

УДК 57.621.383

А.В. Достовалов, В.С. Терентьев, В.П. Бессмельцев

Институт автоматизации и электрометрии СО РАН, Новосибирск, Россия

**ИЗГОТОВЛЕНИЕ НАНООТВЕРСТИЙ
В ТОНКОЙ АЛЮМИНИЕВОЙ ПЛЕНКЕ
МЕТОДОМ ФЕМТОСЕКУНДНОЙ ЛАЗЕРНОЙ АБЛЯЦИИ
ДЛЯ ОДНОМОЛЕКУЛЯРНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ**

Представлены экспериментальные результаты по созданию нанодоверстий методом фемтосекундной (270 фс) ультрафиолетовой лазерной абляции в пленке алюминия толщиной 100 нм, осажденной на стеклянную поверхность методом вакуумного магнетронного напыления. Исследованы зависимости диаметра нанодоверстий от энергии импульсов в диапазоне от 10 до 25 нДж и от числа фемтосекундных лазерных импульсов в диапазоне от 5 до 50 импульсов. Показано, что минимальный диаметр нанодоверстий достигается при энергии импульсов 10 нДж и количестве импульсов 50. Промонстрированы нанодоверстия диаметром <150 нм, которые представляют собой волноводы нулевой моды. Экспериментальная проверка работоспособности нанодоверстий производилась в белом свете сразу после их изготовления, а также непосредственно в схеме многоканального ДНК-секвенатора типа Pacific Biosciences при регистрации испущенного из них флуоресцентного сигнала малой интенсивности ($\approx 10^3$ фотонов/с⁻¹). Результаты работы подтверждают потенциальную применимость изготовленных нанодоверстий в одномолекулярной флуоресцентной спектроскопии.

Ключевые слова: фемтосекундная лазерная абляция, тонкие металлические пленки, ДНК-секвенатор, волновод нулевой моды, одномолекулярная спектроскопия, изготовление нанодоверстий.

A.V. Dostovalov, V.S. Terent'ev, V.P. Bessmel'tsev

Institute of Automation and Electrometry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

**FABRICATION OF NANO-HOLES IN THIN ALUMINUM FILM
BY FEMTOSECOND LASER ABLATION
FOR SINGLE-MOLECULAR FLUORESCENCE SPECTROSCOPY**

Experimental results of nano-holes fabrication by femtosecond (270 fs) UV laser ablation in an aluminum film with thickness of 100 nm deposited on a glass surface by method of vacuum magnetron sputtering are presented. The dependences of the nano-hole diameter on the pulse energy in the range from 10 to 25 nJ and on the number of femtosecond laser pulses in the range from 5 to 50 pulses are investigated. It was shown that the minimum diameter of nano-holes is achieved at a pulse energy of 10 nJ and a pulse number of 50. Nano-holes with a diameter of <150 nm, which are zero-mode

waveguides, are demonstrated. An experimental test of the performance of nano-holes was carried out in white light immediately after their fabrication, as well as directly in the scheme of a multichannel DNA sequencer of Pacific Biosciences type, when a low-intensity fluorescent signal emitted from them was detected (≈ 103 photons/s⁻¹). The results of the work confirm the potential applicability of the fabricated nano-holes for the purpose of single-molecular fluorescence spectroscopy.

Keywords: femtosecond laser ablation, thin metal films, DNA sequencer, zero-mode waveguide.

