

СВЕДЕНИЯ О ХОДЕ ВЫПОЛНЕНИЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ПРОГРАММЫ

Этап 2021 года

1. Перечень использованных источников синхротронного и нейтронного излучения

Для реализации Программы исследований используется Уникальная Научная Установка Курчатовский специализированный источник синхротронного излучения (УНУ КИСИ). Данный комплекс имеет в своем составе экспериментальные синхротронные станции, реализующие разнообразные рентгеновские методы для исследования структурных параметров изучаемых материалов, в том числе уникальные методы, использующие ключевые свойства синхротронного излучения — высокую яркость, естественную коллимированность и непрерывный спектр рентгеновского излучения. Доступ к оборудованию УНУ КИСИ осуществляется в режиме центра коллективного пользования по заявкам на проведение измерений. Цель использования источника заключалась в получении структурных результатов уникальными синхротронными рентгеновскими методами, в частности, методом рентгеновской спектроскопии поглощения.

На 1 этапе проекта с использованием УНУ КИСИ был выполнен ряд структурных исследований: изучена локальная структура тяжелых элементов в композитах $\text{MoO}_3|\text{ППК}$, исследовано упорядочение композитных пленок $\text{Ag}|\text{ППК}$, измерены структурные параметры трехмерной структуры рекомбинантных аналогов белка спидроина. Локальная структура исследовалась с использованием метода спектроскопии поглощения рентгеновских лучей (EXAFS, XANES) на станции «Структурное материаловедение» УНУ КИСИ в режиме по выходу флуоресценции вблизи К-края молибдена (20000 эВ). Время экспозиции образца составляло 5 часов, что позволило получить сигнал хорошего качества, пригодный для получения структурных характеристик локального окружения. Анализ Фурье-обращения спектра EXAFS и сравнение его со стандартом, гексагональным MoO_3 , позволяет заключить, что в композите происходит разупорядочение дальнего порядка в оксиде молибдена и формирование наночастиц или аморфизация оксида молибдена. Структура композитных пленок $\text{Ag}|\text{ППК}$ исследована методом дифракции в геометрии скользящего падения (GIXD) на станции «Ленгмюр» УНУ КИСИ. Установлено, что преобладающей кристаллической модификацией ППК в пленках является альфа-фаза, которая необратимо переходит в бета1-фазу при нагреве до 200 °С, что дает возможности для управления кристаллической структурой полимерной матрицы, а также размерами наночастиц серебра. Структура рекомбинантных аналогов спидроина в растворе изучена на станции «БиоМУР» УНУ КИСИ методами малоуглового и широкоугового рассеяния рентгеновских лучей (МУРР и ШУРР). Использовалось синхротронное рентгеновское излучение с энергией 8 кэВ и энергетическим разрешением $dE/E=10^{-3}$. Для регистрации рассеянного излучения использовался детектор Dectris Pilatus 1M, располагавшийся на расстоянии 2500 мм (малоугловое рассеяние) или 170 мм (широкоугловое рассеяние) от образца. Изученные образцы характеризуются наличием агрегатов, с характерными размерами до 140 нм. Структурные характеристики белков охарактеризованы радиусами Гинье около 2.5-2.6 нм и парными корреляционными функциями с максимальным размером около 8-8.5 нм. Для лиофилизатов белков по данным ШУРР отмечается частично кристаллическая структура. Полученные структурные данные позволяют обосновать целесообразность использования для задач проекта УНУ КИСИ.

2. Достигнутые результаты исследовательской программы (проекта) и оценка их востребованности

