

# ЛСЭ:

## Мягкое прикосновение лазера

А.К. ПЕТРОВ

*Чтобы перевернуть мир, Архимеду нужна была точка опоры. В науке ее роль зачастую играет любой новый метод исследования, чье появление вызывает резкий и неожиданный подъем в смежных науках. У лазера на свободных электронах из Сибирского центра фотохимических исследований — плода научного сотрудничества, созданного под «знаком сигмы», — есть все шансы стать в этом смысле хрестоматийным примером...*

Широко ныне известный метод масс-спектрометрии в свое время произвел настоящую революцию в химии. По сей день для любого вещества, которое можно перевести в газовую фазу, может быть записан масс-спектр, на основе материнского пика которого можно определить его молекулярную массу, а по анализу масс-спектра фрагментов — структуру молекулы. Препятствием же к использованию масс-спектрального анализа в биологии до сих пор служили не столько огромная масса биологических макромолекул, сколько невозможность перевести их в газовую фазу.

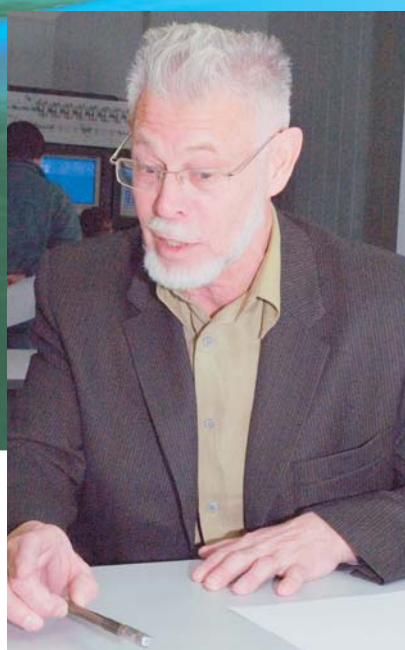
Эта трудность была преодолена с появлением методики MALDI (*matrix assisted laser desorption/ionization*), при которой на вещество, помещенное в специальную матрицу, воздействуют мощным УФ-лазерным импульсом длительностью  $10^{-9}$ – $10^{-6}$  с. При этом происходит процесс так называемой абляции (возгонки) исследуемого вещества, причем молекулы и их осколки вылетают с поверхности подложки в виде ионов и попадают в масс-спектрометр с высоким разрешением. Поскольку энергия кванта излучения таких лазеров довольно высока, происходит фотохимическая диссоциация, то есть разрушение молекул анализируемого образца.

Поэтому для исследователей было бы крайне заманчивым получить в свое распоряжение метод, позволяющий проводить «мягкую», без деструкции объекта, лазерную абляцию биологических макромолекул, которые затем можно регистрировать в газовой фазе в виде аэрозольных частиц. Идея эта была реализована в нашем Сибирском центре фотохимических исследований с запуском первой очереди лазера на свободных электронах (ЛСЭ), разработанного в ИЯФ СО РАН.

История Центра началась в 1992 г., когда директор ИЯФ ак. А. Н. Скринский пригласил все заинтересованные стороны на свой традиционный «круглый стол» и рассказал о проекте создания ЛСЭ, излучение которого можно было бы плавно перестраивать по длинам волн в инфракрасном диапазоне от 2 до 200 мкм. Это громадный диапазон, перекрывающий колебательные и вращательные спектры почти всех существующих молекул. Был задан вопрос: готовы ли химики использовать такое излучение? Ответ был моментальным: да, конечно!

Дело в том, что наше подразделение по сей день носит название лаборатория лазерной фотохимии. К тому времени у нас был накоплен 20-летний опыт исследований реакционной способности молекул, колебательно возбужденных под действием монохроматического излучения  $\text{CO}_2$ -лазера. К сожалению, этот лазер генерирует излучение в достаточно узком диапазоне длин волн около 10 мкм, поэтому исследователи вынуждены подбирать молекулы, имеющие колебания именно в этой области. Очевидно, что появление универсального источника монохромати-

Вопрос об объединении усилий физиков и химиков для создания ЛСЭ решился на традиционном «круглом столе» в Институте ядерной физики СО РАН



ПЕТРОВ Александр Константинович — доктор химических наук, заведующий отделом лазероуправляемых процессов и лабораторией лазерной фотохимии, заместитель директора Института химической кинетики и горения СО РАН (Новосибирск)



ческого излучения позволило бы селективно воздействовать на любые колебания в любых молекулярных системах.

