

06;10

Метод сфокусированного ионного пучка при формировании наноразмерных структур в микрофлюидных чипах

© А.А. Евстапов, И.С. Мухин, И.В. Кухтевич, А.С. Букатин

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург
Санкт-Петербургский государственный университет информационных технологий, механики и оптики
Санкт-Петербургский Академический университет —
научно-образовательный центр нанотехнологий РАН
E-mail: an-evs@yandex.ru

Поступило в Редакцию 2 мая 2011 г.

Микрофлюидные чипы являются основой современных компактных аналитических систем с уникальными техническими характеристиками. Применение функциональных наноразмерных структур в микрофлюидных чипах открывает новые возможности. Приведены и обсуждены результаты работ по формированию наноразмерных структур, используемых в качестве ловушек для микрочастиц в каналах микрофлюидного чипа. Микроразмерные каналы выполнены методами фотолитографии и кислотного травления в стеклянной подложке, а наноразмерные структуры получены методами сфокусированного ионного и электронного пучков. Полученные микрофлюидные чипы могут использоваться для исследований биологических объектов методами микроскопии высокого разрешения.

Развитие аналитических систем на основе микрочиповых технологий, более известных за рубежом как системы „lab on a chip“ и „Micro Total Analysis System“, позволяющие реализовать все стадии биохимического анализа на одном микроустройстве [1,2], вызвало волну исследований в микрогидродинамике (микрофлюидике) [3], а затем в относительно новой области — нанофлюидике [4]. В настоящее время для создания аналитических систем и приборов на микрочиповой платформе используются новейшие технологии и разработки, непрерывно возрастают требования к этим приборам и их техническим характеристикам [5]. Одной из тенденций развития систем „lab on a chip“ является применение наноразмерных структур. Элементы с характер-

ными размерами, лежащими в нанометровом диапазоне, позволяют исследовать явления и процессы, которые невозможно изучить при больших масштабах длин. Методами нанотехнологий можно изготавливать воспроизводимые наноструктуры [6,7], с помощью которых удастся не только проводить исследования в микро- и нанофлюидике, но и создавать приборы и устройства с принципиально новыми свойствами и характеристиками. Наноразмерные элементы (например, наноканалы и нанопоры) позволяют обеспечить эффективное разделение молекул и ионов [8], осуществлять манипуляции с отдельными биологическими молекулами, клетками, бактериями и вирусами [9,10]. Наноразмерные структуры (например, наностержни (нанопроволоки, „нановискеры“), углеродные нанотрубки и др.) могут также использоваться при создании высокочувствительных сенсорных элементов и детектирующих устройств [11–13].

Нами проводились работы по созданию микрофлюидных чипов (МФЧ) для исследования биологических объектов (клеток, бактерий) в естественном состоянии методами микроскопии высокого разрешения: конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ), сканирующей ближнеполевой оптической микроскопии (СБОМ) и атомно-силовой микроскопии (АСМ). Для получения высокого пространственного разрешения изучаемый объект должен быть зафиксирован в области измерений на определенное время. Это может быть обеспечено физическими методами с применением электрических, магнитных, электромагнитных и других полей [14,15] или с использованием механических и гидродинамических „ловушек“ в канале МФЧ.

Метод сфокусированного ионного пучка (СИП, focused ion beam — FIB) в настоящее время распространен в микроэлектронной промышленности. Ионное травление используется как техника прямого (безмасочного) производства микро- и наноструктур. Применяют два типа травления — сухое травление и травление при наличии газа в остаточной атмосфере. Сухое травление СИП является востребованным из-за возможности применения в микро- и наноинженерии, а также в электронной и ионной микроскопии. Основной проблемой технологии ионного травления является сложность расчета и подбора параметров травления для достижения заданной геометрии формируемой поверхности для диэлектрических материалов, особенно в случае их многокомпонентного состава [16].

В статье приведены результаты работ по формированию наноразмерных структур, используемых в качестве ловушек для микрочастиц (размером от 0.5 до 3 μm), в каналах МФЧ методом СИП. В качестве материала МФЧ было выбрано стекло крон К8 (mol.%: SiO_2 — 73.75, В — 9.83, ВаО — 1.28, K_2O — 4.28, Na_2O — 10.74, As_2O_3 — 0.12), как биосовместимый, инертный материал, наиболее подходящий для решения многих задач при исследовании биологических объектов. Стекло является непроводящим материалом, что осложняет изготовление наноструктур. Под действием пучка заряженных частиц на его поверхности скапливается нескомпенсированный заряд, что делает невозможным фокусирование на субмикронных размерах. Для устранения этого эффекта стекло покрывалось слоем проводящего материала (золота, углерода или хрома). Нами были исследованы режимы травления стекла при разных ионных токах (от 5 pA до 500 pA) и временах травления (от 45 до 200 s), изучено влияние толщины и материала покрытий на получаемые структуры. Это позволило определить режимы для воспроизводимого формирования каналов шириной от 200 nm до 500 nm в зависимости от требований к размерам удерживаемых биообъектов [17].