Введение

Методы одномолекулярной спектроскопии [1] и секвенирования ДНК [2, 3] основаны на использовании волноводов нулевой моды (ВНМ, zero-mode waveguide), представляющих собой отверстия в слое диаметром порядка нанометров (наноотверстия). Основным принцип данных методов состоит в выборе из всего объема биологического раствора очень маленького объема (порядка зептолитра, или 10^{-21} л) для того, чтобы регистрировать флуоресцентный сигнал от малого числа или даже от одной молекулы, которые принимают участие в биореакции в этом объеме. В структуре ВНМ амплитуда светового поля быстро уменьшается (так называемое эванесцентное затухание) по мере распространения по наноотверстию. При этом в небольшой области у входа наноотверстия остается слой глубиной около 20 нм, где интенсивность поля значительна. Это дает возможность даже при высоких концентрациях флуоресцентных источников в растворе увеличивать соотношение полезного флуоресцентного сигнала от молекулярной реакции, которая происходит внутри ВНМ, к фоновому шуму, возникающему вне ВНМ. Таким образом, роль ВНМ-структуры – отсеять шумовой сигнал из внешней области, соответственно, пленка должна быть непрозрачной. В то же время она должна быть физически тонкой (100–200 нм), чтобы минимизировать число молекул в ВНМ-объеме. Кроме этого, структура должна обладать химической пассивностью. Для этих целей подходят металлические пленки (алюминиевые или золотые), осажденные на стеклянную подложку [4, 5]. Эти металлы обладают сравнительно низким поглощением и высоким отражением света. Поглощение света в пленке является негативным эффектом, который может привести при высоких уровнях световой мощности к сильному разогреву металла и тем самым повлиять на биореакцию. Это особенно важно при сверхмалых уровнях сигнала (в несколько фотонов), требующих высокой интенсивности возбуждающего света.

Для примера на рис. 1 схематично показано, как нанодоверстие диаметром (d) 100 нм в металлическом слое толщиной (h) 100 нм формирует эванесцентное световое поле с характерной глубиной затухания (h_e) 20 нм и позволяет регистрировать единичное событие биореакции в процессе репликации молекулы ДНК [3]. Флуоресцентные метки нуклеотидов поглощают возбуждающий свет и излучают флуоресцентный сигнал только в том случае, когда они находятся на дне нанодоверстия (на стеклянной подложке). Единичный акт излучения длится порядка 10^{-2} с, после чего нуклеотид выходит из данной области, а на его место приходит новый и вступает в реакцию. Таким образом, в течение некоторого времени вся последовательность нуклеотидов молекулы ДНК может быть считана. При параллельном считывании из массива таких нанодоверстий можно кратно уменьшить полное время секвенирования до нескольких часов, даже если ДНК состоит из миллиардов оснований.

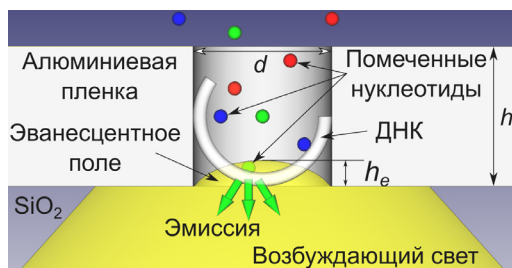


Рис. 1. Схема метода волновода нулевой моды для регистрации одномолекулярных событий

Обычные методы изготовления ВНМ используют электронно- или ионно-лучевую литографию [6]. При этом минимальный диаметр отверстия определяется диаметром электронного пучка, т.е. несколькими нанометрами. Влияние формы нанодоверстия на флуоресцентный отклик исследовано в работах [7, 8], что дает больше возможностей для мониторинга молекулы в ВНМ. Однако один из недостатков литографии состоит в высокой стоимости формируемых ВНМ-структур.

В данной статье исследуется возможность изготовления ВНМ более дешевым и быстрым методом, основанным на фемтосекундной лазерной абляции. Структуры ВНМ формируются в алюминийной пленке толщиной 100 нм с целью изготовления отверстий диаметром менее 200 нм. При этом относительно быстрый процесс изготовления

($\approx 10^2 \text{ с}^{-1}$) одного наноотверстия может быть ускорен (до $\approx 10^4 \text{ с}^{-1}$) при использовании методов мультиплексирования «пищущего» луча с помощью оптического дифракционного элемента [9].