Однако для реализации задуманного недостаточно было иметь красивую физическую идею, тщательно просчитанный проект и даже сделанные «в железе» узлы и комплектующие. Нужно было соответствующее немаленькое помещение, желательное с радиационной защитой... Помог случай и тогдашний председатель СО РАН академик В. А. Коптюг. К этому времени были остановлены работы в специализированном корпусе Института химической кинетики и горения с 50-метровым ускорительным залом, защищенным трехметровым бетоном. Тут-то и появилась идея создания на этой базе объединения — центра коллективного пользования для проведения фундаментальных и прикладных исследований в физике, химии, биологии и медицине.

Постановление о создании Центра было подписано В. А. Коптюгом 15 декабря 1992 г. В нем предусматривалась перспектива «...придания Центру статуса международного», а базовыми институтами Центра были определены институты Химической кинетики и горения и Ядерной физики СО РАН.

К постановлению был приложен «План-график проектно-монтажных работ по созданию ЛСЭ»,

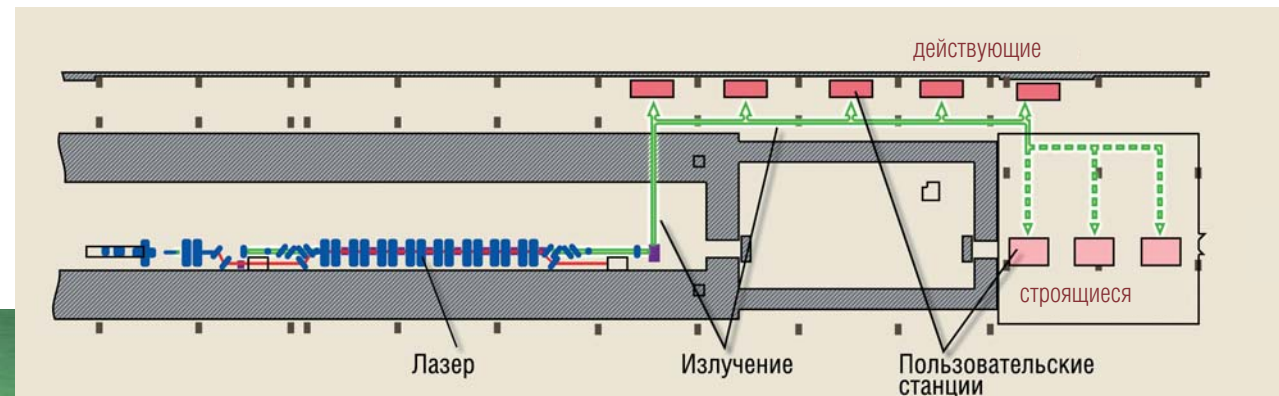
по которому «получение заданных параметров и работа на эксперимент» были намечены на 1996 г. Указаны были и источники финансирования: РАН, Министерство обороны России, дирекция СОИ США, Национальное агентство по космосу и авионавтике США и поступления по международным договорам ИЯФ. Однако вскоре пришли трудные для страны и для отечественной науки годы перестройки. Все источники финансирования рухнули. И хотя наличие готового подходящего здания почти в два раза удешевило проект, ситуация казалась безысходной...

**С**егодня, оглядываясь в прошлое, хочется в прямом смысле слова пропеть гимн героическому коллективу ИЯФ, который продолжал работать и заметную часть заработанных по договорам средств вкладывал в создание ЛСЭ.

Трудности сплотили нас. Мы регулярно собирались на семинары, планерки, обсуждали текущие дела, радовались даже малым успехам, мечтали, строили планы на будущее. Как могли, помогали и поддерживали друг друга: за все годы, которые ушли на создание ЛСЭ, не могу вспомнить ни одного конфликта.

Все эти годы ИЯФ регулярно проводил международные конференции по синхротронному излучению и ЛСЭ. Сначала мы, химики, были благодарными слушателями и учениками, а через несколько лет уже сами

Сначала на конференциях по синхротронному излучению, где обязательно бывает ЛСЭ-секция, химики были лишь слушателями и учениками



Сегодня в Сибирском центре фотохимических исследований излучение первой очереди ЛСЭ выведено на пять первых пользовательских станций, где работают ученые разных специальностей. А на подходе — вторая очередь лазера, излучение которого перекроет коротковолновый диапазон

стали делать научные доклады по использованию излучения ЛСЭ.

Дело в том, что в 1994 г. мы предложили использовать излучение ЛСЭ для разделения изотопов. Дж. Мэйди, профессор Университета Дюка (Северная Каролина) (первый, кто построил лазер на свободных электронах и дал ему такое название), пригласил нас к себе проверить эту возможность на его ЛСЭ, по энергии импульса в 1000 раз уступавшему нашему будущему лазеру. Шансов было мало, но мы рискнули, и за два непродолжительных визита в 1995–96 гг. мне и моим коллегам д. х. н. Е. Н. Чеснокову и к. х. н. С. Р. Горелику удалось разделить молекулы муравьиной кислоты и нитрометана с разными изотопами углерода, кислорода и азота.

