряда ВВ формировалась щель размером 1—2 мм высотой и 12—15 мм шириной. Перед детектором прямой пучок попадал в ловушку. Рассеянные лучи МУРР регистрировались детектором. Для мониторинга плотности образца на детектор также попадала через фильтр часть прямого пучка (через медную пластину толщиной 1 мм).

Расстояние между коллиматором Кратки и зарядом ВВ — ~700 мм, между зарядом и ловушкой прямого пучка — ~640 мм, между ловушкой и детектором — ~200 мм. Рассеянное излучение регистрировалось газовым детектором DIMEX с размером канала по вертикали 100 мкм. Угловой диапазон измерений по 2θ составлял ~0,0068—0,3400 град.

За одну вспышку СИ детектор записывает все каналы (делает один кадр), фиксируя распределение МУРР от угла. Поскольку фронт детонации движется по оси Z с постоянной скоростью 7,6 км/с, то последовательные кадры дают временную зависимость распределения МУРР.

Регистрация МУРР осуществлялась с периодом следования импульсов СИ $t = 0,125$ мкс (частота равна 4,03 МГц, умноженное на количество банчей; в описываемых экспериментах использовалось два банча). Фактически во время взрыва снималось дифракционное рентгеновское кино с временным разрешением 125 нс и длительностью каждого кадра в 1 нс.

В качестве заряда ВВ использовался сплав тротил/гексоген 50/50 диаметром 7, 12,5 и 19,5 мм. Длина зарядов была равна 73—85 мм. Их инициирование проводилось с помощью генератора плоской волны (содержащего всего 5 г ВВ). Запуск детектора осуществлялся замыканием контактного датчика, установленного на торце

заряда. Контактный датчик представляет собой две полоски медной фольги толщиной 50 мкм, расположенные параллельно на расстоянии 1 мм друг от друга. При замыкании контактного датчика детонационной волной время нарастания сигнала составляет ~15 нс. Для синхронизации работы детектора (временного положения первого кадра) с положением фронта детонации контактные датчики располагались на строго фиксированном расстоянии от зоны облучения пучком СИ (10 мм ± 10 мкм). Перемещение заряда E по вертикали внутри взрывной камеры производилось дистанционно с помощью специально изготовленного механизма. Точность перемещения определялась поворотом рычага (поворот на 360 град дает перемещение на 100 мкм). На осциллографе Tektronix 3020 фиксировались замыкание датчика, фаза ВЧ-системы ускорителя ВЭПП-3 и сигнал запуска детектора.

Управление кинетикой роста наноалмазов

Наше предположение о том, что начало образования кристаллов наноалмазов происходит во время разгрузки, было экспериментально проверено. При подготовке эксперимента мы использовали тот факт, что газодинамические процессы, происходящие в ПД, существенным образом зависят от условий разлета ПД: разлет в вакууме происходит наиболее быстро, а если ВВ окружено оболочкой — медленнее. Скорость разгрузки зависит также от материала оболочки. Условия разгрузки ПД напрямую зависят от условий разлета. Следовательно, меняя материал оболочки и ее толщину, мы можем управлять условиями разгрузки и, соответственно, кинетикой образования наноалмазов. Это предположение мы и хотели проверить экспериментально методом МУРР с использованием СИ.

Для постановки этого эксперимента было необходимо, чтобы материал оболочки удовлетворял следующим требованиям: 1) прозрачность для рентгеновского излучения; 2) отсутствие МУРР от этого материала как во время воздействия ударной волны, так и во время разрушения и разлета; 3) отсутствие токсичных материалов после воздействия экстремальных условий детонации; 4) относительная дешевизна.

Использование бериллия идеально удовлетворяет условиям 1 и 2, но противоречит условиям 3 и 4. После выполнения расчетов и серии тестовых экспериментов мы остановились на полиметилметакрилате (ПММА). Было проведено три серии экспериментов с использованием оболочек толщиной 1,5, 3 и 6 мм (рис. 2). В качестве ВВ использовалась смесь тротил/гексоген 50/50.

Экспериментально обнаружено, что, как и ожидалось, установка оболочки существенным образом влияет на динамику развития интегрального сигнала МУРР: оболочка толщиной 1,5 мм уменьшает производную dl/dt от $6000 \cdot 10^9$ имп./с (ВВ без оболочки) до $3200 \cdot 10^9$ имп./с, а оболочки толщиной 3 и 6 мм до $2400 \cdot 10^9$ и $1500 \cdot 10^9$ имп./с соответственно. Учитывая, что установка оболочки приводит к дополнительному поглощению первичного пучка СИ и рассеянного излучения МУРР, необходимо сделать коррекцию кривых зависимости МУРР от времени. Поглощение рентгеновского излучения с энергией 20 кэВ для оболочек толщиной 1,5, 3 и 6 мм составляет 10, 19 и 34 % соответственно.

Таким образом, экспериментально показано, что изменение условий разгрузки ПД (замедление) приводит к изменениям условий образования наноалмазов, а именно — к замедлению кинетики этого процесса.

