

## 20 Отложенная регистрация фотолюминесценции нанофосфоров как платформа для оптического биоимиджинга\*

© Е.В. Хайдуков<sup>1,2</sup>, К.Н. Болдырев<sup>3</sup>, К.В. Хайдуков<sup>1</sup>, И.В. Крылов<sup>1</sup>, И.М. Ашарчук<sup>1</sup>,  
А.Г. Савельев<sup>1,2,¶</sup>, В.В. Рочева<sup>1</sup>, Д.Н. Каримов<sup>1</sup>, А.В. Нечаев<sup>1,3</sup>, А.В. Звягин<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН,  
119333 Москва, Россия

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова  
(Сеченовский университет),  
119991 Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт спектроскопии РАН,  
108840 Троицк, Москва, Россия

<sup>4</sup> Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий,  
119571 Москва, Россия

<sup>5</sup> Macquarie University,  
2109 Sydney, North Ryde NSW, Australia

¶e-mail: A.G.Savelyev@gmail.com

Поступила в редакцию 24.09.2018 г.

Системы детектирования с отложенной регистрацией сигнала люминесценции перспективны для выполнения сложных задач визуализации биологических объектов благодаря своей простоте и низкой стоимости. В настоящей работе в системах отложенной регистрации использованы нанокристаллы  $\beta$ - $\text{NaYF}_4:\text{Tm}^{3+}\text{Yb}^{3+}/\text{NaYF}_4$ , обладающие антистоксовой фотолюминесценцией. Показано наличие значительной временной задержки между возбуждающим лазерным импульсом и сигналом люминесценции, что позволяет использовать этот класс наночастиц при создании широкопольных систем визуализации с отложенной регистрацией. Продемонстрирована возможность использования наночастиц для детектирования сигнала фотолюминесценции во втором окне прозрачности биоткани. Эта система может быть построена на резонансном возбуждении и детектировании сигнала фотолюминесценции ионов  $\text{Yb}^{3+}$ .