Первоначально были получены микроразмерные каналы методами фотолитографии и кислотного травления. Между двумя параллельными каналами шириной 50 μm и глубиной 10 μm методом СИП были созданы отдельный канал (рис. 1, *a*) и сеть каналов с заходами (рис. 1, *b*). Такая ловушка функционирует следующим образом: биологические частицы, двигаясь в ламинарном потоке жидкости, из микроканала попадают в заходы и удерживаются там под действием гидродинамических сил. Частицы можно фиксировать в определенной области и проводить необходимые измерения. Данная конструкция была изготовлена на стеклянной подложке с предварительно нанесенным тонким слоем хрома. Для формирования сети наноразмерных каналов с заходами использовался сфокусированный ионный пучок (при токе 200 pA) установки CrossBeam Neon фирмы Carl Zeiss (Германия). Установка позволяет контролировать процессы ионного травления в режиме растровой электронной микроскопии во время обработки материала.

Для надежной фиксации в ловушках исследуемых объектов решалась задача модификации полученной поверхности с целью придания ей гидрофильных свойств. Кроме того, были предложены варианты

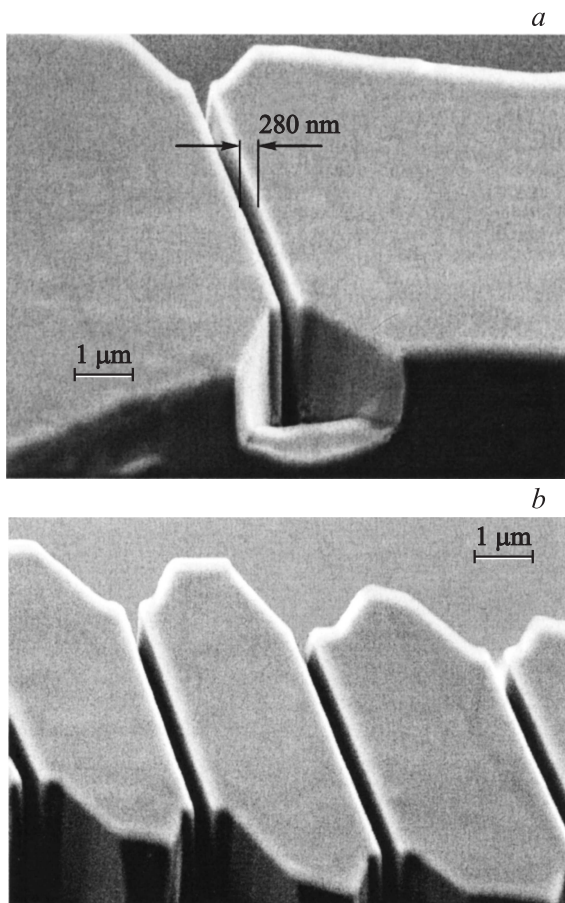


Рис. 1. Изображения отдельного наноразмерного канала (*a*), сети каналов с заходами (*b*) и сети ортогональных каналов (*c*), полученные на СЭМ CrossBeam Neon Carl Zeiss.

конструкций ловушек с дополнительными каналами, позволяющими уменьшить гидродинамическое сопротивление системы и улучшить фиксацию частиц, в частности и ортогональной сетью наноразмерных каналов (рис. 1, *c*).

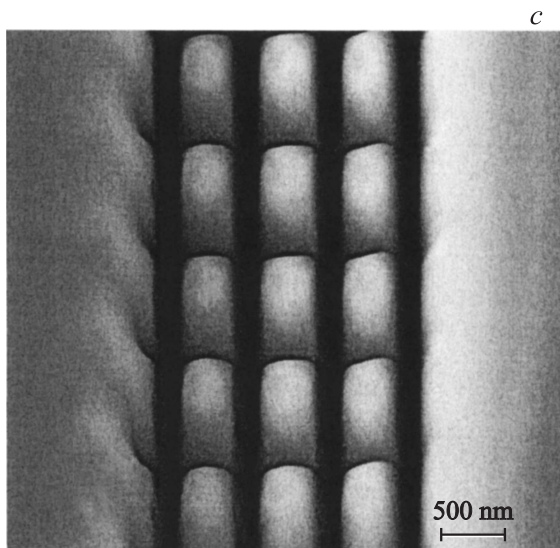


Рис. 1 (продолжение).