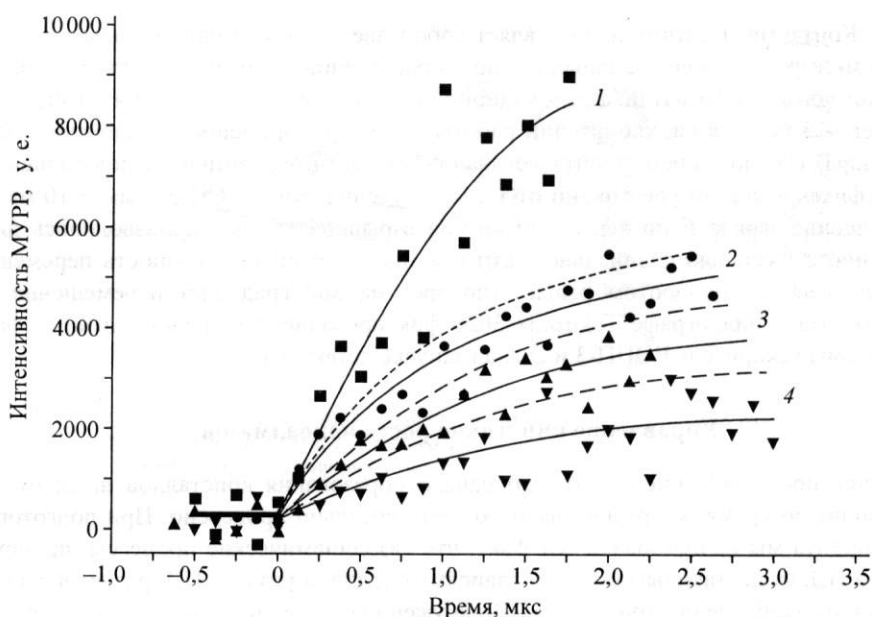


Рис. 2. Зависимость интегрального сигнала МУРР от времени при детонации системы гексоген/тротил 50/50 при использовании обжимающих муфт ПММА разной толщины:

1 — без муфты (нулевая коррекция); 2 — с муфтой 1,5 мм (10 %); 3 — 3 мм (19 %); 4 — 6 мм (34 %).

Построив график зависимости dl/dt от толщины оболочки, можно сделать экстраполяцию экспериментальной кривой в область больших толщин муфты. Экстраполированная кривая пересекает ось абсцисс около значения 15 мм. Следовательно, можно сделать вывод: при толщине порядка 15 мм наноалмазы не будут образовываться в области прохождения пучка синхротронного излучения. Такой формальный вывод имеет конкретное физическое объяснение — установка оболочки приводит к смещению фронта разгрузки ПД и, следовательно, удаляет область образования наноалмазов от фронта детонации на расстояния, сравнимые с диаметром заряда.

Внутренние алмазные метки

Цель описываемых ниже экспериментов — сравнение поведения искусственно введенных в различные взрывчатые вещества наноалмазов (НА) с поведением такого же количества наноалмазов (8 %), образующихся при детонации системы тротил/гексоген 50/50. Все эксперименты выполнены на прессованных зарядах ВВ диаметром 15 мм и длиной около 80 мм. Иницирование осуществлялось генератором плоской волны.

Регистрировалась величина суммарного сигнала интенсивности МУРР для трех типов взрывчатых составов: I) тротил/гексоген 50/50; II) тротил + 8 % НА; III) гексоген + 8 % НА (рис. 3). Состав I является одним из основных при производстве нано-

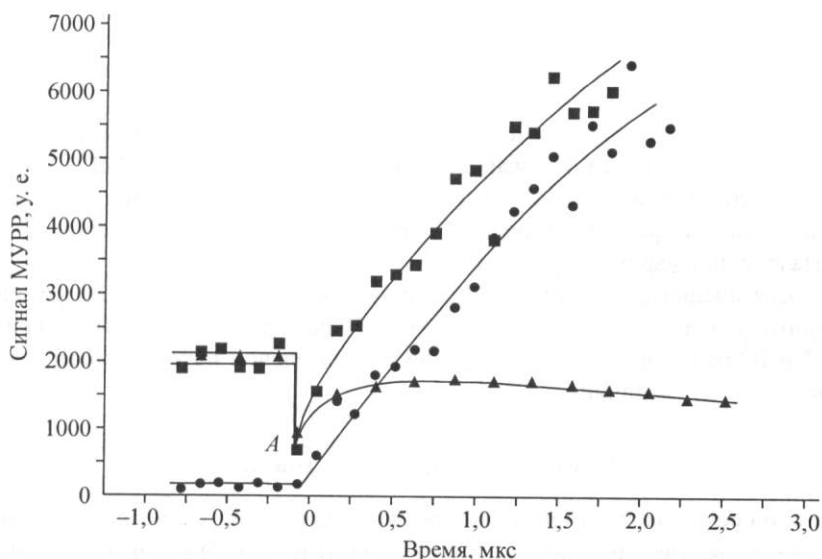


Рис. 3. Поведение интегрального сигнала МУРР во время детонации для систем тротил + 8 % НА (квадрат); тротил/гексоген 50/50 (кружок); гексоген + 8 % НА (треугольник).

