

УДК 57.086.2; 57.085.23

Различные системы электронной микроскопии в медицине

Пушкар В.Г. кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
лаборатории диагностических препаратов

«ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора»,
Волгоград, Россия

В работе описаны принципы работы, особенности и состояние основных систем современных электронных микроскопов. Целью статьи является помощь в решении задач, которые ставятся перед медицинскими специалистами в современных условиях изучения биологических наносистем и требуют широких знаний в различных областях науки. Электронные микроскопы имеют множество применений в области биологических и медицинских исследований как для научных целей (строение органов, тканей, возбудителей заболеваний, химический и биохимический синтез, биохимия и молекулярная биология, изучение структур биологического происхождения и химические процессы синтеза и взаимодействия наноструктур), так и в практике для точной постановки диагноза и гистологических исследований материалов биопсии. Представленная информация помогает в деле правильного выбора технических средств для изучения микрообъектов и нанообъектов в области биологии, медицины и нанотехнологий. Описаны основные типы электронных микроскопов. Работа помогает исследователю определить какой микроскоп необходимо использовать в своей работе: световой или электронный? Если электронный, то какой? Просвечивающий (трансмиссионный), сканирующий (растровый), туннельный или атомно-силовой, магнитно-силовой, сканирующий зондовый, сканирующий туннельный или электростатический силовой? Статья помогает разобраться в этом многообразии. Учитывая то, что электронный микроскоп является дорогостоящим устройством, ошибка в его выборе может стать весьма существенной. Представлены различные классы электронных микроскопов с принципами и особенностями их работы. Показаны новые перспективные направления развития приборов для изучения нанообъектов.

Ключевые слова: электронная микроскопия в медицине и биологии, нанотехнология, изучение нанообъектов.

Different electronic microscopy in medicine

Pushkar V.G., Ph.D. in Biology, senior research associate,
Laboratory of Diagnostic Preparations

Federal State Volgograd Scientific-Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Volgograd, Russia

The paper describes the principles of operation, characteristics and condition of the major systems of modern electron microscopes. The purpose of the article is to help in solving the problems that are put before medical specialists in the modern conditions of studying biological nanosystems and require broad knowledge in various fields of science. Electron microscopes have many applications in the field of biological and medical research, both for scientific purposes (the structure of organs, tissues, pathogens, chemical and biochemical synthesis, biochemistry and molecular biology, the study of structures of biological origin and chemical processes of synthesis and interaction of nanostructures) and practice for accurate diagnosis and histological biopsy studies. The presented information helps in the right choice of technical means for the study of micro-objects and nano-objects in the field of biology, medicine and nanotechnology. The information presented helps in the correct choice of technical means for the study of microobjects and nanoobjects in biology, medicine and nanotechnology. Describes the main types of electron microscopes. Work helps the researcher to determine which microscope you want to use in his work: light or electronic? If electronic, what? Transparent (transmission), scanning (raster), tunneling or atomic force, magnetic force, scanning probe, scanning tunnel or electrostatic force? The article helps to understand this diversity. Given that the electron microscope is an expensive device, error in the choice can be very significant. Represented various classes of electron microscopes with the principles and features of their work. Shown new promising directions of development of devices for the study of nanoobjects.

Keywords: electron microscopy in medicine and biology, nanotechnology, the study of nanoobjects.

В настоящее время электронная микроскопия является одним из основных средств развития научного и технического потенциала как для исследовательских, так и для практических работ в области биологии и медицины, нанотехнологии и материаловедения. Правительство Российской Федерации уделяет серьезное внимание вопросам обеспечения развития науки и наукоемких технологий, необходимых для укрепления отечественной экономики и безопасности нашей страны. Работы по развитию нанотех-

нологий в России проводятся в рамках федеральных и ведомственных программ [1]. На эти исследования в федеральном бюджете начиная с 2007 г. ежегодно выделяется более 180 млрд руб. что существенным образом повысило шансы нашей страны на то, чтобы в кратчайшие сроки развить стабильную наноиндустрию и занять одну из ключевых позиций на общемировом рынке нанотехнологий [2].