1. Метод фемтосекундной лазерной абляции

Микрообработка материалов импульсным лазерным излучением (в частности, лазерная абляция) нашла широкое применение во многих областях благодаря своим ключевым преимуществам: бесконтактному типу воздействия, высокой скорости микрообработки, широкому выбору обрабатываемых материалов. Однако задача создания субмикронных модификаций методом лазерной абляции по сей день является актуальной. Особенно это важно для материалов с высоким коэффициентом температуропроводности, в частности металлов, поскольку зона теплового воздействия $l = \sqrt{\tau k}$ определяется длительностью импульса τ и коэффициентом температуропроводности k . Для достижения минимальной зоны теплового воздействия и, следовательно, минимального размера области модификации необходимо использовать импульсы сверхкороткой длительности, а именно фемтосекундного диапазона ($1 \text{ фс} = 10^{-15} \text{ с}$). С другой стороны, размер области модификации напрямую зависит от фокусного расстояния линзы f и длины волны излучения лазера λ : $2w_0 = 4\lambda f / \pi D$, где w_0 – радиус гауссова пучка (по уровню e^{-2}), D – диаметр гауссова пучка на входе линзы. По указанным выше причинам использование ультрафиолетового лазерного излучения с фемтосекундной длительностью импульсов и короткофокусного объектива является наиболее перспективным способом создания субмикронных модификаций методом лазерной абляции. Кроме того, как было показано в работе [10], поскольку процесс модификации имеет пороговый характер, возможно создание модификаций с размерами меньше дифракционного предела. Это непосредственно следует из формулы зависимости диаметра модификации d от значения пикового флюенса гауссова пучка F_0 по отношению к пороговому значению F_{th} :

$$d^2 = 2w_0^2 \ln \left(\frac{F_0}{F_{th}} \right),$$

$$F_0 = \frac{2E_p}{\pi w_0^2},$$

где E_p – энергия импульса.

Из вышеуказанных формул следует, что с помощью УФ-излучения возможно создание модификаций размером <150 нм. Из литературы известны попытки создания наномодификаций на поверхности металлов, но в основном они выполнялись на основной (≈ 800 нм) и второй (≈ 400 нм) гармониках излучения титан-сапфирового лазера [11], поэтому характерные размеры модификаций были существенно выше 150 нм. В работе [12] использовалось УФ-излучение, но для модификации пленок с гораздо меньшей толщиной (20 нм), когда поглощение и пропускание пленки становятся существенными, поэтому такая структура не может применяться в одномолекулярной спектроскопии. Исследовалось также воздействие УФ-излучения короткой длительности импульса на поверхность металлических образцов [13], где было показано двухкратное повышение производительности в случае УФ-излучения по сравнению с ИК-излучением, однако в данном случае эксперименты проводились при слабой фокусировке с $f = 50$ мм, поэтому создание модификаций с малыми размерами не было продемонстрировано.

2. Экспериментальная установка

Экспериментальная установка для формирования отверстий (кратеров) в металлических пленках представлена на рис. 2. Она является модификацией экспериментальной установки по фемтосекундной лазерной модификации и наноструктурированию, представленной в работе [14]. Излучение лазера Pharos-6W с длиной волны 1026 нм после блока учетверения частоты, состоящего из нелинейных кристаллов, было преобразовано в излучение с длиной волны 256 нм. Длительность импульсов составляла 270 фс, частота следования импульсов – 1 кГц, диаметр пучка до входа в фокусирующий объектив – 2,2 мм. С помощью поворотных зеркал излучение заводилось в зеркальный объектив Edmund с числовой апертурой 0.65, который фокусирует излучение на пленку алюминия, расположенную на 3D-позиционере ABL1000 (Aerotech). Настройка положения фокусировки осуществлялась с помощью системы визуализации, состоящей из подсветки и камеры.

Энергия импульсов изменялась от 10 до 25 нДж, количество импульсов, приходящихся на один кратер, варьировалось от 5 до 50.