алмазов; тротил (состав II) — дает при детонации существенно меньше наноалмазов, но большое количество углеродного остатка в виде графита; гексоген (состав III) — более мощное ВВ, имеет нулевой кислородный баланс, твердого остатка не дает. Добавка в 8 % наноалмаза при прессовке примерно соответствует тому количеству, которое возникает при взрыве системы тротил/гексоген 50/50.

Наноалмазы, введенные в гексоген, дают устойчивый интенсивный сигнал МУРР. В момент прихода детонационной волны сигнал МУРР резко падает, потом в течение 1 мкс немного увеличивается, а затем снова начинает уменьшаться. Такое поведение сигнала МУРР свидетельствует о том, что значительная часть НА разрушается.

Наноалмазы, введенные в тротил (тоже 8 мас.%), дают интенсивный сигнал МУРР и не разрушаются волной детонации, так как интегральный сигнал МУРР начинает возрастать сразу после прохождения детонационного фронта. Рост сигнала МУРР от тротила обусловлен образованием новых наночастиц алмаза. Получен важный результат — измерена интенсивность МУРР от введенных наноалмазов в момент прихода детонационного фронта (точка А на рис. 3). Измеренная интенсивность существенно превышает шум и отлична от нуля, но если бы алмазы образовывались сразу за детонационным фронтом, от них бы шел сигнал МУРР именно такой амплитуды.

Для системы I сигнал МУРР начинается с нулевого уровня интенсивности и плавно растет, практически повторяя форму кривой системы II, но со сдвигом по времени. При образовании наноалмазов и наноуглерода в зоне химической реакции ($\tau \sim 130$ нс [11]) кривая роста МУРР должна была начинаться не с нулевой точки ин-

тенсивности. Использование временного разрешения в 125 нс позволило надежно показать, что кривая роста МУРР начинается из точки ($t = 0, I = 0$), что свидетельствует об отсутствии наноалмазов сразу за фронтом детонации.

Таким образом, этот эксперимент показывает: а) НА надежно фиксируются методом МУРР при плотности окружающей среды, равной плотности ВВ ($\sim 1,6 \text{ г/см}^3$); б) сигнал, фиксирующий рост частиц из смеси тротил/гексоген, заметно отстает на начальной стадии по фазе от сигнала МУРР для случая заранее введенных частиц наноалмаза (т. е. при «времени роста» $\tau = 0$).

Благодаря специально принятым мерам точность привязки данных различных экспериментов к нулевой точке отсчета не хуже 20 нс. Сдвиг по фазе между кривыми составов I и II при одном и том же уровне относительной интенсивности везде заметно превышает эту величину.

Диски-генераторы наноалмазов

Во второй серии экспериментов авторы воспользовались «алмазной меткой» для определения зоны, где происходит конденсация углерода. Изготовлены заряды из взрывчатого вещества ТЭН, которое имеет нулевой кислородный баланс и при детонации не дает сигнала малоуглового рассеяния. Между двумя такими зарядами соосно вставлялась таблетка толщины Δ из ВВ тротил/гексоген 50/50, продуцирующего при детонации и наноалмазы, и наноуглерод. Параметры в плоскости Чепмена—Жуге этих ВВ близки ($P = 250$ кбар), примерно равны и массовые скорости. Ось коллиматора в эксперименте находится у нижнего среза таблетки. Если бы образование наноалмазов и наноуглерода проходило бы в зоне химической реакции ($\tau \sim 130$ нс), то сигналы при различных толщинах вставки были бы идентичны, так как зона химической реакции для ВВ тротил/гексоген 50/50 не превышает 0,7 мм [11].

Но идентичность сохраняется только до $\tau \sim 1$ мкс. Для толщины $\Delta = 2$ мм рост интегрального сигнала МУРР при этом заканчивается, а при $\Delta = 8$ мм он продолжается. Сигнал МУРР при $\Delta = 8$ мм полностью идентичен сигналу от заряда достаточно большой длины. Таким образом, этот эксперимент наглядно показывает, что конденсация алмазных и неалмазных форм углерода происходит и за зоной химической реакции в продуктах детонации ВВ.

Заключение

На основе полученных данных можно сделать вывод об отсутствии наноалмазов непосредственно за фронтом детонации. Выдвинутое предположение, что алмазы могут образовываться во время разгрузки на значительном расстоянии от фронта детонации, в значительной мере экспериментально подтверждено. Это расстояние может регулироваться условиями разлета, и при необходимости может быть увеличено до нескольких диаметров заряда взрывчатки.

Авторы выражают особую благодарность сотрудникам ИЯФ, ИХТТМ и ИГиЛ СО РАН: Г. Н. Кулипанову, В. В. Жуланову, Л. И. Шехтману, М. А. Шеромову, С. И. Мишневу, И. Л. Жогину, О. В. Евдокову, К. А. Тен, Э. Р. Прууэл за помощь в проведении экспериментов и полезные дискуссии.