DOI: 10.21883/OS.2019.01.47061.262-18

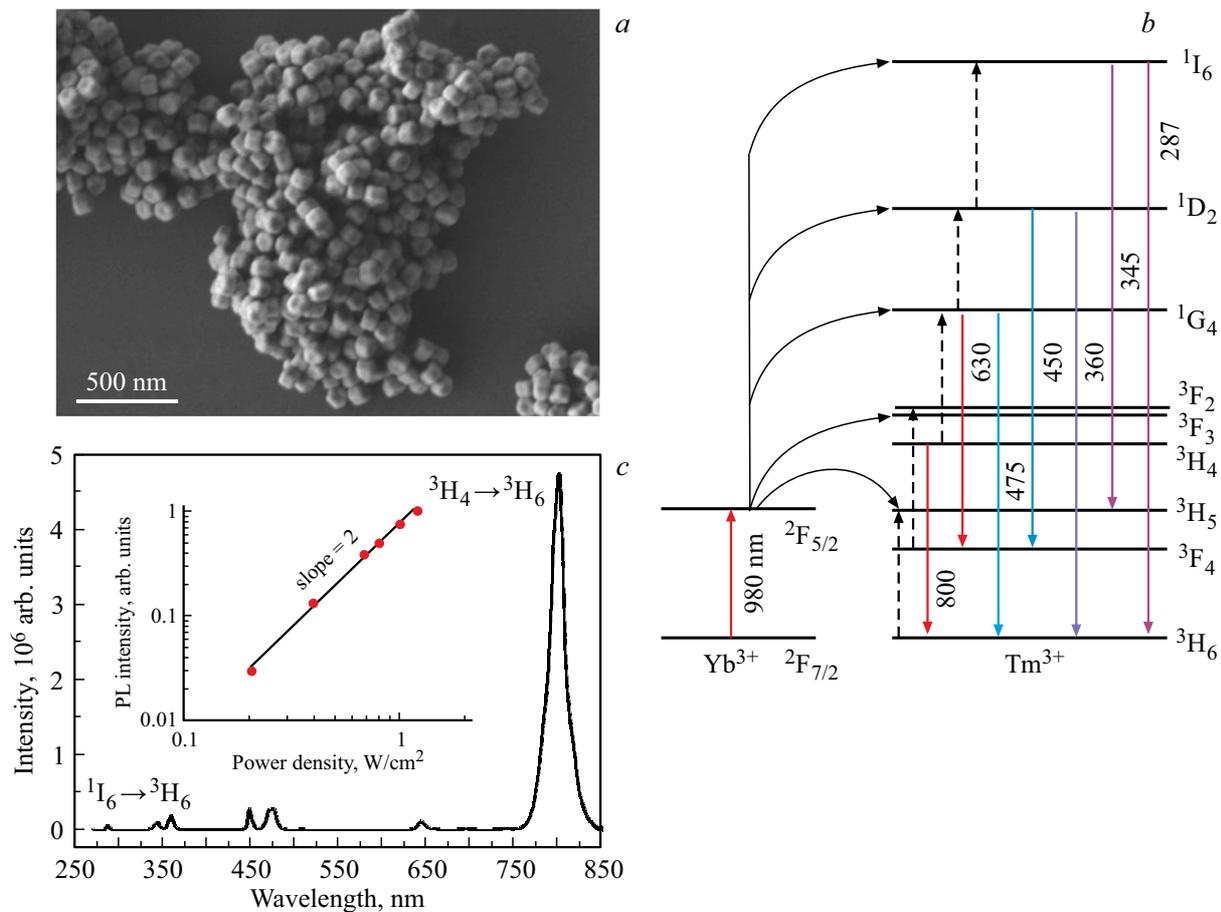
### Введение

Необходимость понимания структуры и оценки функционального состояния клеток, органов и живых организмов стимулирует разработку методов визуализации с высоким пространственным разрешением и чувствительностью. В последнее время биовизуализация с использованием флуоресцентных меток стала одним из ключевых инструментов в биологии и медицинской диагностике благодаря уникально низкой стоимости необходимого оборудования, неинвазивности и практически полной биобезопасности, поскольку живые организмы адаптированы к световому воздействию [1]. Однако практическая реализация этого метода чрезвычайно сложна из-за длины свободного пробега квантов света в биологических тканях, которая обычно составляет всего доли миллиметра. Органические хромофоров, используемые в качестве контрастирующих люминесцентных маркеров, подвержены фотообесцвечиванию, что накладывает ограничения на время их детектирования, а небольшой стоксов сдвиг фотолюминесценции и малые времена жизни возбужденного состояния затрудняют разделение полезного сигнала фотолюминесценции от

фоновой автофлуоресценции биотканей [2]. Во избежание автофлуоресценции все большее распространение получают инфракрасные флуорофоры [3]. К сожалению, короткие времена высвечивания органических флуорофоров и их быстрое фотовыцветание оставляют проблему длительной высоконтрастной визуализации биологических объектов в целом нерешенной.

С середины 1980-х годов лантаноидные хелаты успешно заменили органические хромофоров в иммуноферментных исследованиях, так как они менее подвержены фотовыцветанию, имеют узкие линии эмиссии и обладают большим временем жизни возбужденного состояния, и поэтому сигнал фотолюминесценции может быть дискриминирован от фонового шума как при временной, так и спектральной селекции. Однако лантаноидные хелаты, равно как и наночастицы, легированные редкоземельными элементами [4], возбуждаются вне окна прозрачности биоткани. Определенные успехи в области биоимиджинга были достигнуты с применением антистоксовых наночастиц — апконвертирующих нанофосфоров [5]. В ближнем инфракрасном диапазоне (700–1000 nm) биологические ткани имеют „окно прозрачности“, характеризующееся минимальным поглощением и рассеянием квантов света [6]. Длина волны возбуждения нанофосфоров и некоторые линии их фотолюминесценции попадают в окно прозрачности

\* XIII International Conference on Hole Burning, Single Molecule, and Related Spectroscopies: Science and Applications (HBSM-2018), August 6–12, 2018, Suzdal–Moscow, Russia.



**Рис. 1.** Фотография синтезированных апконвертирующих наночастиц, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа (а), энергетическая диаграмма трехвалентных ионов иттербия и тулия в матрице  $\text{NaYF}_4$  (b) и спектр фотолюминесценции апконвертирующих наночастиц при возбуждении излучением на длине волны 975 нм с интенсивностью  $5 \text{ W/cm}^2$  (c). На вставке дана зависимость интенсивности эмиссии наночастиц на длине волны 800 нм от интенсивности возбуждения.

биоткани, что открывает принципиально новые возможности для оптических исследований живых организмов [7].

Системы детектирования, построенные на принципе отложенной регистрации сигнала флуоресценции, представляются перспективными для выполнения сложных задач визуализации биологических объектов благодаря своей простоте и низкой стоимости [8]. Временная задержка в таких системах достигается за счет синхронизации временных окон импульса возбуждения и сигнала люминесценции. Задержка детектируемого сигнала позволяет затухнуть фоновой автолюминесценции с коротким (наносекундным) временем жизни до того, как будет получен сигнал от метки с большим временем жизни [9]. Следует отметить, что временная селекция способна обеспечить полное разделение изображения единичных молекулярных меток от сигналов помех [10].

В настоящей работе мы продемонстрировали оптическую визуализацию с временной задержкой (система визуализации с отложенной регистрацией) для детектирования сигнала фотолюминесценции от апконвертирующих нанофосфоров. Использование наночастиц, воз-

буждаемых и люминесцирующих в окне прозрачности биологической ткани, с временами, на порядки превышающими времена автофлуоресценции живых систем, расширяет возможности биоимиджинга для выполнения сложных задач визуализации биологических объектов.

## 1. Методы

### 1.1. Синтез наночастиц $\beta\text{-NaYF}_4 : \text{Tm}^{3+} \text{Yb}^{3+} / \text{NaYF}_4$

Синтез НАФ проводится в среде органических растворителей, в результате которого формируются гидрофобные наночастицы, стабилизированные олеиновой кислотой. Технология синтеза описана нами в работе [11]. Были получены нанокристаллы со структурой ядро/оболочка. Ядро —  $\beta\text{-NaYF}_4$ , солегированное  $\text{Yb}^{3+}$ ,  $\text{Tm}^{3+}$  в молярном соотношении 18%, 2% соответственно, оболочка —  $\text{NaYF}_4$ . Технология синтеза наночастиц позволила получить узкодисперсные наночастицы (рис. 1, а), обладающие интегральным коэффициентом конверсии (отношение излученной мощности к погло-

щенной) 9% при интенсивности возбуждающего излучения  $10 \text{ W/cm}^2$ .