Проведен анализ научно-технической литературы по теме «Использование рентгеновских методов при создании биогибридных систем». Приведены примеры эффективного использования современных рентгеновских методов с применением синхротронного излучения для изучения структуры гибридных материалов и установления взаимосвязи между методами их получения, структурой и свойствами. Показана важная роль структурных методов с использованием установок класса мегасайенс при создании новых высокоэффективных материалов для актуаторов мягкой роботехники, сенсоров, губчатых и гидрогелевых биосовместимых материалов медицинского назначения, материалов для восстановительной медицины, в том числе на основе природных полимеров, полисахаридов и белков, для исследования систем адресной доставки биологически активных веществ. Показано, что для создания эффективных биотопливных элементов и анализа распределения микроорганизмов на носителе критически важным является использование рентгеновской микротомографии. Высокая яркость современных синхротронных источников излучения в широком спектральном диапазоне и появление станций, дающих возможность комбинирования спектроскопии поглощения (XAFS) с другими рентгеновскими методами, например, дифракции, томографией, фотоэлектронной спектроскопии, позволяет перенести парадигму рентгеновской характеристики в материаловедении с исследований материалов *ex situ* на исследования процессов, связанных с преобразованиями материалов, *in situ* или *operando*, что особенно важно для создания ключевого элемента современных биотехнических систем – мемристоров, как неорганических, так и гибридных. Проведенный анализ научно-технической литературы убедительно показал, что значимость настоящей работы, как в фундаментальном, так и в прикладном отношении, представляется достаточно высокой.

Проведены патентные исследования по направлению МОМ-материалов, материалов на подложках, методов на основе плазменно-электролитной обработки, покрытий PVD, CVD, ХТО, а также по направлению методов первичной обработки и комплексирования данных, структур нейронных сетей, методов управления роботизированными комплексами, нейроморфных устройств и мемристорных структур, биоискусственных систем и биогибридных конструкций, позволяющих совмещать живую ткань или клеточные культуры с искусственными функциональными компонентами органического или неорганического происхождения. Осуществлён тематический поиск отечественных и зарубежных охраняемых документов, а также проведённое исследование прочих не патентных источников по иным информационным ресурсам в соответствии с заданием и регламентом поиска согласно ГОСТ Р 15.011-96 «СРПП. Патентные исследования».

Выбран метод нанесения биологического компонента на электроды биотопливных элементов. Электроды на основе поли(3,4-этилендиоксифен) полистирол сульфоната, высокопористые электропроводящие хитозановые губки с техническим углеродом и нетканые волокнистые материалы на основе полиакрилонитрила показали способность к долговременной иммобилизации биоматериала. Получены гибридные электропроводящие материалы в результате полимеризации анилина на волокнистой матрице полиамида-6. Показана перспективность предложенного подхода для достижения хорошей электропроводности при сохранении структурных и морфологических свойств нетканого материала при использовании для биосенсорных компонентов робототехнических устройств.

Разработаны подходы для синтеза сополимеров на основе лактида и этиленгликоля с регулируемыми молекулярными характеристиками; с использованием данных подходов получены упорядоченные ориентированные волокнистые и композиционные губчато-нетканые материалы. Методами электроспиннинга и лиофилизации получены новые материалы на основе природных и

синтетических полимеров: сополимера полиамида, диацетата целлюлозы, хитозана и коллагена, обладающие повышенными прочностными характеристиками, что открывает возможности для использования в регенеративной медицине.

Установлено, что основными параметрами, определяющими архитектуру губчато-нетканого матрикса, являются: скорость заморозки образцов, концентрация раствора и молекулярная масса и надмолекулярная структура наполнителя. Молекулярная масса оказывает влияние на микрофазное расслоение полимера при охлаждении раствора и определяет морфологию губчатого компонента в композиционном скаффолде. Скорость заморозки определяет специфику взаимодействия наполнителя с волокнами матрикса и пространственное расположение компонентов материала. Введение хитозанового или коллагенового наполнителя в структуру волоконного матрикса позволяет существенно увеличить удельную площадь поверхности материала и получить морфологию губчато-нетканого покрытия, сходную с нативными децеллюляризованными биологическими тканями.

Предложены методы получения биосовместимых высокотехнологичных скаффолдов, позволяющие широко варьировать морфологию и, как следствие, функциональность клеточного ткане-инженерного каркаса. Разработаны подходы к созданию каркасов на основе синтетических и природных полимеров типа «ядро-оболочка» для замещения мягких тканей с возможностью регулирования физико-химических и механических свойств и включения в матриксы различных биоактивных компонентов.