Важным направлением в медицине является химический и биохимический синтез, биохимия и моле-

кулярная биология, изучение наноструктур биологического происхождения и химические процессы синтеза и взаимодействия наноструктур, разработка и изучение нанообъектов, наноматериалов, исследование свойств полученных наноструктур в различных условиях. Моделирование и адекватная компьютерная обработка исследуемых структур, а также методы получения информации о свойствах и структуре моделируемых объектов — это и есть современная методология медицинских и биологических экспериментальных исследований в области электронной микроскопии.

Изучение наноструктур относится к направлению «нанотехнология». Под наноматериалами принято понимать объекты, основные структурные элементы которых (кристаллиты, волокна, слои, поры) не превышают так называемой *нанотехнологической границы* — 100 нм (1 нм = 10^{-9} м), по крайней мере в одном направлении.

Основой создания электронного микроскопа являются такие фундаментальные науки, как физика, химия и биология, на стыке которых находятся несколько интегративных направлений: квантовая теория, физическое материаловедение, изучающее свойства наноматериалов, физика и химия вероятности (поскольку законы поведения материи приобретают не детерминированный, а вероятностный характер) [3].

Целью статьи является помощь в решении задач, которые ставятся перед медицинскими специалистами в современных условиях изучения биологических наносистем и требуют широких знаний в различных областях науки.

Успех исследования напрямую зависит от правильного выбора технических средств для изучения объекта. Эта непростая задача перед исследователем встает первой: какой микроскоп необходимо использовать: световой или электронный? Если электронный, то какой: просвечивающий (трансмиссионный), сканирующий (растровый), туннельный или атомно-силовой, магнитно-силовой, сканирующий зондовый, сканирующий туннельный или электростатический силовой? Как разобраться в этом многообразии? Учитывая то, что электронный микроскоп является дорогостоящим устройством, ошибка в его выборе может стать весьма существенной.

Первое, что нужно определить, это нужен ли Вам именно электронный микроскоп? Определяем объект исследования. Что вы планируете изучать? Внешний вид клеток биологической ткани (необходимое увеличение $\times 100-1000$), взаимодействие микроорганизмов ($\times 500-10000$), их строение, внутренние органеллы ($\times 10000-100000$) или строение вирусов, хромосом, белковых молекул и структуру наноматериалов ($\times 100000-1000000$)? В зависимости от этого вы можете определить величину изучаемого объекта (кратность увеличения) и необходимое разрешение микроскопа (минимальное расстояние между двумя точками изображения, которые еще можно рассмотреть в виде отдельных точек).

Если Вас устраивает увеличение в 1-2 тысячи крат и разрешение в 0.1-0.3 мкм, которое позволяют получить наиболее мощные приборы, использующие

оптический диапазон [4], то можно использовать световой микроскоп.

Современный световой микроскоп - это цифровой микроскоп, объединяющий в себе оптический канал, цифровую камеру и компьютер со специальным программным обеспечением. Такой единый цифровой модуль позволяет измерять оптические параметры объекта, получать и записывать изображение, обрабатывать его и редактировать, проводить компьютерный анализ и наблюдать за всем этим на экране монитора, что, поверьте, намного удобнее, чем смотреть в традиционный окуляр микроскопа.

Следует обратить внимание на уровень используемой оптики и разрешающую способность фото- или видеокамеры.

В настоящее время известны световые микроскопы, которые используют принцип «расфокусированного луча» и апертуры малого диаметра в плоскости изображения для ограничения потока фонового рассеянного света - это сканирующие конфокальные микроскопы, использующие лазерное возбуждение [5]. Такие приборы позволяют получить высокую контрастность изображения и разрешение лучше, чем в обычном световом микроскопе (примерно в 1,4 раза), послойное сканирование объекта с последующей компьютерной обработкой и построением трехмерного изображения. К недостаткам таких приборов можно отнести сложность конструкции, высокую стоимость микроскопа и его эксплуатации.

Ближнепольная оптическая микроскопия (БОМ), обеспечивающая разрешение лучшее, чем у обычного оптического микроскопа - вплоть до 10 нм (вместо 200-300 нм). Повышение разрешения БОМа достигается детектированием рассеяния света от изучаемого объекта на расстояниях меньших, чем длина волны света. В случае, если зонд (детектор) микроскопа ближнего поля снабжен устройством пространственного сканирования, то такой прибор называют сканирующим оптическим микроскопом ближнего поля. Такой микроскоп позволяет получать растровые изображения поверхностей и объектов с разрешением ниже дифракционного предела [6].

