

**Резюме проекта НИР, выполненного  
в рамках ФЦП  
«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития  
научно-технологического комплекса России на 2007 – 2013 годы»  
Итоговое**

Номер контракта: 16.518.11.7020

Тема: Исследования и разработка основ технологий для нанобработки материалов и биомедицины с помощью фемтосекундных лазеров.

Приоритетное направление: индустрия наносистем и материалов

Критическая технология: нанотехнологии и наноматериалы

Период выполнения: с 12 мая 2011 г. по 16 ноября 2012 г.

Плановое финансирование проекта: 4,1

    Бюджетные средства - 4,1 млн. руб.,

    Внебюджетные средства - 0 млн. руб.

Исполнитель: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Объединенный институт высоких температур РАН (ОИВТ РАН)

Ключевые слова: фемтосекундные лазерные импульсы, абляция, ударные волны, прочность, наноструктуры

## **1. Цель исследования, разработки**

Целью работы является получение новых знаний и результатов в области разработки нанотехнологий с использованием методов воздействия фемтосекундных лазерных импульсов на различные материалы и биообъекты.

Целью проекта на 1 этапе является разработка метода бесконтактной биопсии эмбрионов для повышения эффективности преимплантационной генетической диагностики.

Целью проекта на 2 этапе является разработка метода удаления материала толщиной от 10 до 1000 нм для обеспечения очистки поверхности металлов и полупроводников от загрязнений, удаления защитных покрытий и формирования дорожек в токопроводящих покрытиях; а также разработка основ технологии диссекции и слияния нейронов.

Целью проекта на 3 этапе является разработка методики определения откольной проносы металлов для определения растягивающих напряжений в диапазоне 1 – 10 ГПа, возникающих при отколе поверхностного слоя в условиях высокоскоростного нагружения. разработка методики оптической трансфекции инструмента генной модификации; формирование наноструктур на поверхности элементов интегральных схем высотой ~ 50 нм.

В результате должно быть сделано обобщение результатов НИР, дана оценка полноты решения задач и эффективности полученных результатов в сравнении с современным научно-техническим уровнем, а также выработаны рекомендации по возможности использования результатов проведенной поисковой научно-исследовательской работы в реальном секторе экономики.

## **2. Основные результаты проекта**

Разработан метод бесконтактной биопсии эмбрионов с помощью фемтосекундного лазерного пинцета-скальпеля. Для реализации метода с помощью лазерного скальпеля в белковой оболочке эмбриона формируется отверстие 15—25 мкм. После этой процедуры биоптат захватывается оптическим пинцетом и перемещается на некоторое расстояние от самого эмбриона. Разработанный метод бесконтактной лазерной микрохирургии является альтернативой классическим методам микрохирургии, выполняемым при помощи микроманипуляторов. Результаты показали, что процедура биопсии трофэктодермы более эффективна, чем процедура биопсии редуccionного тельца. К тому же процедура биопсии тро-

фэктодермы менее трудоемка для оператора лазерной установки, несмотря на то, что непосредственно перед процедурой биопсии приходится проводить вспомогательный хэтчинг zona pellucida. Дальнейшая разработка метода лазерной биопсии трофэктодермы представляется более перспективной, так как в мировой клинической практике для проведения преимплантационной генетической диагностики все чаще обращаются к биопсии трофэктодермы, это связано с тем, что таким образом можно получить больше клеточного материала (5–7 клеток), а значит повысить точность последующего генетического анализа

Разработан метод удаления материала с помощью фемтосекундных лазерных импульсов толщиной от 10 до 1000 нм. Глубина кратера на поверхности обрабатываемой мишени зависит от величины превышения плотности энергии лазерного импульса над пороговым значением абляции данного материала. Для удаления материала на заданную глубину требуется проведение предварительных исследований по воздействию излучения при различной энергии лазерного импульса. После этой процедуры становится возможным регулирование глубины удаляемого слоя материала. Таким образом, применение фемтосекундных лазерных импульсов для обработки материалов открывает широкие перспективы создания технологий микро- и нанообработки материалов. Сюда можно отнести создание микропрофилей и канавок, пазов, сквозных резов и «колодцев». Отдельный интерес представляет потенциальная возможность создания альтернативы фотолитографии в области формирования дорожек в токопроводящих покрытиях, а также технологии прецизионной очистки мишеней от загрязнений.

Разработан метод диагностики и проведены исследования ударно-волнового деформирования поверхностного нанослоя металлических мишеней при воздействии фемтосекундных лазерных импульсов. Определены значения откольной прочности различных материалов в твердой и жидкой фазе при величине скорости растяжения  $\dot{V} / V \sim 10^9 \text{ c}^{-1}$ .

С помощью фемтосекундного оптического скальпеля была разработана методика оптической трансфекции клеток. Проведенные эксперименты показали принципиальную возможность успешной временной пермеабилзации мембраны клеток с помощью фемтосекундных лазерных импульсов, которая может использоваться для трансфекции клеток, причем не только клеток стандартных линий, но и стволовых клеток, примером которых в наших экспериментах служили стромальные клетки жировой ткани человека hASC. Были определены оптимальные параметры лазерного воздействия.