Литература

1. *Detonation Nanodiamonds and Related Materials*. St. Petersburg: Ioffe Physico-Technical Institute, 2003.
2. *Shaw M. S., Jonson J. D.* // J. Appl. Phys. 1987. V. 62, N 5. P. 2080.
3. *Титов В. М., Анисичкин В. Ф., Мальков И. Ю.* // Физика горения и взрыва. 1989. Т. 25, № 3. С. 117.
4. *Ершов А. П., Куперштох А. Л., Коломийчук В. Н.* // Письма в журн. технической физики. 1990. Т. 16, вып. 3. С. 42.
5. *Vieccelli J. A., Ree F. H.* // J. Appl. Phys. 1999. V. 86, N 1. P. 237.
6. *Алешаев А. Н., Зубков П. И., Кулипанов Г. Н. и др.* // Физика горения и взрыва. 2001. Т. 37, № 5. С. 104.
7. *Ершов А. П.* // Письма в журнал технической физики. 2001. Т. 277, вып. 19. С. 90.
8. *Titov V. M., Tolochko B. P., Ten K.A. et al.* // Synthesis, Properties and Applications of Ultrananocrystalline Diamond. Springer, Netherlands. 2005. P. 169.
9. *Vieccelli J. A., Ree F. H.* // J. Appl. Phys. 2000. V. 88, N 2. P. 683.
10. *Даниленко В. В.* // Физика горения и взрыва. 2005. Т. 41, № 4. С. 110.
11. *Лобойко Б. Г., Любятинский С. Н.* // Там же. 2000. Т. 36, № 6. С. 45.

МИКРОФЛЮИДНЫЕ СИСТЕМЫ В БИОЛОГИИ И КОНСТРУИРОВАНИЕ ГЕНОСЕНСОРОВ

чл.-корр. РАН **Н. А. Колчанов**¹, к. б. н. С. Е. Пельтек¹, к. б. н. Н. В. Тикунова¹,
д. б. н. Т. М. Хлебодарова¹, Т. Н. Горячкова¹, д. б. н. Н. Б. Рубцов¹,
академик Г. Н. Кулипанов², к. ф.-м. н. В. М. Попик², В. Ф. Пиндюрин²,
В. С. Елисеев², Б. Г. Гольденберг², к. ф.-м. н. М. А. Щеглов²

¹Институт цитологии и генетики СО РАН,

²Институт ядерной физики им. Г. И. Будкера СО РАН

Введение

В настоящее время в мировой науке происходит технологическая революция, направленная на переход к малым и сверхмалым размерам устройств для изучения функции биологических макромолекул, геномов, клеток, клеточных структур, клинической диагностики, биохимических исследований. В основе этого направления лежит использование микро/нанофлюидных систем (МНФС).

Микро/нанофлюидные биоаналитические системы — интегрированные устройства, включающие современные высокотехнологичные и «наукоемкие» элементы электроники, микромеханики, нанотехнологий, оптики и гидравлики, генной и клеточной инженерии, биоинформатики. Важность разработок в области микро/нанофлюидной технологии подчеркивается серией тематических публикаций в журнале Nature за июль 2006 г. [1—7].

Базовым элементом микро/нанофлюидной системы является стеклянная или полимерная пластина с многоуровневой системой каналов, микрореакторов, клапанов и насосов, оперирующая с микро- и нанообъемами жидкостей. Важным преимуществом МНФС является возможность работать с индивидуальными клетками на разных стадиях их развития, а также с бесклеточными системами. МНФС позволяет реализовать на микроуровне важнейшие транспортные методы современной аналитической химии, проточно-инжекционный анализ, использование преимуществ ламинарных потоков, оптимизировать соотношение объема к поверхности в микрореакторах, высокоэффективный капиллярный электрофорез и др.

Радикальная миниатюризация размеров экспериментальных устройств, достигаемая с использованием микро/нанофлюидных технологий, открывает переход к качественно новым, исключительно низким по стоимости высокопроизводительным методам решения широкого круга фундаментальных и прикладных задач молекулярной и клеточной биологии, биотехнологии и биомедицины. Работа МНФС с микро- и нанообъемами жидкостей позволяет радикально (на порядки) снизить количество анализируе-

мых биологических объектов: макромолекул, клеток, биологически активных веществ. Соответственно этому радикально снижаются расходы дорогостоящих реактивов и стоимость экспериментов (анализов), осуществляемых с помощью микрофлюидных биоаналитических систем.

Производство микро/нанофлюидных систем основано на использовании методов LIGA-технологий, лазерной абляции, литографии, обработки алмазными порошками, штамповки, литья и др. Микро/нанофлюидные системы обеспечивают заданные характеристики микро- и нанопотоков, оптимальное компьютерное управление потоками жидкостей, сопряжение с внешними макроустройствами.

Высокочувствительные системы детектирования результатов анализа (флуоресцентные микроскопия и спектроскопия) дают возможность обнаружения искоемых компонентов на уровне следовых количеств (вплоть до единичных молекул).