Создание туннельного микроскопа положило начало целой области исследований - сканирующей зондовой микроскопии. Однако все методы построения сканирующих микроскопов подразумевали измерение какого-либо неоптического параметра поверхности образца. Оптические же микроскопы были ограничены дифракционным пределом. Использование оптических ближнепольных зондов расширило возможности сканирующей зондовой микроскопии [7]. Однако их подробное рассмотрение выходит за рамки нашей статьи.

Вернемся к электронной микроскопии — что мы сегодня понимаем под этим термином? Электронная микроскопия - это совокупность методов морфологического исследования объектов с помощью потока электронов, структурированных электрическими полями в электронных микроскопах (ЭМ), которые позволяют изучить микроструктуру этих объектов на макромолекулярном и субклеточном уровнях (вплоть до атомно-молекулярного уровня), их локального состава и локализованных на поверхностях или в

микрообъемах тел электрических и магнитных полей. Также включает усовершенствование и разработку новых ЭМ и других корпускулярных микроскопов (например, протонного микроскопа) и приставок к ним; поиск методик подготовки образцов, исследуемых в ЭМ; изучение механизмов формирования электронно-оптических изображений; разработку способов анализа получаемой информации [8].

Электронный микроскоп использует вместо луча света (фотонов) поток электронов, у которых длина волны значительно меньше, и этим он отличается от светового микроскопа. Как известно из физики, чем быстрее скорость электронов, тем меньше длина волны, а скорость потока электронов зависит от разности потенциалов, которая в некоторых моделях составляет несколько миллионов вольт и при этом увеличение может достигать до двух миллионов крат, а разрешение можно получить до 10-20 Å. Это качество и делает электронный микроскоп незаменимым прибором при исследовании биологических объектов, строения вещества, диагностики, анализа частиц и контроля качества сложных веществ как в медицине, микробиологии, иммунологии, фармакологии так и в технике, позволяя рассмотреть самые мельчайшие детали, вплоть до атомно-молекулярного уровня, недоступные для оптического микроскопа.

Сегодня методы электронной микроскопии позволили перейти на качественно новый уровень изучения материи и нашли широкое применение в морфологии, микробиологии, вирусологии, биохимии, онкологии, медицинской генетике, иммунологии. Благодаря возможностям этих методов раскрыта субмикроскопическая структура клеток, открыт ряд неизвестных ранее клеточных органелл, таких как лизосомы, рибосомы, эндоплазматический ретикулум, микротрубочки, цитоскелет и другие структуры. ЭМ позволил понять многие тонкие механизмы развития болезней, в том числе на ранних этапах их возникновения, еще до появления четкой клинической симптоматики.

ЭМ все шире применяется для ранней диагностики заболеваний, а также для выявления этиологии инфекционных процессов. Их используют в онкологии для определения гистогенеза опухолей, что имеет важное значение в лечении и прогнозе онкологического заболевания. В нефрологии исследования с помощью ЭМ материала, полученного при пункционной биопсии, позволяют выявить ранние морфологические изменения структур почек, диагностировать форму гломерулонефрита, провести дифференциальную диагностику гепатитов, гепатозов и других заболеваний печени [9].

После открытия волновой природы электрона уже в 1931 году в Германии М. Кноль и Е. Руска, а затем и в США в 1934 г Л. Мартон построили первый электронный микроскоп и получили первые изображения и микрофотографии биологических объектов. А в 1939 г фирма «Сименс-Гальске» в Германии выпустила первую промышленную модель просвечивающего электронного микроскопа, разработанную Б. Боррисом и Е. Руска. [10]. С тех пор электронная микроскопия прошла серьезный путь развития, является одним из основных методов

изучения живой материи и позволила научным исследованиям перейти на качественно новый уникальный уровень изучения микрообъектов.

Трансмиссионные (просвечивающие) электронные микроскопы (ТЭМ). Тонкопленочный объект в них просвечивается пучком ускоренных электронов с энергией 50-200 кэВ. Электроны, отклоняются атомами объекта на малые углы, проходят сквозь него с небольшими энергетическими потерями и попадают в систему магнитных линз, которые формируют на люминесцентном экране (или на фотопленке) изображение объекта. При этом удается достичь разрешения порядка 0,1 нм, что соответствует увеличению до $1,5 \times 10^6$ раз.