Разработана методика получения электропроводящих материалов с контролируемыми размерами наночастиц благородных металлов, в частности, на основе хитозана с наночастицами серебра. Показано, что хитозан может являться не только восстановителем, но и стабилизатором наночастиц серебра в водных растворах.

Методом полимеризации из газовой фазы синтезирована серия тонкопленочных нанокомпозитов на основе поли-*p*-ксилилена (ППК), содержащих наночастицы серебра (Ag) и триоксида молибдена (MoO₃), в широком диапазоне концентраций наполнителя. Проведенные структурные исследования показали, что преобладающей кристаллической модификацией ППК в исследуемых пленках является α -фаза, тогда как в толстых пленках ППК, осажденных при температуре жидкого азота, преобладает β -фаза. Основываясь на данных дифракции рентгеновских лучей в скользящей геометрии (GIXD), можно сделать вывод, что термическая обработка может использоваться для управления кристаллической структурой полимерной матрицы, а также размером и пространственным распределением наночастиц серебра.

Анализ тонкой структуры спектров поглощения рентгеновских лучей (XANES) образцов ППК-MoO₃ показал, что координационный полиэдр молибдена во всех образцах имеет одну и ту же форму, и электронная структура химических связей с ближайшим координационным окружением Mo одинакова. Однако, исходя из результатов моделирования, можно заключить, что происходит разупорядочение дальней структуры образца и рост доли поверхностных атомов Mo, т.е. переход Mo в наноразмерную или аморфную фазу.

Исследование мемристивных характеристик сэндвичевых структур Cu/ППК-Mo/ITO показало, что введение наночастиц MoO₃ в матрицу ППК приводит к улучшению большинства ключевых мемристивных характеристик: резистивное переключение происходит при меньших значениях приложенного напряжения, уменьшается разброс характеристик, увеличивается количество циклов переключения при сопоставимом времени сохранения резистивных состояний. Улучшение характеристик мемристоров может быть связано с наличием наночастиц в слое ППК, формирующих перколяционные цепочки, которые облегчают образование проводящих каналов.

Для создания многоуровневых мемристивных устройств металл/нанокompозит/металл (М/НК/LiNbO₃/М) был использован метод ионно-лучевого распыления. Оказалось, что полученные слоистые структуры сохраняют без деградации мемристивные свойства, в частности, окно резистивного переключения (ROFF/RON ~ 20). Показана также возможность резкого перехода от одно- к многофиламентному режиму РП структур, который зависит от содержания металлической фазы в слое нанокompозита (НК) и его толщины. Разработанный метод ионно-лучевого распыления-осаждения позволяет синтезировать высокоомные пленки аморфного LiNbO₃, способные формировать довольно резкую гетерограницу с НК (CoFeB)_x(LiNbO₃)_{100-x} с напряжениями резистивного переключения. Изготовлены и протестированы лабораторные образцы магнитной гранулированной мемристивной структуры и неорганических мемристивных структур.

Разработан дизайн и осуществлен синтез 3 генов, кодирующих укороченные формы рекомбинантных спидроинов, различающиеся по молекулярной массе, размеру и содержанию поли-Ала блоков. На базе спидроинов rS1/9, содержащего 18 повторов последовательности GFGGL, и rS2/12-RGDS с тетрапептидом RGDS, разработан дизайн одно- и двухкомпонентных матриц для инкапсуляции индуцированных плюрипотентных стволовых клеток и нейрональных предшественников человека. В качестве однокомпонентных матриц изготовлены гидрогели разного состава и разной прочности, а также и нетканые материалы с применением методов электроспиннинга и личинга. В качестве двухкомпонентных матриц испытаны комбинированные варианты, представляющие собой полученные методом личинга губчатые матрицы на основе спидроинов, густая сеть сообщающихся пор (размер 100 – 300 мкм) которых заполнена гидрогелем.