Для реализации этого направления науки и технологии в Сибирском отделении РАН была создана рабочая группа специалистов Института цитологии и генетики СО РАН и Института ядерной физики СО РАН. Этой группой осуществлен полный цикл от проектирования и изготовления до реальной работы геносенсорной конструкции в микро/нанофлюидной системе.

Конструирование микро/нанофлюидных систем

Первой решенной задачей стало конструирование и тестирование геносенсора в МНФС. Для этого были определены и реализованы следующие этапы:

разработана топология МНФС, необходимая для позиционирования геносенсора;

сконструирована и изготовлена методами LIGA-технологии МНФС;

для введения клеток в систему, подачи анализируемых образцов и снятия сигнала осуществлен переход с микро- на макроуровень;

для регистрации факторов окружающей среды, повреждающих компоненты клетки, созданы генетические конструкции на основе промоторов стрессочувствительных генов *dps* и *yfiA*;

получены клетки *E. coli*, несущие эти конструкции (геносенсоры);

разработана и реализована технология введения и закрепления клетки-геносенсора в канале МНФС;

разработан способ детекции сигнала в нано- и фемталитровых объемах;

осуществлен выбор наиболее перспективных направлений для дальнейших работ по созданию геносенсоров на основе МНФС.

На накопителе ВЭПП-3 в ИЯФ СО РАН действует станция «LIGA», позволяющая выполнять глубокую рентгеновскую литографию в диапазоне 6—40 кэВ. На ее основе разработаны технологические этапы изготовления МНФС по LIGA-методу, включающие описанные ниже этапы.

1. Изготовление рентгеношаблона.

а. Подготовка подложек рентгеношаблона.

В качестве подложек рентгеношаблона (РШ) применяются шлифованные пластины из стеклоглерида размером $40 \times 40 \times 0,5$ мм. Использовался негативный фоторезист SU-8, позволяющий за один цикл наносить слои толщиной от 1 до 200 мкм и более, обладающие хорошей механической, химической и температурной стойкостью. Нанесение резистивных слоев производилось на центрифуге при скорости вращения 3000 об./мин и комнатной температуре. Для испарения растворителя и повышения плотности полученный резистивный слой после нанесения подвергался мягкому отжигу в вакуумном сушильном шкафу при температуре 95°C в течение 16 мин.

б. Формирование в резисте рисунка МНФС.

Рисунок МНФС в рентгенорезисте формировался с использованием синхротронного излучения (СИ). Образцы с нанесенным резистом толщиной 30—35 мкм облучались методом динамической рентгенолитографии посредством их поперечного перемещения относительно сколлимированного рентгеновского микропучка СИ с размерами 40×40 мкм. В ходе многопроходного рисования сформированный иглоподобный пучок рентгеновского излучения создавал скрытое изображение требуемой микроструктуры шаблона непосредственно в толстом слое резиста. После облучения образцы отжигались в вакуумном сушильном шкафу для поперечной сшивки проэкспонированных участков резистивного слоя и минимизации внутренних напряжений. Дальнейшее химическое травление резиста производилось в растворителе PGMEA (пропиленгликольмонометилэфир) фирмы MicroChem Corp. (США).

в. Микрогальванопластика.

Сформированный из рентгенорезиста рисунок МНФС является защитной маской при электрогальваническом осаждении рентгенопоглощающего материала (золота). После осаждения слоя золота толщиной 8—10 мкм получили рентгеношаблон с требуемой топологией, шириной рабочих каналов 38 мкм.

2. Тиражирование МНФС.

Через описанный РШ на станции «LIGA» экспонировались пластины ПММА (оргстекло) толщиной 5 мм. Экспонирование выполнялось в режиме «сканирования» — образец и закрепленный перед ним РШ сканировались поперек широкого «белого» (без спектральной фильтрации) пучка СИ со скоростью 10 см/с на ± 10 мм. При последующем травлении в ультразвуковой ванне в растворителе GG облученные участки ПММА были удалены и получены микроканалы, глубина и качество которых определяется полученной дозой облучения и временем травления и могут варьироваться. Некоторые из деталей процесса получения LIGA-шаблона методом прямой рентгенолитографии изображены на рис. 1.

Разработана конкретная топология МНФС для наблюдения клетки и ее ответа на подаваемый сигнал, обеспечивающая содержание клетки в условиях, максимально приближенных к естественным, и позволяющая подавать индукторы и регистрировать флуоресцентный сигнал. Реализованный вариант (рис. 2) состоит из трех каналов и четырех камер. В средний канал помещается клетка, питательная среда подается из среднего отсека. По крайнему контуру организуется ток жидкости, несущий сигнальные молекулы. Отсеки подачи среды и реагентов выравнивают перепад давления между макро- и микроуровнями.