Сама идея была прозрачной. Наличие изотопных атомов в молекуле приводит к соответствующему расщеплению в колебательном спектре. Излучение ЛСЭ можно резонансно настроить только на одну изотопную разновидность молекулы и, соответственно, диссоциировать только ее. Эта работа не осталась незамеченной научной общественностью, и в 2001 г. проф. Х. Курода из Токийского исследовательского университета предложил нам попытаться разделить



Наш ЛСЭ еще молод, но у нас уже есть свои исторические реликвии. Например, бутылка из-под шампанского, распитого 4 апреля 2003 г. — в день, когда было получено первое излучение. На ней оставили автографы все участники запуска



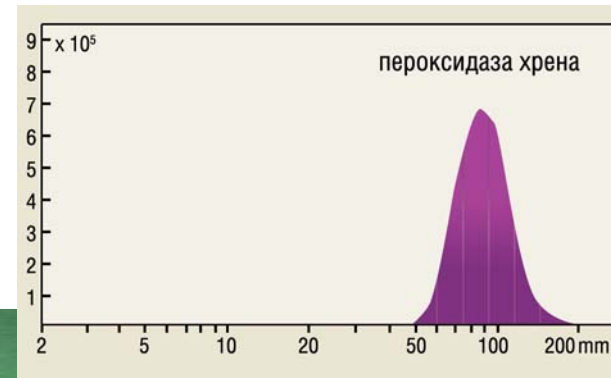
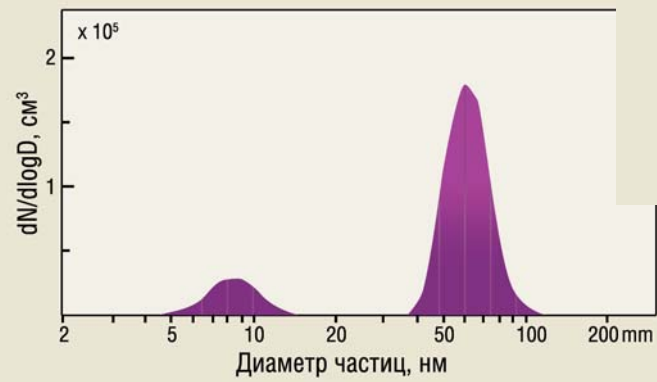
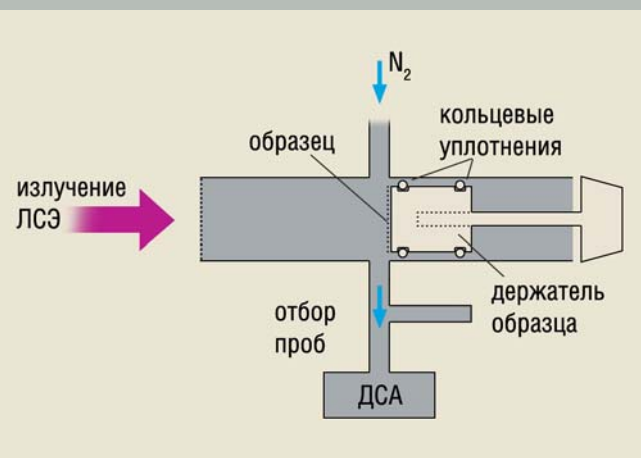
Коллектив единомышленников — к. ф.-м. н. В. М. Попик (ИЯФ), С. Б. Малышкин (ИХКиГ), к. б. н. С. Е. Пельтек и Т. Н. Горячковская (ИЦиГ), д. х. н. А. К. Петров и к. х. н. А. С. Козлов (ИХКиГ)

изотопы кремния — важнейшего элемента для высоких технологий — на своем ЛСЭ. К этому времени стало известно, что монокристалл из кремния-28, очищенного от других изотопов (29 и 30), обладает значительно более высокой теплопроводностью. За две недели подготовки и одни(!) сутки работы нам удалось увеличить содержание кремния-28 в молекуле фенилтрифторметана с 92 (природное содержание) до 98 %.

Эксперименты были остановлены из-за поломки лазера, мощность которого была недостаточной для такой работы, но это стало убедительной демонстрацией возможностей нового метода. А с учетом возможностей нашего будущего лазера у последнего есть шансы перерасти в настоящую технологию.

Первым биологическим объектом нашего исследования стала ДНК фага. Образец нанесли на пористую подложку из оксида кремния, высушили и поместили под лазерное излучение. В результате «возгонки» получили частицы размером около 70 нм.