Для получения полноразмерных рекомбинантных спидроинов наработана биомасса *Sacharomices cerevisiae* – продуцентов полноразмерных рекомбинантных спидроинов. Из этой биомассы получены экспериментальные образцы высокоочищенных лиофильно высушенных полноразмерных рекомбинантных спидроинов PC rS1/9 и PC rS2/12-RGDS и проведено исследование их технических и физико-химических свойств. Показано, что полученные спидроины удовлетворяют требованиям к исходному материалу, предназначенному для формирования 3D клеточных конструкций и культивирования нейральных клеток.

Из полноразмерных рекомбинантных спидроинов получены экспериментальные образцы гидрогелей и нетканых материалов и исследованы их физико-химические свойства. Установлено, что все образцы устойчивы к гидролитической деструкции, действию слабых кислот и щелочей. Образцы гидрогелей имеют пористое строение: присутствуют как микропоры диаметром до 6 мкм, так и нанопоры диаметром 220 нм. Прочностные свойства коррелируют с концентрацией белка. Образцы нетканых материалов обладают высокой прочностью, имеют волокнистую структуру со средним диаметром волокон - 300 – 320 нм и высокую пористость (50 до 60%). Волокнистая архитектура образцов (трехмерная структура) приближает их к природным биологическим тканям. Таким образом, полученные материалы перспективны для применения в тканевой инженерии.

Разработаны методы первичной обработки и комплексирования данных в системах интеллектуального управления антропоморфным 6-и координатным манипулятором с развитой сенсорной системой (камеры, дальнометры, пьезодатчики и др.). Предложен метод фильтрации и выделения формы монотонной функции, в условиях сильной девиации данных, применяемой для задачи построения весовой функции, применяемой для создания искусственного нейрона. Предложенный подход позволяет выполнить обработку данных в условиях отсутствия информации о протекающих процессах, при этом дает возможность сформировать аппроксимирующую кривую для всех видов тестовых функций. Предложен метод слияния разнородных данных (представленных, как одномерными сигналами, так и изображениями), который основан на

переходе в двумерное пространство данных и обработку сверхточными нейронными сетями с последующим возвратом во временную область.

Проведена информационная проработка тематики MOM-материалов. Отработаны режимы плазменно-электролитной обработки (ПЭО) для формирования барьерного оксидного слоя на поверхности подложек из гафния, тантала и нитрида алюминия.

Разработана согласованная термо-кинетическая модель лазерно-индуцированных фазовых переходов в тонких пленках фазоизменяемых материалов, учитывающая рост и нуклеацию кристаллитов, а также изменение вязкости материала. Результаты численного моделирования выявили, что модель демонстрирует верный отклик на внешнее воздействие и в отличие от известных из литературы моделей работает как для кристаллизации, так и для реаморфизации без адаптации параметров.

Разработаны способы химической модификации гиалуроновой кислоты метакрилатными производными. Разработаны исходные фотополимеризуемые композиции регулируемой вязкости на основе метакрирированной гиалуроновой кислоты и флавиномононуклеотида в качестве эндогенного фотоинициатора для трехмерной печати биосовместимых скаффолдов различной архитектуры.

Оценена цитотоксичность фотополимеризуемых композиций и фотополимеризуемых композиций, содержащих GDNF, NGF, VEGF и BDNF, и частицы фосфата кальция различной дисперсности и концентрации в качестве остеогенного фактора.

На основании широкого анализа литературных данных предложен способ создания высокопористых материалов, перспективных при разработке новых объемных имплантатов в торакальной хирургии. Выбор полилактида и поликапролактона, а также коллагена и хитозана, как наиболее перспективных материалов для разработки плевральных имплантатов по типу «ядро-оболочка» обусловлен синергизмом положительных качеств синтетических и природных полимеров.

Показано, что требования по физико-механическим и биологическим свойствам, которые предъявляются к плевральным имплантатам, совпадают с общепринятыми требованиями к матрицам для ткане-инженерных конструкций. Однако, учитывая анатомо-функциональные особенности области имплантации, появляются дополнительные требования – гидрофобность основного объёма имплантата, достаточная упругость, которая будет противодействовать силе сжатия при акте вдоха, а также эластичность для предупреждения развития пролежней прилежащих к имплантату тканей.