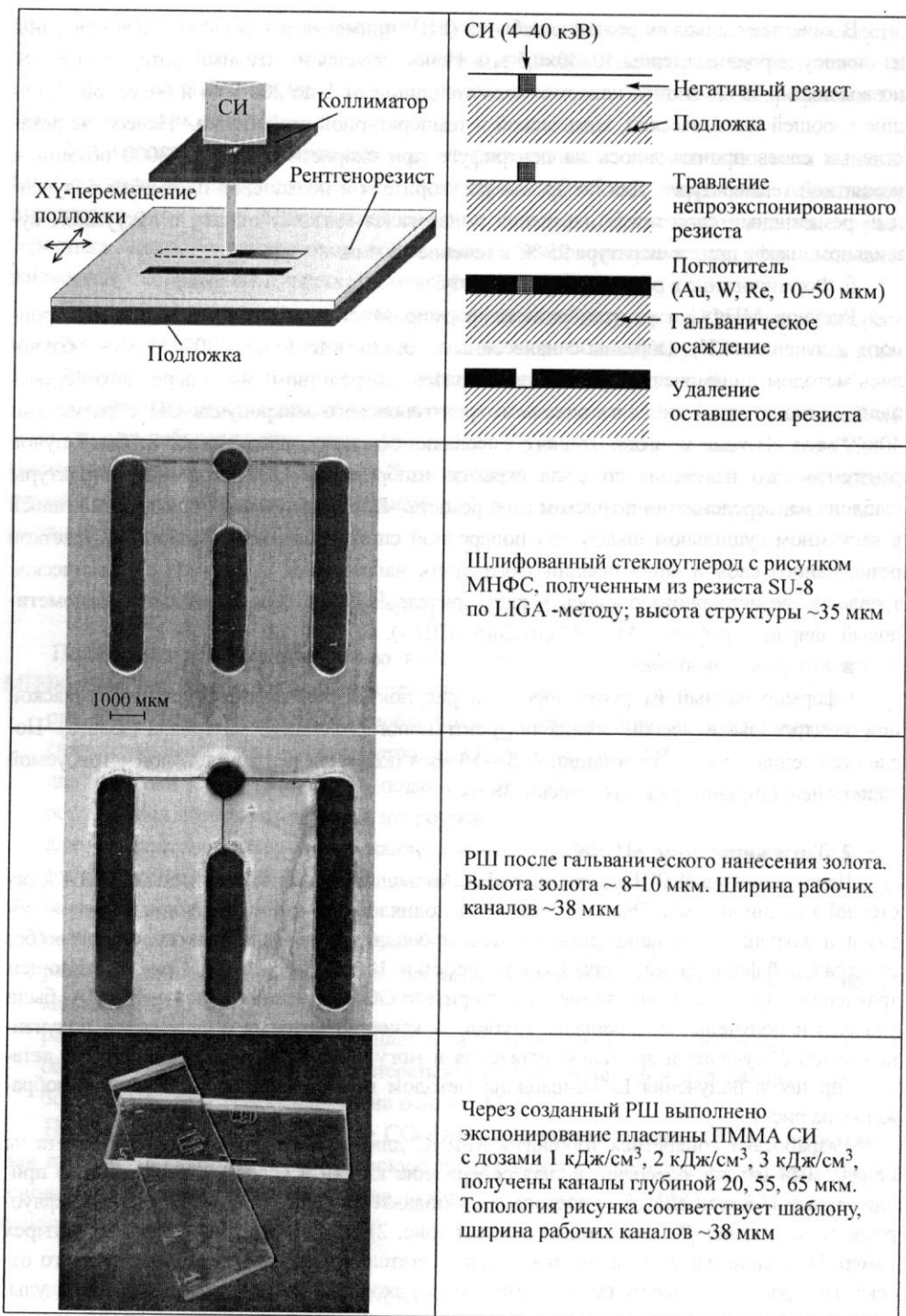


Рис. 1. Создание LIGA-шаблона методом прямой рентгенолитографии.

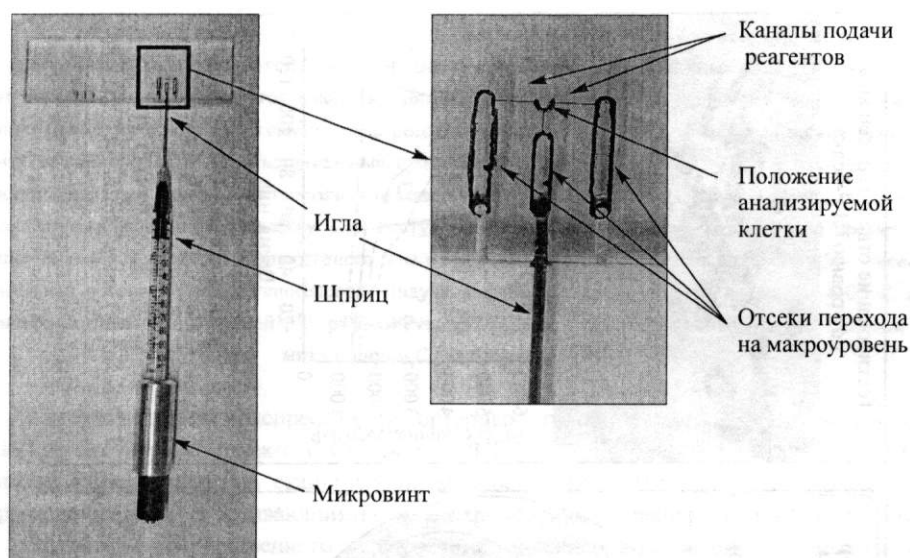


Рис. 2. Общий вид МФС с переходом на макроуровень. Система каналов и камер заполнена чернилами.