Разрешение и информативность ТЭМ - изображений во многом определяются характеристиками объекта и способом его подготовки. При исследовании тонких пленок и срезов полимерных материалов или биологических тканей контраст возрастает пропорционально их толщине, но одновременно снижается разрешение. Поэтому применяют очень тонкие (толщиной от 1 нм до 10 мкм) пленки и срезы, Ультратонкие срезы (10-100 нм) получают с помощью ультрамикротомов, а пористые и волокнистые материалы предварительно пропитывают и заливают в эпоксидные компаунды. Металлы исследуют в виде ультратонкой фольги. Для изучения формы и размеров микрочастиц (бактерии, вирусы микрокристаллы, аэрозоли, макромолекулы) их наносят на пленки-подложки из формвара или аморфного углерода, проницаемые для электронного луча, повышая их контраст обработкой соединениями тяжелых металлов (осмия, урана, золота, свинца и др.), которые избирательно взаимодействуют с компонентами микроструктуры (химическое контрастирование) [11].

Принципиально новая идея построения электронного микроскопа была сформулирована в 1935 году М. Кнолем. Согласно этой идее, изображение объекта формируется последовательно по точкам и является результатом взаимодействия электронного пучка (зонда) с поверхностью образца. Каждая точка образца последовательно облучается сфокусированным электронным пучком, который перемещается по исследуемой поверхности подобно сканированию электронного луча в телевизионных системах. [12, 13, 14]. Однако широкое использование РЭМ в науке и технике стало возможно лишь в 70-е годы, когда появились высоко надежные приборы, созданные на основе достижений микроэлектроники и вычислительной техники [15].

Первый образец промышленного растрового (сканирующего) электронного микроскопа был изготовлен в 1965г. в США фирмой Cambridge Scientific Instruments на основе разработок Владимира Козьмича Зворыкина (уроженец г. Муром, выпускник Петербургского Технологического института, изобретатель электронного телевидения). С тех пор этот тип электронных микроскопов зарекомендовал себя как наиболее универсальный и информативный прибор для изучения микрообъектов. После этого в ближайшие 10 лет было продано около 1000 растровых электронных микроскопов производства не только США, но и Великобритании, Франции, Голландии, Японии и ФРГ, которые также активно взялись за

разработку и модернизацию новых приборов, однако схемы самых современных электронных микроскопов незначительно отличаются от схем Зворыкина, предложенных в 1942 г. [16].

Сканирующий электронный микроскоп - микроскоп, который сканирует исследуемый образец электронным лучом. Измеряет интенсивность квантов, испускаемых образцом. Это могут быть вторичные электроны, отраженные электроны и т.д. Преобразует измеренную интенсивность в электрический сигнал. По сравнению с оптическими микроскопами характеризуется более высокими пространственным разрешением и глубиной резкости, а также возможностью проведения химического анализа на основе регистрации спектра рентгеновского излучения, генерируемого при облучении поверхности образца электронным пучком. Схема действия растрового электронного микроскопа: электроны, испускаемые электронной пушкой (нить накала обычно из вольфрама), ускоряются до энергии 2-40 кэВ; набор магнитных линз и отклоняющих катушек сканирования формирует электронный пучок малого диаметра, разворачиваемый в растр на поверхности образца. При облучении этой поверхности электронами возбуждаются три типа излучения, несущего полезную информацию: рентгеновские лучи, вторичные электроны и отраженные электроны. Пространственное разрешение сканирующего электронного микроскопа зависит от поперечного размера электронного пучка, который в свою очередь зависит от электронно-оптической системы, фокусирующей пучок. Разрешение также ограничено размером области взаимодействия электронного зонда с образцом, т. е. от материала мишени. Размер электронного зонда и размер области взаимодействия зонда с образцом намного больше расстояния между атомами мишени, таким образом, разрешение сканирующего электронного микроскопа не настолько велико, чтобы отображать атомарные масштабы, как это возможно, например, в просвечивающем электронном микроскопе. Однако сканирующий электронный микроскоп имеет свои преимущества, включая способность визуализировать сравнительно большую область образца, способность исследовать массивные мишени (а не только тонкие пленки), а также разнообразие аналитических методов, позволяющих измерять фундаментальные характеристики материала мишени. В зависимости от конкретного прибора и параметров эксперимента, может быть получено разрешение от десятков до единиц нанометров. Сканирующие микроскопы применяются в первую очередь как исследовательский инструмент в биологии, физике, электронике. В основном, это получение изображения исследуемого образца, которое может сильно меняться в зависимости от применяемого типа детектора. Эти различия позволяют делать вывод о физике поверхности, проводить исследование морфологии поверхности. Электронный микроскоп практически единственный прибор, который может дать изображение поверхности современной микросхемы или промежуточной стадии фотолитографического процесса. [17].