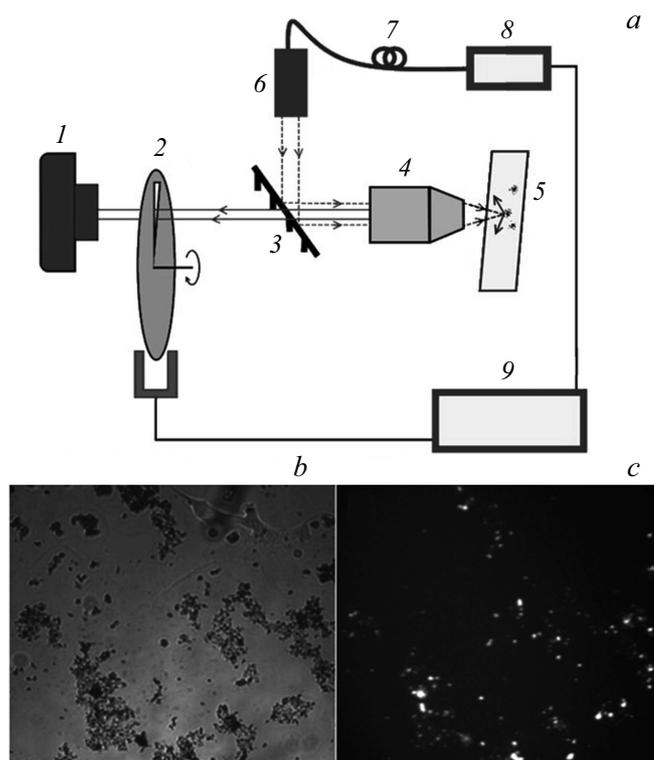
### 1.2. Исследование спектров и кинетики фотолюминесценции нанофосфоров

Спектры и кинетика фотолюминесценции исследовались с помощью флуорометра Fluorolog-3 (HJY, France), оснащенного фотоумножителем R929P (Hamamatsu Photonics, Япония) и высокоскоростным осциллографом TDS 6804B (Tektronix Inc., США). Синтезированные нанокристаллы на предметном стекле помещались в отсек для измерения. Возбуждение фотолюминесценции осуществлялось полупроводниковым волоконным лазером ATC-laser (Semiconductor Devices, Россия) на длине волны  $975 \text{ nm}$ . Интенсивность возбуждения образца составляла  $5 \text{ W/cm}^2$ , а длина импульсов возбуждения изменялась от  $100$  до  $1200 \mu\text{m}$ .

### 1.3. Системы детектирования наночастиц

Для получения изображений от нанофосфоров использовался эпилюминесцентный микроскоп, схема которого показана на рис. 2, а. Образец освещался излучением на длине волны  $975 \text{ nm}$  от полупроводникового лазера ATC-Laser (Semiconductor devices, Россия) с волоконным выходом. Запись изображения проводилась с помощью высокочувствительной CCD-камеры Raptor (Raptor Photonics, Великобритания) с электронным умножением, способной регистрировать одиночные фотоны. Реализация режима отложенной регистрации производилась посредством синхронизации сигнала с оптического модулятора света (чоппера) MC2000B (Thorlabs, США), расположенного непосредственно перед видеокамерой, с возбуждающим лазером. Таким образом, во время перекрытия матрицы камеры образец освещается возбуждающим лазером, затем при открытии матрицы лазерное излучение прерывалось и происходила регистрация послесвечения образца. Поэтому возбуждение частиц и регистрация сигнала образца происходили в противофазе. Посредством настройки фазы и скорости оптического модулятора, проводимых с помощью генератора импульсов, удавалось добиться подавления „быстрой“ люминесценции и наблюдать только исследуемые частицы с длительной флуоресценцией.

Для широкопольной системы отложенной регистрации собрана схема с чоппером, изображенная на рис. 3, а. Включение лазера возбуждения синхронизировано с чоппером, благодаря чему возбуждение наночастиц и регистрация сигнала фотолюминесценции происходят в противофазе. Возбуждение люминесценции осуществлялось полупроводниковым лазером, луч которого отклонялся гальваносканером (Атеко, Россия) по заданной программе и сканировал образец.