Альтернативный подход к разделению и фиксации отдельных биологических объектов — создание массива однородных небольших препятствий на пути тока жидкости. Принцип разделения следующий: жидкость с различными по размерам частицами проходит через массив препятствий в микроканале чипа, представляющих собой множество наностержней (НС) с диаметром ~ 100 nm. Можно сформировать несколько рядов НС с различным периодом (расстоянием между ними). То есть получить своеобразный „фильтр“, позволяющий: во-первых, осуществить дискретизацию частиц по размерам, во-вторых, зафиксировать частицы требуемого размера между стержнями. В этом случае гидродинамическое сопротивление такой ловушки также будет относительно низким. На рис. 2 представлены изображения упорядоченного массива НС (*a*) и отдельного НС из вольфрама (*b*). НС были созданы методом осаждения материала под сфокусированным электронным пучком в вакуумной камере установки CrossBeam Neon в присутствии газов-прекурсоров. Для программируемого управления электронным пуч-

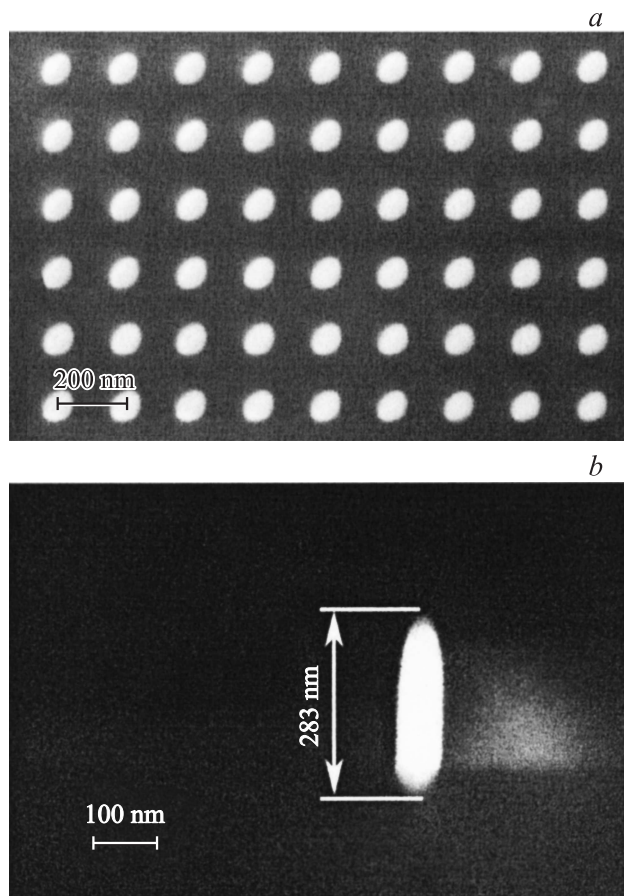


Рис. 2. Изображения массива наностержней (*a*) и единичного наностержня (*b*), полученные на СЭМ CrossBeam Neon Carl Zeiss. Диаметр вольфрамового наностержня — 80 nm, расстояние между наностержнями — 200 nm.

ком использовалась приставка электронно-ионной нанолитографии компании Raith. Известно [18], что НС обладают большим, по сравнению с объемным материалом, модулем Юнга и соответственно большей упругостью. Предварительные исследования показали, что массив НС

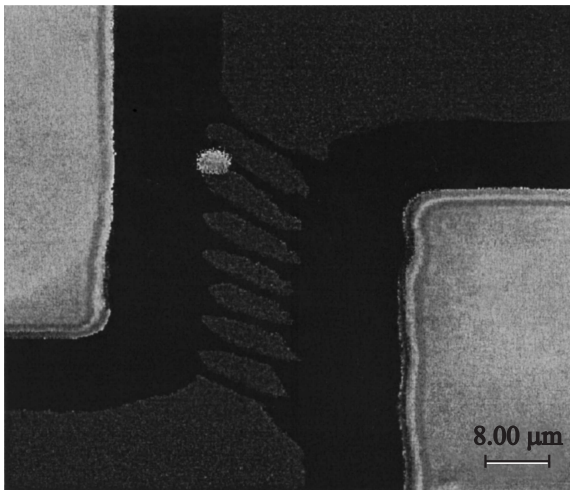


Рис. 3. Удерживание отдельной частицы (диаметром $3\ \mu\text{m}$) в ловушке наноразмерных каналов с заходами при ламинарном потоке жидкости (боратный буфер, $\text{pH} = 9.18$). Изображения получены на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе Leica TSC SL при длине волны возбуждения — $488\ \text{nm}$ и регистрации эмиссии в диапазоне ($500\text{--}530$) nm .

не разрушается при ламинарном потоке жидкости с полистирольными шариками (диаметрами 0.87 , 3 и $6\ \mu\text{m}$) и эти структуры могут использоваться многократно.