В 1982 году два швейцарских физика Герд Бинниг и Гейнрих Рорер, работающие в Исследователь-

ской лаборатории фирмы IBM в Цюрихе (Швейцария), сконструировали прибор совершенно нового типа, с помощью которого можно было рассматривать отдельные атомы на поверхности. Создателям этого прибора — сканирующего туннельного микроскопа (СТМ) — в 1986 году была присуждена Нобелевская премия [18,19].

В связи с этим неоспоримым достижением стало открытие 1982 году Генрихом Рорером и Гердом Биннигом метода сканирующей туннельной микроскопии, которая положила начало развитию сканирующей зондовой микроскопии. Работая над микроскопическими исследованиями роста и электрических свойств тонких диэлектрических слоев в лаборатории IBM в Рюмликоне в Швейцарии, авторы думали использовать туннельную спектроскопию. В то время были известны работы Янга о полево-м излучающем микроскопе, Томпсона по туннелированию в вакууме с управляемым остриём, так что мысль о способности измерения с помощью эффекта туннелирования не только спектроскопических свойств поверхности, но и её рельефа, была основана на трудах большого количества исследователей.

Ученые всего мира, занимающиеся физикой поверхности, да и вообще физикой конденсированных сред, немедленно убедились, что туннельный микроскоп — прибор уникальный. Действительно, ведь до его появления еще никому не удавалось «разглядывать» поверхность с такой неслыханной детальностью — атом за атомом. Однако у СТМ есть один недостаток: с его помощью можно изучать только материалы, хорошо проводящие электрический ток.

Сканирующий туннельный микроскоп явился прототипом (базовой моделью) целого семейства еще более совершенных сканирующих микроскопов ближнего поля с зондами-остриями. Необходимость дальнейших разработок диктовалась требованием избавиться от основного недостатка базового микроскопа — электропроводности объектов, а ведь даже проводники и полупроводники часто покрыты изолирующим слоем оксида. Не проводят ток и биологические материалы.

И вот в конце 1986 года тот же Бинниг предложил конструкцию прибора нового поколения, который тоже позволяет исследовать поверхности с беспрецедентной детальностью, но уже вовсе не обязательно электропроводящие. Новый прибор был назван атомным силовым микроскопом, и сегодня именно он представляет наибольший интерес для исследователей [20].

Множество трудностей, которые усложняли исследование образцов в СТМ, побудили разработать их первый атомно-силовой микроскоп, который мог использовать те самые силы взаимодействия между образцом и остриём, которые так мешали в случае СТМ.

Атомный силовой микроскоп это одна из наиболее распространенных разновидностей сканирующего зондового микроскопа. Здесь образец уже не обязательно должен быть проводящим. Атомно-силовой микроскоп позволял проводить измерения не только в вакууме, но и в атмосфере, заранее заданном газе и даже сквозь плёнку жидкости, что стало несомненным успехом для развития биологической мик-

роскопии. Так было положено начало эры сканирующей зондовой микроскопии. Вскоре была представлена микроскопия ближнего поля, которая задействовала оптические волны для разрешения объектов до 10 ангстрем.

Как и в сканирующем туннельном микроскопе, над объектом перемещается крошечное острие — заостренный до атомных размеров (и даже до размера одного атома!) осколок алмаза, закрепленный на полоске — кронштейне из металлической фольги: кантилевере.