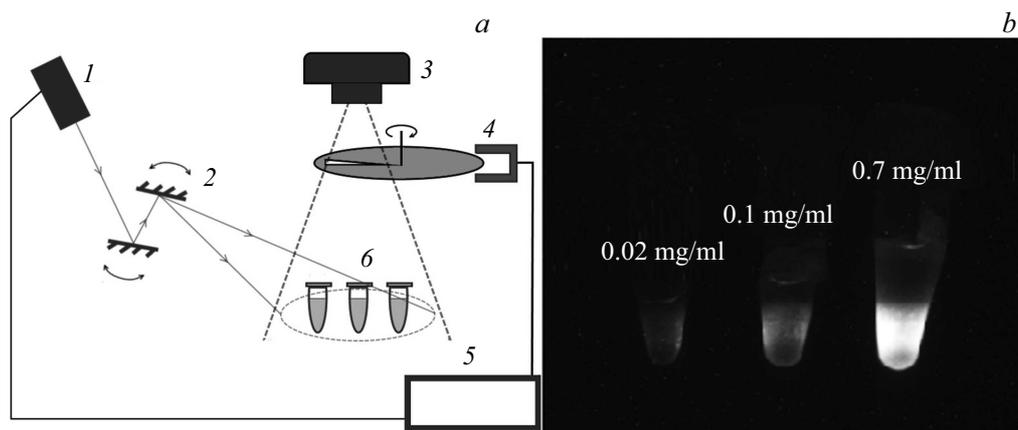


**Рис. 2.** Эпилюминесцентный микроскоп для детектирования наночастиц (а), где 1 — CCD-камера, 2 — чоппер, 3 — полупрозрачное зеркало, 4 — объектив, 5 — образец на предметном стекле, 6 — коллиматор, 7 — оптоволоконный кабель, 8 — полупроводниковый лазер, 9 — генератор импульсов. Фотография, полученная с помощью оптического микроскопа (b) и изображение с эпилюминесцентного микроскопа с отложенной регистрацией (c).

## 2. Результаты

Для построения систем отложенной биовизуализации требуется, чтобы целевые организмы были помечены длительноживущим люминесцентным маркером, как правило, с временем жизни люминесценции, более чем в 500 раз превышающим время жизни ( $t \sim 100 \text{ ns}$ ) биологической автофлуоресценции [8]. Для построения системы отложенной регистрации мы синтезировали наночастицы  $\beta\text{-NaYF}_4: 20\% \text{ Yb}^{3+}; 0.6\% \text{ Tm}^{3+}/\text{NaYF}_4$  и выполнили исследование временной динамики антистоксовой люминесценции при импульсном ИК возбуждении (длительность импульса от  $50$  до  $2000 \mu\text{s}$ ). На рис. 1, а представлена фотография синтезированных наночастиц, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа.

Апконвертирующая наночастица состоит из матрицы, а также ионов лантаноидов двух типов. Ион первого типа — сенсibilизатор, способен эффективно поглотить ИК фотон и перейти из основного в возбужденное метастабильное состояние. В наночастице возможен безызлучательный резонансный перенос энергии между возбужденным ионом сенсibilизатором и ионом



**Рис. 3.** Широкопольная система отложенной регистрации (1 — полупроводниковый лазер, 2 — гальваносканер, 3 — CCD-камера, 4 — чоппер, 5 — генератор импульсов, 6 — образец) (а) и полученное с ее помощью изображение микропробирок, содержащих коллоидный раствор с апконвертирующими наночастицами в разной концентрации. Интенсивность возбуждения  $2 \text{ W/cm}^2$  (b).

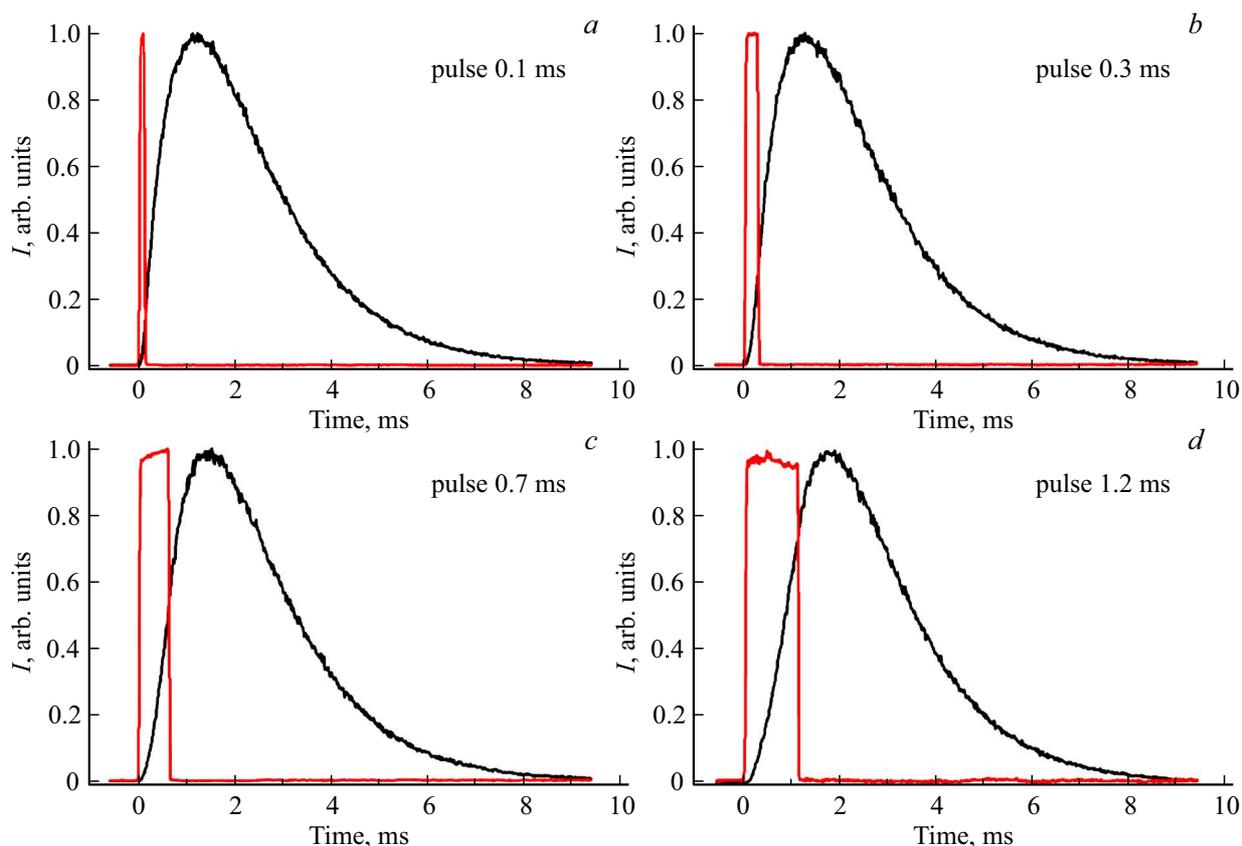
второго типа — активатором. Многократная передача энергии от возбужденного сенсibilизатора к активатору приводит к последовательному возбуждению ионов активатора в метастабильные состояния с большей энергией, чем энергия возбуждающего сенсibilизатора кванта ближнего инфракрасного диапазона спектра. Излучательная релаксация состояний активатора приводит к антистоксовой люминесценции. Эффективность этого процесса определяется неорганической кристаллической матрицей, концентрацией лантаноидов в матрице, перекрытием спектров испускания и поглощения ионов сенсibilизатора и активатора соответственно [12]. Ион  $\text{Yb}^{3+}$  является одним из наиболее эффективных сенсibilизаторов, обладающих большим сечением поглощения ( $\sigma_{\text{abs}} \sim 10^{-20} - 10^{-21} \text{ cm}^2$ ) в окрестности длины волны  $975 \text{ nm}$ . В качестве ионов активаторов выбирают ионы лантаноидов ( $\text{Er}^{3+}$ ,  $\text{Tm}^{3+}$ ,  $\text{Ho}^{3+}$  и др.) с „лестничной“ схемой метастабильных состояний [1]. На рис. 1, b показана энергетическая диаграмма для трехвалентных ионов иттербия и тулия в матрице  $\text{NaYF}_4$ .