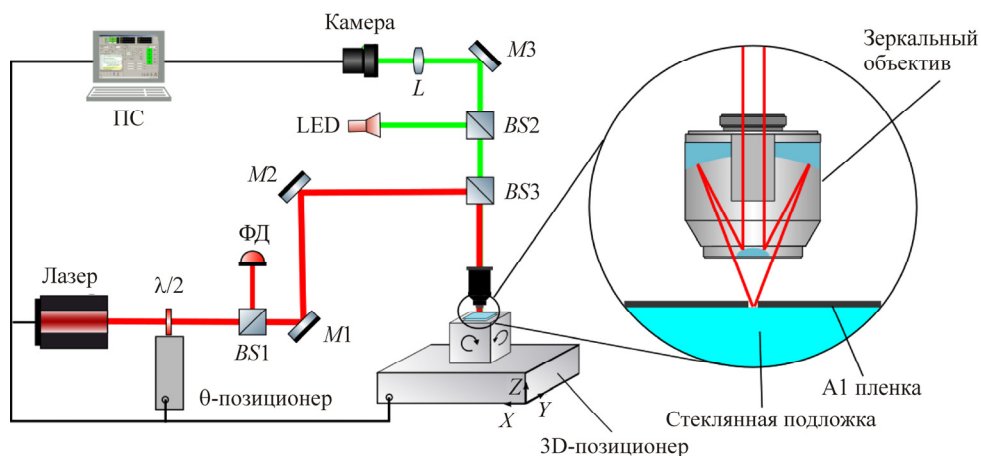


Рис. 2. Схема экспериментальной установки: BS1, 2, 3 – делители пучка; L – объективная линза; M1, 2, 3 – диэлектрические зеркала; LED – светодиод; PC – персональный компьютер; ФД – фотодетектор

Для изготовления образца на кварцевую подложку наносилась пленка алюминия методом вакуумного магнетронного напыления. Перед напылением подложка была нагрета до $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение одного часа. В процессе напыления температура подложки могла подниматься до $160\text{ }^{\circ}\text{C}$. Давление буферного газа (аргона) в вакуумной камере составляло $2 \cdot 10^{-3}$ мм рт. ст. Источник питания магнетронов был стабилизирован по мощности (напряжение разряда – 335 В, ток – 0,5 А). Для определения скорости напыления были сделаны тестовые напыления. Толщина пленки оценивалась по анализу коэффициента пропускания с использованием данных из работы [15]. В процессе напыления подложка сканировалась относительно магнетрона для уменьшения неоднородности толщины наносимой пленки.

3. Результаты

На рис. 3 показано изображение, полученное с помощью оптического микроскопа в проходящем свете, для кратеров, созданных при различных параметрах (энергия импульса, количество импульсов), которые указаны сверху и слева от изображения соответствующих кратеров. Каждая серия экспериментов, выполненных при одинаковых экс-

периментальных условиях, состоит из 10 кратеров (см. рис. 3, вставка). Как видно, при уменьшении энергии импульсов яркость проходящего света заметно уменьшается и при количестве импульсов 25 и энергии импульсов 10 нДж совсем исчезает, что свидетельствует об отсутствии кратера при данных параметрах.

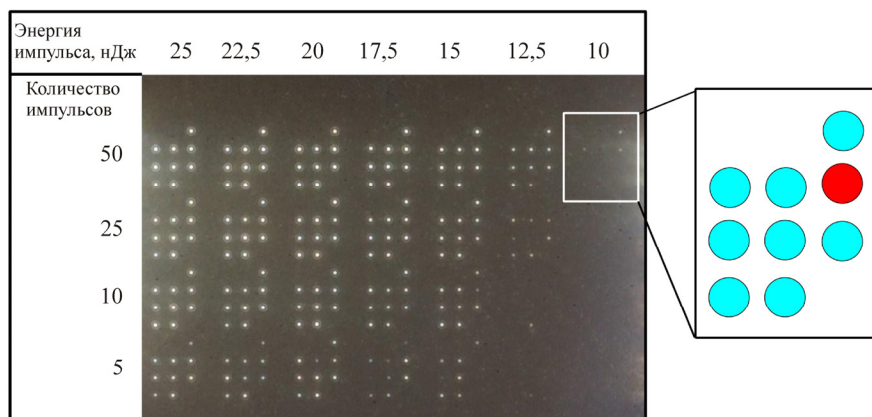
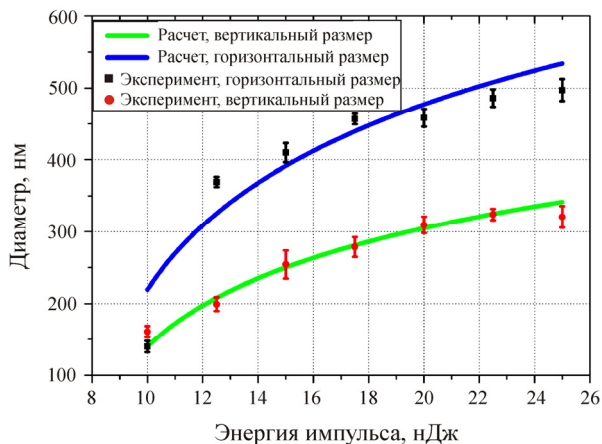