Разработана экспериментальная модель интра- и экстраплевральной имплантации для изучения требований к свойствам плеврального имплантата в условиях эксперимента. Эта модель позволила адаптировать размеры и формы лабораторных образцов к условиям экспериментальных моделей. Разработанные экспериментальные модели имплантации позволяют воссоздать на мелких животных все границы раздела с окружающими местными тканями, в которых может находиться имплантат при интра- или экстраплевральной имплантации в условиях клинического применения.

Осуществлено наращивание клеток нейробластомы человека (линия SH-SY5Y) и индуцированных плюрипотентных клеток (ИПСК) человека, которые были дифференцированы в предшественники нейральных клеток и охарактеризованы с использованием широкого круга молекулярно-генетических методов. Проведены криоконсервация и закладка на длительное хранение в парах жидкого азота полученных при исполнении проекта клеток-предшественников нейральных клеток. Полученные нейральные предшественники будут использованы для конструирования дву- и

трехмерных структур с помощью различных матриц и подложек для изучения различных биологических процессов в нейтральных клетках.

Разработанные материалы и подходы могут быть использованы для решения задач создания новых систем, устройств и комплексов, построенных на применении новых поколений гибридных материалов с биологическим компонентом, сильного искусственного интеллекта и автоматизации принятия решений.

Возможными областями применения полученных при выполнении первого этапа проекта результатов также являются:

- медицина (при анализе трофических процессов, воспалительных процессов, функционирования нервных клеток, разработке биосовместимых импрегнированных клеточными популяциями материалов для протезирования);
- энергетика (при разработке новых типов топливных элементов);
- материаловедение (при создании новых гибридных материалов);
- химия и металлургия (при анализе протекания химических реакций и процессов плавки металлов);
- микроэлектроника (при анализе работы электронных плат и микросхем);
- автоматизированном управлении (при построении систем управления БПЛА, автомобилей и др).

3. Создание конкурентоспособного на мировом уровне научного коллектива

К выполнению работ по проекту привлечено более 140 научных сотрудников и 18 человек профессорско-преподавательского состава из шести научных и образовательных организаций. Среди работающих по проекту ученые с мировым именем, 2 академика и 3 члена-корреспондента РАН, 22 доктора и 64 кандидата наук. Это позволило сформировать конкурентоспособный на мировом уровне научный коллектив, обладающий широким кругом взаимодополняющих компетенций в различных областях физики, химии, молекулярной биологии, техники и медицины. Уникальное сочетание компетенций коллектива исполнителей позволяет рассчитывать на получение прорывных научных результатов на стыках наук.

К выполнению работ активно привлекаются перспективные молодые специалисты. В настоящее время в проекте участвуют 88 молодых ученых в возрасте до 39 лет (>50% участников проекта). Трое из них являются руководителями работ по отдельным мероприятиям проекта, связанным с разработкой систем интеллектуального управления антропоморфными манипуляторами, получением и очисткой рекомбинантных спидроинов, анализом цитотоксичности разрабатываемых биоразлагаемых соединений. К участию в проекте привлекаются аспиранты, а также студенты ведущих российских вузов: МГУ им. М.В. Ломоносова, МФТИ, Российского технологического университета, Московского института электронной техники, Московского государственного университета пищевых производств.

4. Подготовка кадров и развитие кадрового потенциала

Разработана рабочая учебная программа образовательного курса «Методы синхротронных и нейтронных исследований гибридных и полимерных материалов», готовая к внедрению в ООП бакалавриата и магистратуры по направлениям подготовки 03.03.01 и 03.04.01 «Прикладная математика и физика». Курс направлен на формирование цельных систематических знаний студента о частично упорядоченных системах и их роли в современном материаловедении,

включая медицинские, биофизические приложения, органическую электронику и фотонику, а также о применении синхротронного излучения в фундаментальных и прикладных исследованиях. Трудоемкость дисциплины – 2 зачетных единицы, общее количество академических часов – 90, из них 45 – академических часов самостоятельной работы и 45 академических часов аудиторных занятий, в том числе 30 академических часа – лекции, 15 академических часов – семинарские занятия.