Перемещаясь в плоскости образца над поверхностью, кантилевер изгибается, отслеживая ее рельеф. Кантилеверы разделяются на жесткие и мягкие, — по длине балки, а характеризуется это резонансной частотой колебаний кантилевера. Процесс сканирования микронзондом поверхности может происходить как в атмосфере или газе, так и в вакууме. Для детектирования отклонения используется полупроводниковый лазер с длиной волны 670 нм и оптической мощностью 0,9 мВт. Лазерный луч направляется на обратную к по отношению к поверхности сторону кантилевера (на самый кончик), которая покрыта специальным алюминиевым зеркальным слоем для наилучшего отражения, и отраженный луч попадает в специальный четырехсекционный фотодиод. Таким образом, отклонения кантилевера приводят к смещению луча лазера относительно секций фотодиода, — изменение разностного сигнала с фотодиода и будет показывать амплитуду смещения кантилевера в ту или иную сторону. Такая система позволяет измерять отклонения лазера в угле 0,1", что соответствует отклонению кантилевера на угол $2 \cdot 10^{-7}$ рад. [21,22].

Первый микроскоп такого типа был сконструирован Г. Биннигом, Х. Гербером и С. Квайтом в 1986 году, после того как годом ранее Г. Бинниг показал принципиальную возможность неразрушающего контакта зонда с поверхностью образца [23].

Преимущества и недостатки атомного силового микроскопа (АСМ). В сравнении с растровым электронным микроскопом (РЭМ) АСМ обладает рядом преимуществ. Так, в отличие от РЭМ, который даёт псевдо трёхмерное изображение поверхности образца, АСМ позволяет получить истинно трёхмерный рельеф поверхности. Кроме того, непроводящая поверхность, рассматриваемая с помощью АСМ, не требует нанесения проводящего металлического покрытия, которое часто приводит к заметной деформации поверхности. Для нормальной работы РЭМ требуется вакуум, в то время как большинство режимов АСМ могут быть реализованы на воздухе или даже в жидкости. Данное обстоятельство открывает возможность изучения биомолекул и живых клеток. В принципе, АСМ способен дать более высокое разрешение чем РЭМ. Так было показано, что АСМ в состоянии обеспечить реальное атомное разрешение в условиях сверхвысокого вакуума. Сверхвысоковакуумный АСМ по разрешению сравним со сканирующим туннельным микроскопом и просвечивающим электронным микроскопом [24, 25].

Электронные микроскопы имеют много применений как в области чистой науки (биологические или

медицинские исследования, строение материи и т.д.), так и в промышленности (исследование дымов, пыли, волокон тканей, коллоидов и т.д.; изучение структуры металлов, бумаги и т.д.). В растровом электронном микроскопе со специальной приставкой изучаются энергетические спектры вторичных электронов, выбитых первичным электронным пучком с поверхности или из объёма образца (Оже-спектроскопия). Интенсивно разрабатываются методы количественной электронной микроскопии — точного измерения различных параметров образца или исследуемого процесса, например измерение локальных электрических потенциалов, магнитных полей, микрогеометрии поверхностного рельефа и т. д.

В просвечивающих электронных микроскопах (ПЭМ) и растровых ПЭМ (ПРЭМ) высокого разрешения получают изображения отдельных молекул или атомов тяжёлых элементов; пользуясь методами фазовой ЭМ, восстанавливают по изображениям трёхмерную структуру кристаллов и биологических макромолекул. Для решения подобных задач применяют, в частности, методы голографии, а расчёты производят на ЭВМ.

Электростатическая силовая микроскопия. Это один из методов атомной силовой микроскопии, который основан на регистрации электростатических сил, действующих между зондом и образцом (зонд и образец образуют две обкладки микроскопического конденсатора) [26]. Этот метод включает «Электростатическую силовую микроскопию» и «Кельвин-зондовую силовую микроскопию», а также методы измерения локальных диэлектрических свойств в различных конфигурациях, среди которых микроскопия напряжений Максвелла и другие [27, 28].

Протонные микроскопы это новый прорыв в науке. Вместо потока электронов в них используются протоны, которые имеют длину волны, в 40 раз меньше, таким образом получается соответственно более высокая степень разрешения, и это позволяет получать изображения с еще большим увеличением. Разница примерно такая же, как это было при переходе от световой оптики к электронной микроскопии.

Конструкция и работа протонного микроскопа значительно не отличаются от конструкции и работы электронного микроскопа. Электронная пушка заменяется протонной пушкой, а в качестве источника протонов используется водород [29].