Проведены экспериментальные исследования особенностей формирования поверхностных наноструктур в металлах (алюминий и никель) и кремнии. Исследование взаимодействия лазерных импульсов с полупроводниковой мишенью проведено в широком диапазоне изменения как параметров лазерного излучения (энергия, число лазерных импульсов, длина волны, длительность, угол падения), так и условий эксперимента (условия окружающей среды). Проведены исследования зависимости формы, размера и особенностей сформированной на поверхности кремния микро- и наноструктуры от параметров эксперимента. Показано, что при взаимодействии фемтосекундных лазерных импульсов с кремнием в воде на его поверхности формируются наноразмерные структуры в виде полосок, шириной 80 - 90 нм. Кроме того, было проведено исследование взаимодействия фемтосекундных лазерных импульсов с металлическими мишенями. Также было показано, что при незначительном превышении порога абляции металлических мишеней возможно формирование структуры в виде «короны», диаметр которой может составлять от нескольких сотен нанометров (определяется параметрами фокусировки лазерного импульса) и высотой несколько десятков нанометров. Было показано, что при облучении металлической мишени фемтосекундным лазерным импульсом с плотностью энергии равной 0,95 от порога абляции материала мишени, на ее поверхности наблюдается остаточная деформация в виде «холмика». Его высота составляет несколько десятков нанометров и определяется материалом мишени.

### **3. Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД), полученные в рамках исследования, разработки**

Охраняемых результатов интеллектуальной деятельности создано не было.

#### **4. Назначение и область применения результатов проекта**

Метод бесконтактной биопсии эмбрионов предназначен для последующей преимплантационной диагностики. В перспективе возможно использование в клиниках репродуктивной медицины, где все большее внимание уделяется биопсии эмбрионов с целью последующей генетической диагностики.

Метод нанобработки металлов, полупроводников и многослойных структур предназначен для формирования на поверхности образцов структур (пазов, отверстий, канавок) с глубиной от нескольких десятков до нескольких сотен нанометров. Фемтосекундные лазерные технологии в перспективе могут быть применены для создания топологии микросхем, создания объемных сенсоров, различных многослойных структур и приборов на основе микроэлектромеханических (MEMs) технологий. Широкие возможности открываются в области создания технологии формирования токопроводящих дорожек при создании различных компонентов микроэлектроники, не требующих применения техпроцессов с нормой в десятки нанометров. Такая технология может стать гибким инструментом и дешевой альтернативой фотолитографии, а также уникальным инструментом прецизионной очистки подложек микросхем.

Ударные волны являются точным инструментом для изучения свойств материалов при высоких скоростях деформирования. В настоящее время получена обширная экспериментальная база об упругопластических и прочностных свойствах многих материалов. На основе экспериментальных данных создаются феноменологические модели деформирования и разрушения металлов, также большое внимание уделяется поведению хрупких материалов. Исследования в области ударных волн необходимы для разработки широкодиапазонных уравнений состояний, описывающих термодинамические свойства различных веществ в субмегабарной и мегабарной области давлений.

Процедура оптической трансфекции заключается во введении в клетку инородных субстанций, например, нуклеиновых кислот, при помощи лазерного излучения. Основной ее целью является изменение генетической структуры клетки или целого организма, что в настоящий момент представляет особый научный и практический интерес в таких областях знаний, как биотехнология, биофармацевтика, клеточная и молекулярная биология, а также генная терапия. Применение лазерного излучения для трансфекции клеток обладает рядом существенных преимуществ. Во-первых, метод лазерной трансфекции является бесконтактным и позволяет соблюдать необходимые условия стерильности. Вторым важнейшим преимуществом лазерной трансфекции является её высокая избирательность, благодаря чему может быть выполнена трансфекция не только целой культуры клеток, но и целенаправленная трансфекция одной, заданной клетки. Третье преимущество лазерной трансфекции заключается в том, что эффективность трансфекции и показатели выживаемости обработанных клеток могут превышать 80%.

Наноструктурирование поверхности позволяет получать материалы с заданными оптическими свойствами.

#### **5. Эффекты от внедрения результатов проекта**

В случае внедрения метода бесконтактной биопсии эмбрионов с помощью оптического пинцета-скальпеля могут быть достигнуты следующие положительные эффекты:

- снижение требований к квалификации специалиста при проведении биопсии эмбрионов;
- сокращение времени проведения процедуры биопсии эмбрионов;
- снижение риска заражения эмбриона.

В случае внедрения технологии лазерной нанобработки могут быть достигнуты следующие положительные эффекты:

- удаление нанослоев материала толщиной от 10 до 1000 нм (для обеспечения очистки поверхности металлов и полупроводников от загрязнений, удаление защитных покрытий и формирования дорожек в токопроводящих покрытиях);
- получение возможности формирования наноструктур на поверхности элементов интегральных схем с высотой ~ 50 нм.

В случае внедрения полученных научно-технических результатов по методу лазерной трансфекции могут быть достигнуты следующий положительный эффект — создание

на основе методики оптической трансфекции инструмента генной модификации, отличающегося от аналогичных методов (основанных на использовании вирусов и липосом, электропорации):

- универсальностью по отношению к клеткам различных типов;
- повышением выживаемости стволовых клеток;
- повышением селективности инструмента.

## **6. Формы и объемы коммерциализации результатов проекта**

Коммерциализация проектом не предусмотрена.

Заместитель директора  
ОИВТ РАН

\_\_\_\_\_

В.А. Зейгарник

Зав. отделом ОИВТ РАН

\_\_\_\_\_

М.Б. Агранат

М.П.