Герметизация микро- и наноразмерных структур в МФЧ осуществлялась методами термического связывания и связывания полимерными композициями по ранее описанной методике [19]. Таким способом были изготовлены экспериментальные образцы МФЧ: а) с гидродинамической ловушкой в виде системы наноканалов, соединяющих микроканалы; б) с массивом регулярно расположенных вертикальных НС. Для методов КЛСМ созданы микрофлюидные чипы с закрытыми реакторами и каналами, а для СБОМ и АСМ — с открытым каналом для доступа зонда.

Работоспособность МФЧ с интегрированными наноразмерными структурами проверялась на тестовых растворах (боратный буфер с $\text{pH} = 9.18$) со смесью полимерных частиц диаметром 3 и $6\ \mu\text{m}$,

меченых флуоресцеином (FITC). Движение жидкости с частицами по каналам МФЧ осуществлялось под действием градиента давления, создаваемого внешним перистальтическим насосом. Регистрация движения микрочастиц проводилась с помощью конфокального сканирующего микроскопа Leica TSC SL при длине волны возбуждения — 488 nm и диапазоне детектирования (500–530) nm. На рис. 3 изображена полимерная частица диаметром 3 μm , удерживаемая в ловушке наноразмерных каналов (шириной 500 nm) с заходами. Экспериментальные результаты подтверждают возможность эффективной фиксации микрочастиц в созданных ловушках МФЧ.

Работа проведена при поддержке АВЦР „Развитие научного потенциала высшей школы (2009–2011)“ проект „Исследования и диагностика клеточных структур: новые методические подходы и инструментальные решения на основе сканирующей зондовой микроскопии и микрочиповых технологий“ РНП 2.1.2/9501 и ФЦП „Научные и научно-педагогические кадры инновационной России“ на 2009–2013 годы (ГК П577, ГК 14.740.11.0451).

Список литературы

- [1] *Manz A., Graber N., Widmer H.M.* // *Sensors and Actuators B: Chemical*. 1990. N 1. P. 244–248.
- [2] *Reyes D., Iossifidis D., Auroux P., Manz A.* // *Analytical Chemistry*. 2002. V. 74. P. 2623–2636.
- [3] *Squires T.M., Quake S.R.* // *Reviews of Modern Physics*. 2005. V. 77. P. 977–1026.
- [4] *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics* / Ed. D. Li. New York: Springer Sciences&Business Media, 2008. 2226 p.
- [5] *Mark D., Haeberle S., Roth G., Stetten F.V., Zengerle R.* // *Chemical Society Reviews*. 2010. V. 39. N 3. P. 1153–1182.
- [6] *Mijatovic D., Eijkel J.C.T., van den Berg A.* // *Lab on a chip*. 2005. V. 5. N 5. P. 492–500.
- [7] *Eijkel J.C.T., van den Berg A.* // *Lab on a chip*. 2006. V. 6. N 1. P. 19–23.
- [8] *Schoch R.B.* // *Review of Modern Physics*. 2008. V. 80. P. 839–883.
- [9] *Wang K.-G., Yue S., Wang L., Jin A., Gu C., Wang P.-Y., Feng Y., Wang Y., Niu H.* // *Microfluid Nanofluid*. 2006. V.2. P. 85–88.
- [10] *Kuo C.-W., Wei K.H., Kin C.-H., Shiu J.-Y., Chen P.* // *Electrophoresis*. 2008. V. 29. N 14. P. 2931–2938.

- [11] *Crevillen A.G., Pumera M., González M.C., Escarpa A.* // *Lab Chip*. 2009. V. 9. N 2. P. 346–353.
- [12] *Lee M., Baik K.Y., Noak M., Kwon Y.-K., Lee J.-O., Hong S.* // *Lab Chip*. 2009. V. 9. P. 2267–2280.
- [13] *Ghoshal S., Mitra D., Roy S., Dutta Majumder D.* // *Sensor&Transducers Journal*. 2010. V. 113. N 2. P. 1–17.
- [14] *Tsutsui H., Ho C.-M.* // *Mech. Res. Comm.* 2009. N 36. P. 92–103.
- [15] *Castillo J., Dimaki M., Svendsen W.E.* // *Integr. Biol.* 2009. N 1. P. 30–42.
- [16] *Ali M.Y., Hung W., Yongqi F.* // *International Journal of Precision Engineering Ans Manufacturing*. 2010. V. 11. N 1. P. 157–170.
- [17] *Евстратов А.А., Мухин И.С., Кухтевич И.В., Букатин А.С.* // *Научно-технический вестник СПб ГУ ИТМО*. 2010. Т. 68. № 4. С. 59–63.
- [18] *Iwamoto S., Kai W., Lsogai A., Iwata T.* // *Biomacromolecules*. 2009. V. 10. P. 2571–2756.
- [19] *Евстратов А.А., Лукашенко Т.А., Туник А.Н.* // *Научное приборостроение*. 2010. Т. 20. № 1. С. 29–38.