В спектре фотолюминесценции апконвертирующих наночастиц, возбуждаемых излучением полупроводникового лазера ( $975 \text{ nm}$ ), присутствуют линии на длинах волн  $800$ ,  $650$ ,  $475$ ,  $450$ ,  $360$  и  $345 \text{ nm}$  (рис. 1, c). Возбуждение на длине волны  $975 \text{ nm}$  и сильная линия фотолюминесценции на длине волны  $800 \text{ nm}$  хорошо подходят для целей оптической визуализации, поскольку попадают в окно прозрачности биологических тканей [13]. Из энергетической диаграммы, представленной на рис. 1, b, видно, что апконверсия является нелинейным процессом. Так, например, интенсивность излучения на длине волны  $800 \text{ nm}$  соответствует переходу иона тулия  ${}^3H_4 \rightarrow {}^3H_6$ , пропорциональна 2-й степени от интенсивности накачки в отсутствие насыщения, которое, как правило, достигается при интенсивностях возбуждающего излучения выше  $25 \text{ W/cm}^2$  [14]. На вставке к рис. 1, c показана зависимость интенсивности фотолюминесценции наночастиц на длине волны  $800 \text{ nm}$

от интенсивности возбуждения на длине волны  $975 \text{ nm}$ . Из наклона кривой в двойном логарифмическом масштабе видно, что интенсивность фотолюминесценции иона тулия  ${}^3H_4 \rightarrow {}^3H_6$  в апконвертирующей наночастице имеет квадратичную зависимость от плотности мощности возбуждающего излучения.

На рис. 4, a–d представлена временная динамика антистоксовой люминесценции наночастиц  $\beta\text{-NaYF}_4: 20\% \text{ Yb}^{3+}; 0,6\% \text{ Tm}^{3+}/\text{NaYF}_4$  при импульсном ИК возбуждении (длительность импульса от  $100$  до  $1200 \mu\text{s}$ ). Временной профиль фотолюминесценции можно описать тремя параметрами:  $\tau_{\text{delay}}$  — время задержки развития сигнала фотолюминесценции от начала возбуждающего импульса на длине волны  $975 \text{ nm}$ ;  $\tau_{\text{max}}$  — время достижения максимума сигнала фотолюминесценции; и шириной на полувысоте. Из экспериментально полученных кривых видно, что сигнал фотолюминесценции с максимумом на длине волны  $800 \text{ nm}$  начинает нарастать после прихода возбуждающего импульса, а его максимум достигается со значительным временным сдвигом после окончания импульса возбуждения. Такой характер кинетики фотолюминесценции объясняется процессом миграции энергии между ионами  $\text{Yb}^{3+}$  в наночастице и подробно рассмотрен нами ранее [15].