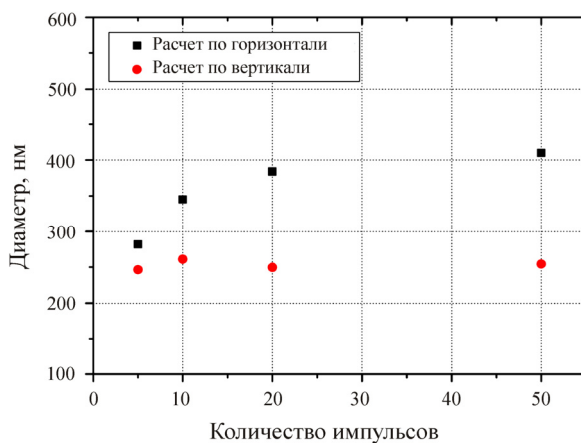
Рис. 3. Изображение с оптического микроскопа кратеров, созданных при различной энергии импульсов и количестве импульсов ультрафиолетового фемтосекундного лазера. На вставке изображено местоположение кратера с минимальными размерами

Подобное поведение можно наблюдать также и при уменьшении количества импульсов при фиксированной энергии. Кратеры, созданные при количестве импульсов 50 и энергии импульсов из диапазона 10–25 нДж, были исследованы на СЭМ-микроскопе с целью определения диаметра кратера в зависимости от величины энергии падающего излучения. Результаты измерения представлены на рис. 4, а, на котором видно, что кратер имеет эллиптическую форму. Эллиптичность кратера, по всей видимости, связана с эллиптичностью пучка в плоскости фокусировки, вызванной разницей в коэффициенте отражения от поверхности металлических зеркал объектива в случае *s*- и *p*-поляризации, а также некоторыми неточностями в оптической схеме. На рис. 4, помимо экспериментальных результатов, представлены значения диаметров, рассчитанные по вышеуказанным формулам при величине размера пучка w_0 , равного 230 и 360 нм соответственно, которые хорошо описывают экспериментальные результаты. Кроме того, была измерена зависимость размеров кратера от количества падающих импульсов при фиксированной энергии импульсов 15 нДж, которая представлена

на рис. 4, б. В данном случае размер по вертикали практически не изменяется от количества импульсов, тогда как по горизонтали значительно растет с увеличением числа импульсов.



а



б

Рис. 4. Зависимость диаметра кратера: *а* – от энергии импульса при 50 импульсах (эксперимент и расчет); *б* – от количества импульсов при энергии импульса 15 нДж

Кратер с минимальными размерами был получен в ходе экспериментов при энергии импульсов 10 нДж и количестве импульсов 50. На рис. 5 представлены изображения кратеров, полученные с помощью СЭМ, при двух типах наномодификации поверхности: с помощью фотолитографии (рис. 5, *а*) и с помощью фемтосекундного УФ-лазера (рис. 5, *б*). На врезках к рис. 5 показаны изображения с оптического

микроскопа в проходящем свете, на которых видно наличие сквозного отверстия в пленке алюминия в обоих случаях. Измеренные размеры кратера в первом случае – 150×170 нм, во втором – 160×140 нм. Глубина кратера оценивалась по интенсивности белого света, проходящего через отверстие. Как видно на рис. 5, площадь входных отверстий примерно одинакова, интенсивность проходящего света сравнима, однако для абляционного отверстия она немного меньше. Вероятнее всего, это связано с тем, что форма кратера абляционного отверстия имеет либо нецилиндрическую форму, сужаясь в сторону подложки, либо на дне кратера присутствует тонкий остаточный слой металла.