Конструирование геносенсоров

Для поиска генов-кандидатов с заданными свойствами использовали базу данных GenSensor [8, 9], содержащую информацию о структуре бактериальных промоторов, экспрессия которых активируется в ответ на определенное внешнее воздействие, механизмах индукции, а также условий, при которых наблюдается максимальный ответ на данный тип воздействия. В результате была сконструирована плазмида *pYfi-gfp*, содержащая под контролем промотора *yfiA* ген GFP, кодирующий флуоресцентный белок green fluorescent protein (GFP_{vaa}) с укороченным временем полужизни [10]. Полученная рекомбинантная плазмида была встроена в бактериальную клетку (рис. 3).

Таким образом, на основе гена *yfiA* *E. coli* создан сенсор, чувствительный к разнообразным повреждающим компоненты клетки факторам. Уровень его ответа на H_2O_2 наблюдается уже при концентрации 1 мМ, что свидетельствует о высокой чувствительности созданного сенсора к окислительному стрессу. Присоединенный к регуляторному элементу ген-репортер позволяет визуализировать его работу по уровню индуцированной флуоресценции. Бактериальная клетка, несущая рекомбинантную плазмиду, помещается в микрофлюидную систему. По боковым каналам осуществляется подача метаболитов. При активации промотора метаболитом происходит экспрессия гена-репортера, которую легко детектировать с помощью обычного флуоресцентного микроскопа.

**Генная сеть
стресс-ответа клетки**

Касетная активация генов

Регуляция генной сети контурами с положительными и отрицательными обратными связями

База данных генов-кандидатов для конструирования сенсоров

| ИДЕНТИФИКАЦИОННЫЙ КОД | НАЗВАНИЕ | ОПИСАНИЕ |
|-----------------------|----------|----------|
| 001 | ГЕН А | ... |
| 002 | ГЕН Б | ... |
| 003 | ГЕН В | ... |
| 004 | ГЕН Г | ... |
| 005 | ГЕН Д | ... |
| 006 | ГЕН Е | ... |
| 007 | ГЕН Ж | ... |
| 008 | ГЕН З | ... |
| 009 | ГЕН И | ... |
| 010 | ГЕН К | ... |
| 011 | ГЕН Л | ... |
| 012 | ГЕН М | ... |
| 013 | ГЕН Н | ... |
| 014 | ГЕН О | ... |
| 015 | ГЕН П | ... |
| 016 | ГЕН Р | ... |
| 017 | ГЕН С | ... |
| 018 | ГЕН Т | ... |
| 019 | ГЕН У | ... |
| 020 | ГЕН Ф | ... |
| 021 | ГЕН Х | ... |
| 022 | ГЕН Ц | ... |
| 023 | ГЕН Ч | ... |
| 024 | ГЕН Ш | ... |
| 025 | ГЕН Щ | ... |
| 026 | ГЕН Ъ | ... |
| 027 | ГЕН Ы | ... |
| 028 | ГЕН Ь | ... |
| 029 | ГЕН Э | ... |
| 030 | ГЕН Ю | ... |
| 031 | ГЕН Я | ... |

Поиск генов-кандидатов и компьютерный дизайн геносенсоров с заданными свойствами

Повреждающий фактор

Промотор гена *uflA*

GFP-белок

Плазмиды с искусственной генной сетью

Бактериальный геном

Бактериальная клетка - геносенсор

Фенол, H₂O₂ или Митоминин С

Экспериментальное регулирование геносенсоров

Тестирование ответа геносенсора по уровню GFP-белка

Флуоресценция, 532 нм

Время, мин

Реакция искусственной молекулярно-генетической системы-сенсора на основе гена *uflA* *E. coli* на H₂O₂ (1) фенол (2) или митоминин С (3)

Экспериментальная проверка работы геносенсора

Рис. 3. Экспериментально-компьютерное конструирование искусственных молекулярно-генетических систем — геносенсоров для выявления повреждающих клетку агентов.

Этап 1 — поиск генов-кандидатов и компьютерный дизайн геносенсоров с заданными свойствами в базе данных GenSensor с помощью генной сети стресс-ответа клетки. Этап 2 — экспериментальное регулирование геносенсоров. Стрессочувствительный промотор присоединяется генно-инженерными методами к репортерному гену. Полученная генетическая конструкция встраивается в плазмиду. Гибридная плаزمид помещается в бактериальную клетку. При поступлении сигнала, к которому чувствителен промотор, в клетке начинается экспрессия репортерного гена и продукция флуоресцентного белка. Этап 3 — экспериментальная проверка работы геносенсора. Индукция флюоресценции клеток линии MC4100 *E. coli*, трансформированных плазмидой pRS-pr*Yfi*-GFP_{va} (37 °C), 1мМ перекисью водорода (1), фенолом (2), митомицином С (3), без индукции (4).