Динамика люминесценции на длине волны  $800 \text{ nm}$  при различной длительности импульса возбуждения демонстрирует значительную задержку в достижении максимума сигнала. Задержка сигнала превышает  $1 \text{ ms}$  благодаря тому, что ионы  $\text{Yb}^{3+}$  выполняют роль „аккумуляторов“ энергии, перераспределяя запасенное возбуждение по всей наночастице посредством миграции энергии. Пока исследуемая система находится под действием лазерного импульса, возбуждение ионов тулия происходит преимущественно за счет девозбуждения ближайших ионов иттербия. Как только возбуждающий импульс заканчивается, вступает в силу механизм миграции энергии. Энергия, накопленная в системе после импульсного возбуждения, зависит от длительности им-

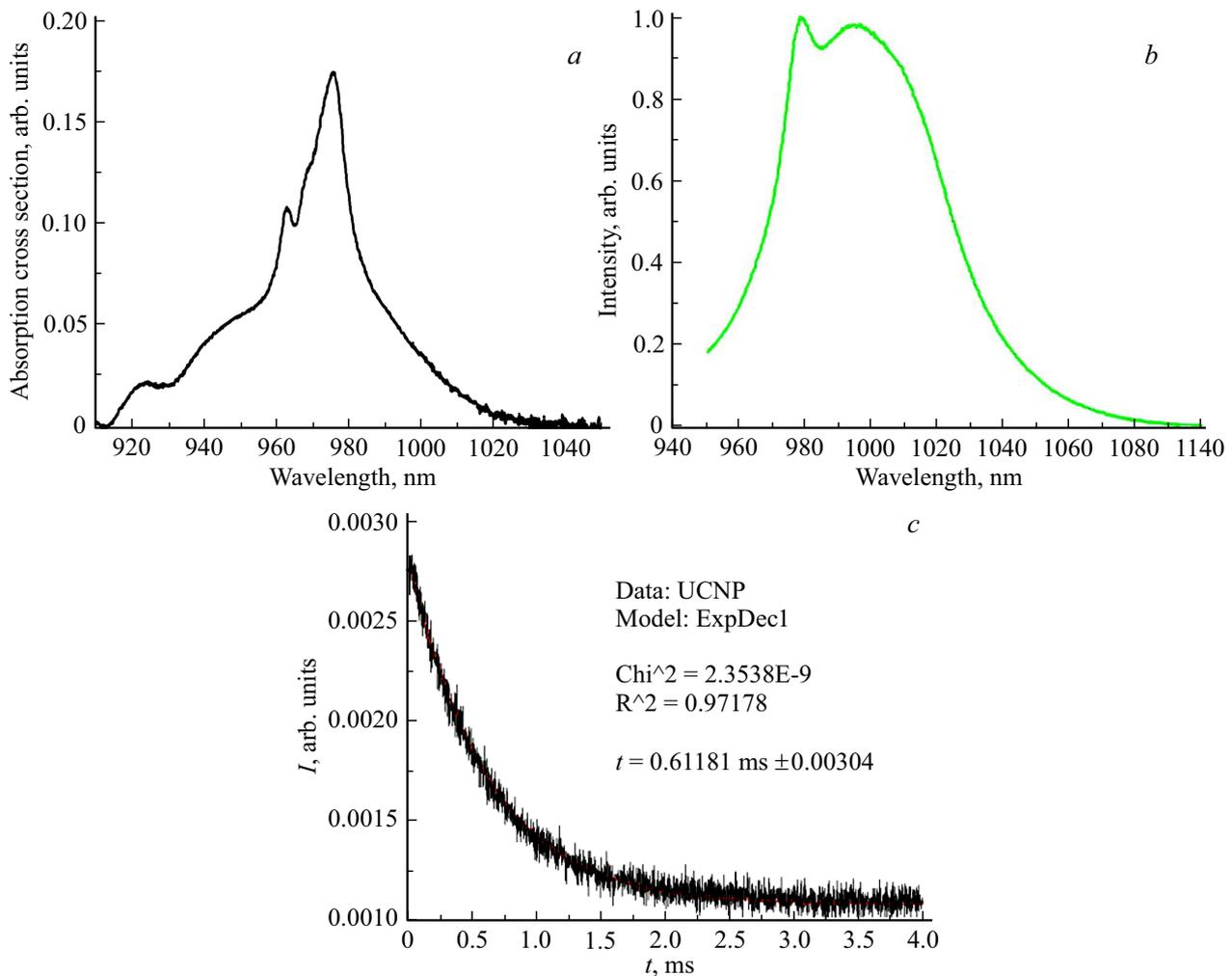


**Рис. 4.** Кинетика фотолюминесценции перехода тулия  ${}^3H_4 \rightarrow {}^3H_6$  при возбуждении импульсом с длительностью 0.1 (a), 0.3 (b), 0.7 (c) и 1.2 ms (d) на длине волны 975 nm. Временной профиль возбуждающего импульса показан сплошной красной кривой. Сигналы нормированы на единицу. Начало временной шкалы соответствует началу импульса возбуждения.

пульса и от конечных состояний ионов тулия, на которых они заканчиваются. После прекращения импульса возбуждения наиболее вероятным процессом в системе является безызлучательный энергетический транспорт от ионов  $\text{Yb}^{3+}$  к  $\text{Tm}^{3+}$ , и поскольку каждый ион тулия окружен множеством возбужденных ионов иттербия, то в момент окончания импульса возбуждения вероятность многофотонных процессов максимальна. При девозбуждении с испусканием фотонов каждый ион тулия создает локальный минимум в пространственном распределении накопленной энергии в системе вокруг себя и для его последующего возбуждения требуется большее время из-за миграции энергии по цепочке ионов  $\text{Yb}^{3+}$  в нанокристалле.