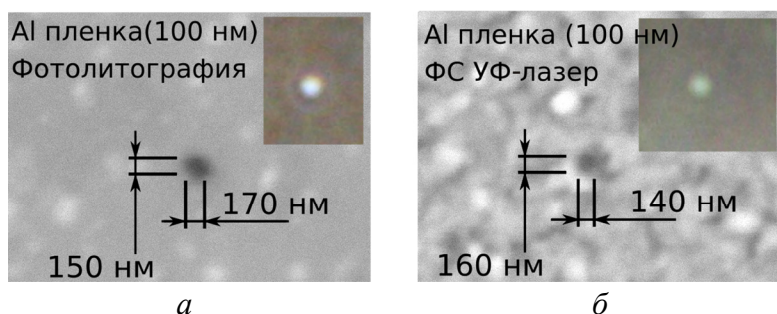


Рис. 5. Сравнение результатов создания отверстия на пленке алюминия: методом фотолитографии (а) и с помощью фемтосекундной ультрафиолетовой лазерной абляции (б). На вставках показаны изображения с оптического микроскопа в проходящем свете

Как следует из экспериментальных результатов (см. рис. 4), форма кратера зависит от выбора величины энергии импульса. Более округлая форма получается, если периферийные области астигматичного пучка отсекаются снижением их интенсивности ниже порогового значения, чтобы в процессе абляции участвовала только центральная часть пучка. Данная проблема может быть решена за счет пространственной фильтрации лазерного пучка [16]. Повторяемость формирования кратеров может быть увеличена за счет использования более однородной пленки алюминия или использования бесселева пучка, который имеет конфокальный параметр гораздо больший, чем гауссов пучок [17].

Поскольку глубина кратера зависит от количества импульсов (см. рис. 3, 10 нДж), можно подобрать оптимальное количество импульсов экспериментально, чтобы добиться достаточной яркости проходящего света для задачи одномолекулярной спектроскопии.

Для демонстрации работоспособности получившихся отверстий был проведен эксперимент по регистрации флуоресцентного сигнала в соответствии с рис. 6. Измерения были выполнены в оптической многоканальной конфокальной схеме [18], но без призмной сборки между линзами L_1, L_2 в регистрирующем канале. В схеме формировалась матрица лучей 25×25 с помощью специального дифракционно-оптического элемента (ДОЭ), который мультиплицировал исходный луч в матрицу лучей, которые фокусировались в область наноотверстий объективом Olympus UPLAPO 60X ($NA = 0,9$ (O)) таким образом, что расстояние между крайними лучами составляло 120 мкм, а характерный диаметр каждого луча – около 0,8 мкм. Расстояние между лучами на объекте было 5 мкм (см. подробнее в работе [19]).

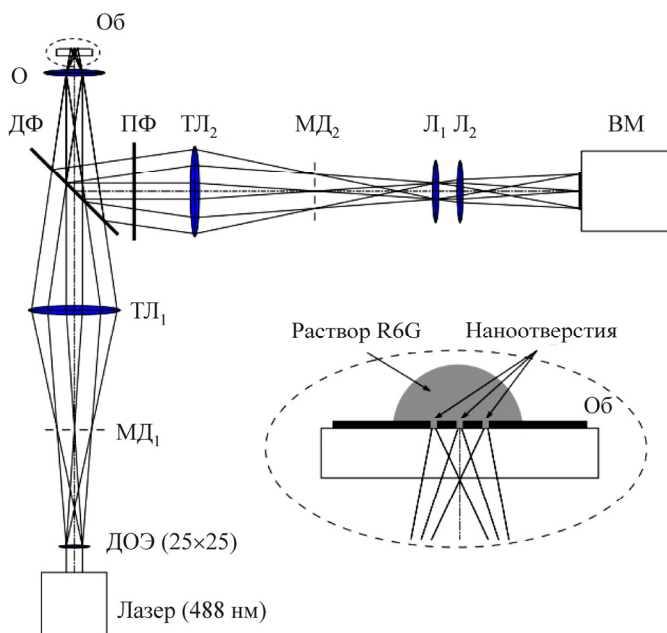


Рис. 6. Схема экспериментальной установки для детектирования флуоресцентного сигнала: ДОЭ – дифракционный оптический элемент; МД_{1, 2} – матрица диафрагм; ТЛ_{1, 2} – 1x-тубусная линза; ДФ – 45°-дихроичный фильтр; ПФ – 90°-полосовой фильтр; Л_{1, 2} – линзы; ВМ – видеоматрица; O – 60x-объектив; Об – объект