В настоящее время действующий протонный микроскоп находится в американском Лос-Аламосе, который используется для изучения свойств материалов при ударно-волновых нагрузках. Также строится микроскоп в Дармштадте (ФРГ) — в целях изучения свойств материи в экстремальных условиях. Работы по созданию протонного микроскопа ведутся во многих странах мира. С 15 по 17 июля 2013 г в Дармштадте (Германия) прошел IV Международный семинар по высокоэнергетической протонной микроскопии, в котором приняли участие физики из США, Германии, России и Китая [30].

В России также ведется разработка протонных микроскопов на основе отечественных исследований. Ленинградский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова еще в 1982г получил авторское сви-

детельство на изобретение «Способ протонной радиографии». В котором для повышения разрешения предложено проводить дополнительное координатно-чувствительное детектирование протонов до и после объекта [31]. Этот принцип сейчас реализован в современных протонных микроскопах.

24 ноября 2015г протвинский Институт физики высоких энергий сообщил о введении в постоянную эксплуатацию уникального научного комплекса ПРГК-100. Был успешно выполнен основной эксперимент намеченной на осенний сеанс У-70 программы работ с использованием протонной радиографии - это самый мощный в России протонный микроскоп, в котором для "просвечивания" плотных материалов используются пучки протонов с высокими энергиями, присущими у нас только ускорителю ИФВЭ У-70, действующий с 1967 года синхротрон на 70 миллиардов электрон-вольт, направляющий ускоренный пучок в 2.5- километровой подземный тоннель канала инжекции в УНК. Руководят работами первый заместитель научного руководителя ВНИИЭФ Юрий Трутнев, директор ИТМФ Вячеслав Соловьёв и директор ИФВ (экспериментальная часть) Анатолий Михайлов. [32].

В настоящее время в ООО «Карбонлайт», в подмосковном городе Долгопрудный создают новый измерительный прибор субатомного разрешения — протонный наноинтроскоп. Разработчики нового устройства обещают, что в наноинтроскоп можно будет рассматривать даже не атомы, а электронные оболочки атомов. Сейчас с таким разрешением не работает ни один микроскоп. Атомы можно «видеть» лишь символически, в виде пиков на диаграмме атомно-силового микроскопа.

Литература:

1. Современное состояние развития работ за рубежом и в Российской Федерации / Проект программы развития в Российской Федерации работ в области нанотехнологий и наноматериалов до 2015 года (www.istokru.eu/files/RF_nanotechnologies_program_2015_rus.doc)
2. Послание Президента Российской Федерации Федеральному Собранию Российской Федерации от 26 апреля 2007 года // Российская газета.- № 90.- 2007.- 27 апреля.- С. 10.
3. Власов А. И. Электронная микроскопия : учеб. пособие – М.- Изд. МГТУ им. Н. Э. Баумана.- 2011. – 168 с.
4. Principes de fonctionnement du microscope photonique, Centre national de la recherche scientifique. http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doscel/decouv/xtxt/zhist/Niv2_2.htm.
5. Дурнова А. О., Крылова Ю. С., Пантелеев Л. Н и др. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия – применение в патоморфологических исследованиях// ж. Биотехносфера .- 2014.-№ 5(35).- С. 30-35.
6. Pohl D.W., Denk W., Lanz M., //Appl. Phys. Lett.- 1984.-v. 44.- P. 651–653.
7. Миронов В.Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии -РАН Институт физики микроструктур.- Нижний Новгород.- 2004.
8. Физический энциклопедический словарь / М. «СОВЕТСКАЯ ЭНЦИКЛОПЕДИЯ» http://dic.academic.ru/contents.nsf/enc_physics/
9. Электронно-микроскопические методы исследования в медицине <http://xreferat.com/55/3379-1-elektronno-mikroskopicheskie-metody-issledovaniya-v-medicine.html>
10. http://www.infran.ru/vovenko/60years_ww2/el_micro.htm
11. Хейденрайх Р. Основы просвечивающей электронной микроскопии// Москва.- Мир.- 1966.- 472 с.
12. Knoll M. Static Potential and Secondary Emission of Bodies Under Electron Irradiation// Z.Tech.Physik.- 1935.-16.-P.467-475.
13. Ardenne M.//Z.Physik,109,553,1938.
14. Watt I.M. The Principles and Practice of Electron Microscopy//Cambridge University Press.- Cambridge.-1985.
15. Введение в растровую электронную микроскопию (избранные главы) http://itn-mipt.itp.ac.ru/old/attachments/100_MFTI-L04.pdf

Новое устройство пока что существует только в виде макета, который включает автоионный источник протонов и детектор в виде «стручковой» нанотрубки, заполненной цериевыми металлофуллеренами и размещенной на кремниевом кантелевере. В конструкции использованы последние разработки ООО «Карбонлайт»: стручковые нанотрубки, заполненные атомами церия, упакованного в фуллерены, а также новый источник протонов. Макет уже прошёл испытания.