Поскольку существует значительная временная задержка между возбуждающим лазерным импульсом и развитием сигнала фотолюминесценции в апконвертирующих наночастицах, эту паузу можно эффективно использовать для создания системы отложенной регистрации. Специализированная система получения оптических изображений, способная регистрировать сигнал фотолюминесценции от апконвертирующих наночастиц, сохраняя параметры накачки на длине волны 975 nm в пределах допустимых лазерных доз для работы с биообъектами, была реализована нами на макете эпилю-

минесцентного микроскопа (рис. 2, a) и широкопольной установке оптического имиджинга (рис. 3, a). Эффективность сбора фотонов люминесценции от апконвертирующих наночастиц обеспечивалась CCD-камерой с электронным умножением, способной регистрировать одиночные фотоны вблизи 800 nm. Перед объективом CCD-камеры устанавливался электромеханический прерыватель — вращающийся диск (чоппер). С помощью генератора импульсов достигалась синхронизация временных окон импульсного возбуждения и регистрации сигнала фотолюминесценции. Задержка позволяла затухнуть лазерному излучению и фоновым сигналам с короткими временами жизни до того, как будет получен сигнал от наноизлучателей с миллисекундным временем жизни. Рис. 2, b, c иллюстрируют изображения наночастиц на предметном стекле, полученные с помощью оптического микроскопа и эпилюминесцентного микроскопа в режиме отложенной регистрации соответственно. Широкопольное изображение получено с помощью установки, изображенной на рис. 3, a для микропробирок, содержащих коллоидный раствор апконвертирующих наночастиц. На сделанном снимке (рис. 3, b) видно, что при увеличении концентрации наночастиц от 0.02 до 0.7 g/l интенсивность люминесцентного сигнала увеличивается.



**Рис. 5.** Сечение поглощения (a), спектр фотолюминесценции (b) и кинетика фотолюминесценции апконвертирующих наночастиц  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$  на длине волны 975 nm (c) при возбуждении лазерным импульсом на длине волны 975 nm. Время жизни определено как 0.61 ms.

Нельзя не отметить возможность использования этого класса наночастиц для детектирования сигнала фотолюминесценции во втором окне прозрачности биоткани. Второе окно прозрачности [16] в ближней ИК области (1000–1350 nm) благодаря снижению коэффициента аттенюации биоткани открывает возможность высокочувствительной визуализации кровеносных сосудов *in vivo* через кожу [17]. Ионы  $\text{Yb}^{3+}$ , входящие в состав апконвертирующих наночастиц, имеют только два энергетических уровня. В приближении LS-связи эти уровни  $\text{Yb}^{3+}$  обозначаются как  $^2F_{5/2}$  и  $^2F_{7/2}$  (рис. 1, b). Кратность вырождения для уровней  $^2F_{5/2}$  и  $^2F_{7/2}$  равна 6 и 8 соответственно. Электрическое поле матрицы кристалла частично снимает вырождение, но поскольку ион  $\text{Yb}^{3+}$  содержит нечетное число электронов, уровни остаются двукратно вырожденными. Систему уровней ионов  $\text{Yb}^{3+}$  можно рассматривать, как квазидвухуровневую, поскольку в каждом мультиплете устанавливается термодинамическое равновесное расщепление населенностей по подуровням. Это приводит к тому, что сечение погло-

щения и люминесценции в значительной мере зависит от симметрии кристаллической матрицы нанокристалла и, очевидно, чем ниже симметрия матрицы, тем выше эффективность поглощения и люминесценции. На рис. 5 представлены сечение поглощения ионов иттербия в наночастицах, спектр фотолюминесценции и кинетика фотолюминесценции синтезированных наночастиц в окрестности длины волны 975 nm.

Измеренное нами сечение поглощения  $\text{Yb}^{3+}$  в нанокристалле  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$  составило  $4 \cdot 10^{-20} \text{ cm}^2$  с максимумом на длине волны 975.8 nm. Время жизни ионов  $\text{Yb}^{3+}$  в нанокристаллах  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$  было определено как 0.61 ms. Учитывая высокую квантовую эффективность кристаллов, легированных ионами  $\text{Yb}^{3+}$  [18], большое сечение поглощения и длительное время жизни возбужденного состояния — реализация системы визуализации с отложенной регистрацией, построенной на резонансном возбуждении и детектировании сигнала фотолюминесценции ионов  $\text{Yb}^{3+}$ , видится перспективной, хотя и потребует перехода на дру-

гие типы CCD-матриц, обладающие большей чувствительностью в этом спектральном диапазоне, например InGaAs.