Для регистрации экспрессии репортерных генов использовались микроскопы Axioskop 2 Plus в комплекте с CCD-камерой HRc, AxioVert200 в комплекте с CCD-камерой MRc и лазерный сканирующий микроскоп LSM510META в комплекте с четырьмя лазерами, обеспечивающими семь лазерных линий в диапазоне от 405 до 633 нм.

Результаты количественного тестирования геносенсора на основе рекомбинантной плазмиды, содержащей промотор гена *Yfi*, приведены на рис. 4.

Заключение

В результате проделанной работы проверена функциональная пригодность МНФС для создания геносенсорной детекторной системы (на примере биоаналитической системы для тестирования стрессовых воздействий среды — окислительного стресса).

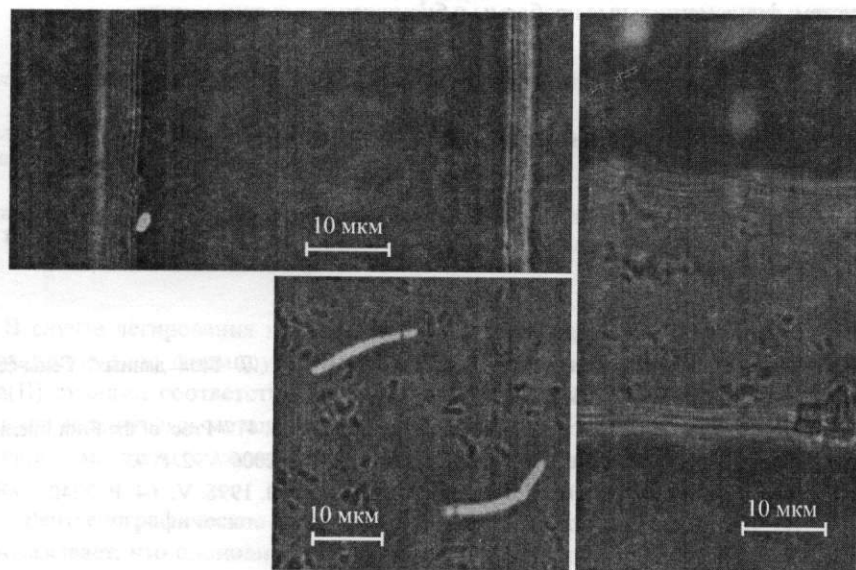


Рис. 4. Клетки геносенсора в канале МНФС (видна продукция GFP в ответ на введение индуктора).

Радикальная миниатюризация размеров экспериментальных устройств, достигаемая с использованием микрофлюидных технологий, открывает переход к качественно новым, исключительно низким по стоимости высокопроизводительным технологиям решения широкого круга фундаментальных и прикладных задач молекулярной и клеточной биологии, биотехнологии и биомедицины. Такие устройства могут найти применение во многих отраслях химической и биотехнологической промышленности, быть использованы для мониторинга окружающей среды, решения задач биобезопасности.

В наших ближайших планах развитие микро/нанофлюидной техники для транспорта и концентрирования молекул (наночастиц), обладающих поверхностной активностью в сильно разбавленных средах, для последующего анализа, создание капельных микрореакторов, которые могут использоваться для решения задач комбинаторной молекулярной биологии, например, поиска оптимальных условий кристаллизации белков, создание иммунобиосенсоров для определения следовых количеств клинически значимых маркеров иммунитета человека.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Российского федерального агентства по науке и инновациям, госконтракт № 10104-34/П-05/040-270/140706-050 «Модернизация экспериментальной станции абляции биологических объектов» подпрограммы фундаментальных исследований «Электромагнитные волны терагерцового диапазона» Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 5 «Фундаментальные проблемы релятивистской импульсной и стационарной электроники большой мощности»; программы Российской академии наук по молекулярной и клеточной биологии, проект «Компьютерное моделирование и экспериментальное конструирование генных сетей» и Сибирского отделения РАН — Междисциплинарный интеграционный проект фундаментальных исследований СО РАН № 24 «Роль микроорганизмов в функционировании живых систем: фундаментальные проблемы и биоинженерные приложения».

Литература

1. Whitesides G. M. // Nature. 2006. V. 442, N 27. P. 368.
2. Janasek D., Franzke J., Manz A. // Ibid. P. 374.
3. Psaltis D., Quake S. R., Yang C. // Ibid. P. 381.
4. Craighead H. // Ibid. P. 387.
5. DeMello A. J. // Ibid. P. 394.
6. El-Ali J., Sorger P. K., Jensen K. F. // Ibid. P. 403.
7. Yager P., Edwards T., Fu E. et al. // Ibid. P. 412.
8. Хлебодарова Т. М., Степаненко И. Л., Подколodный Н. Л. База данных: Гены-сенсоры (GenSensor). А. с. РФ № 2006620197.2006.
9. Khlebodarova T. M., Kachko A. V., Stepanenko I. L., Tikunova N. V. // Proc. of the Fifth Intern. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure (BGRS). 2006. V. 2. P. 93.
10. Andersen J. B., Sternberg C. et al. // Appl. Environ. Microbiol. 1998. V. 64. P. 2240.