О степени новизны разработки говорит уровень патентной защиты: в ходе разработке наноинтроскопа запатентованы: источники протонов с электронной ионизацией и протонов с фотоионизацией, а также источник, формирующий протонный пучок.

Создание макета протонного наноинтроскопа субатомного разрешения поддержало Федеральное агентство России по науке и инновациям. Предполагается, что этот прибор дополнит существующие методы электронной и зондовой микроскопии и открывает новые возможности для исследования структур атомных и субатомных размеров. Среди главных достоинств прибора - компактные размеры и умеренная стоимость, при этом он может работать с очень высоким разрешением.

Разработчики полагают, что новый прибор в ряде случаев сможет заменить дорогостоящие, громоздкие и сложные в эксплуатации электронные микроскопы высокого разрешения. А это значит, что исследования в области нанотехнологий станут доступными для большего числа университетов и лабораторий [33, 34].

16. Zworykin V.K., Hiller J., Snyder R.L. A Scanning Electron Microscope In ASTM //bull.- 1942.-117.-P. 15-23.
17. http://www.portalnano.ru/read/tezaurus/definitions/s_e_microscope
18. Головин Ю.И. Введение в нанотехнологию- М.- 2003.
19. Миронов В.Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии- Нижний Новгород. 2004.- 114с.
20. Бинниг Г., Рорер Х.. Сканирующая туннельная микроскопия – от рождения к юности//Нобелевские лекции по физике – 1986.- УФН, т. 154 (1988).- вып.2.- с. 261.
21. Рашкович Л.Н. Атомно-силовая микроскопия процессов кристаллизации в растворе // Соросовский образовательный журнал, 2001.- №10.- с. 102-108.
22. Хирш П.,Хови. и др. Электронная микроскопия тонких кристаллов/- М.: Мир.- 1968.
23. Binning, Gerd Karl /- Encyclopedia of World Biography.- 2005.
http://www.encyclopedia.com/topic/Gerd_Binnig.aspx#1-1G2:3435000034-full
24. Качанов Л.М. Основы теории пластичности – М.: «Наука».- 1969.- 420 с.
25. Takashi Nishino, Akiko Nozawa, Masara Kotera, and Katsuhiko Nakamae In situ observation of surface deformation of polymer films by atomic force microscopy // Rev. Sci. Instrum.- 2000.- 71.- 5.-P. 2094-2094.
26. Martin Y., Abraham D. A., and Wickramasinghe H. K. High-resolution capacitance measurement and potentiometry by force microscopy//Appl. Phys. Lett. -1988.- 52.-P. 1103–1105.
27. Magonov S., Alexander J., and Wu S. Advancing characterization of materials with Atomic Force Microscopy – based electric techniques. In Scanning Probe Microscopy of Functional Materials: Nanoscale Imaging and Spectroscopy; Kalinin, S. V.; Gruverman, A., Eds./- Springer: Berlin.-Germany.- 2010.-P. 233–300.
28. Yokoyama H., and Jeffery M. J. Imaging high-frequency dielectric dispersion of surfaces and thin films by heterodyne force-detected scanning Maxwell stress microscopy// Colloids Surf. A 1994.- 93.-P. 359–373.
29. <http://www.issa.ru/tnvd/all/9012.html>
30. <http://www.eco-pravda.ru/page.php?id=5945>
31. Алхазов Г.Д., Белостоцкий С.Л., Воробьев А.А. Способ протонной радиографии. А.С. SU № 1080604 А. Приоритет от 28.09.1982 г. Оpubл.15.04.1985.- Бюл №4.
32. По материалам Rosatom.ru и Пресс-отдела РФЯЦ-ВНИИЭФА <http://www.rosatom.ru/>
33. <http://www.strf.ru/material.aspx?...>
34. <http://www.nanopoisk.ucoz.ru/...009-04-03-74>