В следующем эксперименте в смесь добавили ДНК плазмиды, на порядок меньшую по массе. В этом случае ДСА — диффузионный спектрометр аэрозолей, созданный в ИХКиГ, — зафиксировал уже две фракции частиц, по размерам соответствующих 7 и 70 нм. Отсутствие частиц других размеров свидетельствует о том, что излучение не разрушило исходные биологические макромолекулы

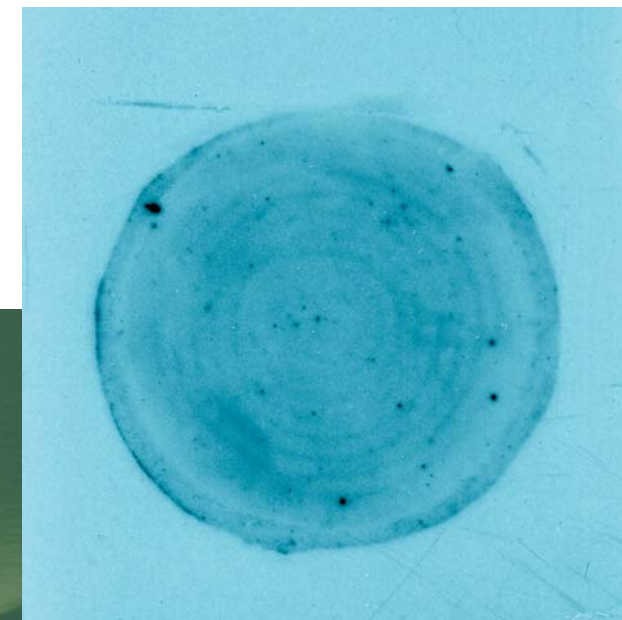


Пока мы «резвились» на чужих установках, наши друзья-физики продолжали напряженно работать над монтажом сибирского лазера. И вот пятничным вечером 4 апреля 2003 г. была получена первая генерация излучения с перестройкой длины волны в диапазоне от 100 до 200 мкм.

Это был праздник, которого ждали 10 лет! Это значило, что расчеты, конструирование и монтаж верны, мы на правильном пути. Участники запуска, наши коллеги из ИЯФа д.ф.-м.н. Н. А. Винокуров, к.ф.-м.н. А. Д. Орешков, М. А. Щеглов, В. В. Кубарев, Д. А. Кайран, О. А. Шевченко; А. Н. Матвеев, Л. Э. Медведев обзвонили всех кого могли. Приехали академики А. Н. Скринский и Г. Н. Кулипанов, мы с к.ф.-м.н. В. М. Попиком поспешили на импровизированное торжество прямо из сауны. Все собрались в пультовой и пили за успех шампанское прямо из чайных чашек...

Вскоре в ускорительном зале были проведены первые эксперименты, за которыми наблюдали с помощью кинокамеры. Следующим этапом был вывод излучения из зала, поскольку находиться там во время работы ускорителя нельзя. На это ушел еще год. Уже на первой станции все потенциальные пользователи по очереди начали проверять свои идеи, ставить эксперименты. Еще через год у нас заработало пять экспериментальных станций, на которых сегодня реализуют свои проекты сотрудники самых разных институтов Сибирского отделения — физики, химики, биологи.

У ученых в руках появился новый исследовательский инструмент с уникальными и не до конца познанными возможностями. Но, помимо научно-познавательного, у нашего лазера имеется огромный «технологический» потенциал в самых разных прикладных областях, включая биотехнологию, медицину, нанотехнологию, производство сверхчистых веществ... Один пример: «мягкая» абляция под действием субмиллиметрового излучения лазера не разрушает природную структуру перешедших в аэрозольную фазу биологических мак-



Основные наши усилия мы сосредоточили на совершенствовании технологии лазерной абляции белков для расширения возможностей протеомного (белкового) анализа.

При воздействии излучения на ферменты лизоцим и пероксидазу мы получили аэрозольные частицы, размер которых хорошо соответствовал их молекулярной массе.

Для проверки ферментативной способности пероксидазы аэрозольные молекулы фермента были собраны на фильтр, и наши партнеры из ИЦиГа провели гистохимическое окрашивание (по методу фирмы BioRad) полученного образца. Результат — фермент прореагировал с красителем, который дает качественную реакцию только на «рабочую» молекулу фермента! Результаты экспериментов ясно свидетельствуют о том, что при воздействии субмиллиметрового излучения лазера не происходит разрушения сложных белковых молекул, сохраняющих при этом свою ферментативную активность

ромолекул, которые можно «поймать» и закрепить на различных подложках. Вот вам прямой путь к созданию микрочипов, миниатюрных диагностических планшетов для медицинских целей.

Реальная отдача от нашего ЛСЭ видна уже сегодня, и мы ожидаем, что в течение ближайшего времени число пользователей резко возрастет. Люди будут приходить в наш Центр, генерировать идеи, разрабатывать проекты... Ведь все только начинается.