## Заключение

Синтезированные апконвертирующие наночастицы типа NaYF<sub>4</sub> использованы для получения люминесцентного сигнала, регистрируемого созданными эпилюминесцентным микроскопом и широкопольной системой. Возбуждение и люминесценция в ближней ИК области спектра апконвертирующих наночастиц позволяет рассматривать их в качестве люминесцентных маркеров для глубокого оптического зондирования биотканей. Значительная временная задержка между возбуждающим лазерным импульсом и развитием сигнала фотолюминесценции в апконвертирующих наночастицах позволяет реализовать бесфоновую оптическую визуализацию с временной задержкой. Показана возможность использования этого класса наночастиц для детектирования сигнала фотолюминесценции во втором окне прозрачности биоткани. Высокая квантовая эффективность кристаллов, легированных ионами Yb<sup>3+</sup>, большое сечение поглощения и длительное время жизни возбужденного состояния открывает возможность визуализации с отложенной регистрацией, построенной на резонансном возбуждении и детектировании сигнала фотолюминесценции ионов Yb<sup>3+</sup>, расширяя возможности биоимиджинга для выполнения сложных задач визуализации биологических объектов.

Работа выполнена при поддержке Федерального агентства научных организаций (соглашение № 007-ГЗ/ЧЗ363/26) в части „синтеза нанокристаллов“ и Российского научного фонда (Project No. 17-19-01416) в части „исследования свойств нанофосфоров“.

Авторы статьи выражают благодарность С.Ю. Аляткину за ценные научные дискуссии.

## Список литературы

- [1] Generalova A.N., Chichkov B.N., Khaydukov E.V. // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2017. V. 245. P. 1.
- [2] Leblond F., Davis S.C., Valdes P.A., Pogue B.W. // *J. Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2010. V. 98. N 1. P. 77.
- [3] Yu D., Gustafson W.C., Han C., Lafaye C., Noirclerc-Savoie M., Ge W.-P., Thayer D.A., Huang H., Kornberg T.B., Royant A., Jan L.Y., Jan J.N., Weiss W.A., Shu X. // *Nature Commun.* 2014. V. 5. P. 3626.
- [4] Wu Y., Shi M., Zhao L., Feng W., Li F., Huang C. // *Biomaterials*. 2014. V. 35. N 22. P. 5830.
- [5] Gargas D.J., Chan E.M., Ostrowski A.D., Aloni S., Altoe M.V., Barnard E.S., Sanii B., Urban J.J., Milliron D.J., Cohen B.E., Schuck P.J. // *Nature Nanotechnology*. 2014. V. 9. N 4. P. 300.
- [6] Alexandrakis G., Rannou F.R., Chatziioannou A.F. // *Phys. in Medicine & Biology* 2005. V. 50. N 17. P. 4225.
- [7] Grebenik E.A., Nadort A., Generalova A.N., Nechaev A.V., Sreenivasan V.K.A., Khaydukov E.V., Semchishen V.A., Popov A.P., Sokolov V.I., Akhmanov A.S., Zubov V.P., Klinov D.V., Panchenko V.Ya., Deyev S.M., Zvyagin A.V. // *J. Biomed. Opt.* 2013. V. 18. N 7. P. 076004.
- [8] Neaime C., Amela-Cortes M., Grasset F., Molard Y., Cordier S., Dierre B., Mortier M., Takei T., Takahashi K., Haneda H., Verelstf M., Lechevallier S. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. V. 18. N 43. P. 30166.
- [9] Edmonds A.M., Sobhan M.A., Sreenivasan V.K.A., Grebenik E.A., Rabeau J.R., Goldys E.M., Zvyagin A.V. // *Particle and Particle Systems Characterisation*. 2013. V. 30. N 6. P. 506.
- [10] Yuan J., Wang G. // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2006. V. 25. N 5. P. 490.
- [11] Khaydukov E.V., Semchishen V.A., Seminogov V.N., Sokolov V.I., Popov A.P., Bykov A.V., Nechaev A.V., Akhmanov A.S., Panchenko V.Ya., Zvyagin A.V. // *Laser Phys. Lett.* 2014. V. 11. N 9. P. 095602.
- [12] Nadort A., Zhao J., Goldys E.M. // *Nanoscale*. 2016. V. 8. N 27. P. 13099.
- [13] Khaydukov E.V., Semchishen V.A., Seminogov V.N., Nechaev A.V., Zvyagin A.V., Sokolov V.I., Akhmanov A.S., Panchenko V.Ya. // *Biomed. Opt. Express*. 2014. V. 5. N 6. P. 1952.
- [14] Khaydukov E.V., Mironova K.E., Semchishen V.A., Generalova A.N., Nechaev A.V., Khochenkov D.A., Stepanova E.V., Lebedev O.I., Zvyagin A.V., Deyev S.M., Panchenko V.Ya. // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 35103.
- [15] Alyatkin S., Asharchuk I., Khaydukov K., Nechaev A., Lebedev O., Vainer Y., Semchishen V., Khaydukov E. // *Nanotechnology* 2017. V. 28. N 3. P. 035401.
- [16] Smith A.M., Mancini M.C., Nie S. // *Nature Nanotechnology*. 2009. V. 4. N 11. P. 710.
- [17] Welsher K., Liu Z., Sherlock S.P., Robinson J.T., Chen Z., Daranciang D., Dai H. // *Nature Nanotechnology*. 2009. V. 4. P. 773.
- [18] [http://www.altechna.com/product\\_details.php?id=1050&product\\_name=Yb%3ALiYF4+Crystals](http://www.altechna.com/product_details.php?id=1050&product_name=Yb%3ALiYF4+Crystals)