Матрица лучей совмещалась с матрицей наноотверстий с помощью перемещения образца трехкоординатным столиком, имеющим минимальный шаг 0,32 мкм по латеральным координатам XY и 0,16 мкм по продольной координате Z. Степень совмещения контро-

лировалась по интенсивности флуоресценции из выбранного нанootверстия. Мощность лазерного луча, падающего на одно нанootверстие, составляет около $5/625$ мкВт = 8 нВт. Малая мощность лазера была выбрана специально, чтобы паразитный лазерный свет не оказывал существенного влияния на флуоресцентный сигнал. Длина волны лазера – 488 нм. Отраженный от алюминиевой пленки лазерный свет проходил через два фильтра (Semrock 45° Di01-T488/532/638 и 90° NF03-488) с общим коэффициентом подавления $7 \cdot 10^{-8}$. Для измерений был использован раствор флуорофора R6G в воде 1,4 мкг/25 мкл, капля которого помещалась на образце со стороны металла (см. вставку на рис. 6). Если предположить равномерное распределение количества молекул в объеме, то в объеме нанootверстия ($140 \times 160 \times 100$ нм³) в среднем постоянно присутствовало около 160 молекул флуорофора (молярная масса принята равной 479 г/моль). Если глубина детектируемого объема на дне отверстия составляет $h_e = 30$ нм, то флуоресцировали около $N_f = 37$ молекул флуорофора. Телесный угол объектива $\Omega = 2,54$ стерadian, пропускание оптической системы $T_{os} = 0,6$. Если сечение поглощения молекулы флуорофора $\sigma_f = 10^{-16}$ см², то вероятность поглощения A_h одной молекулой с учетом площади отверстия $S_h = 1,8 \cdot 10^{-10}$ см², $A_h = \sigma_f S_h = 5,66 \cdot 10^{-7}$. Примем квантовый выход флуорофора $\eta_f = 0,9$, тогда количество испусканий флуоресцентного сигнала в секунду из нанootверстия в телесный угол 4π стерadian: $v_{ex} = A_h N_f v_{ph} \eta_f = 1,46 \cdot 10^4$ фотон/с, где v_{ph} – количество лазерных фотонов в секунду, попадающих в нанootверстие, $v_{ph} = 6,9 \cdot 10^8$ фотон/с. Итоговое количество фотонов в секунду, достигших фотоматрицы, имеющей квантовую эффективность $\eta_{pm} = 0,9$, будет равно $v_{pm} = v_{ex} \eta_{pm} \Omega / (4\pi) T_{os} = 1,43 \cdot 10^3$ фотон/с.

Для фиксирования флуоресцентного света использовалась высокочувствительная фотоматрица Hamamatsu ImagEM C9100-13 (см. ВМ на рис. 6) с разрешением 512×512 пикселей (размер пикселя – 16×16 мкм²). Камера работала в режиме EM CCD, время экспозиции – 2 с, цифровое усиление – 1, чувствительность – 162 (что соответствует в среднем чувствительности $s_{pm} = 4$ отсчетов на один фотон). На рис. 7, а показано пропускание белого света через нанootверстия из вставки на рис. 3 в сравнении с флуоресцентным сигналом из исследуемых нанootверстий, который изображен на рис. 7, б. Там же приведен снимок сигнала флуоресценции от одного исследуемого нанootверстия, выделенного

квадратом 7×7 пикселей, в котором максимальное значение отсчетов составляет 6922, минимальное – 3054. В данном квадрате значение каждого пикселя уменьшалось на величину, равную среднему значению фона (3586 отсчетов), измеренного в области, обведенной пунктирным квадратом на рис. 7, б. Среднеквадратическое отклонение шума фона, который имеет распределение Пуассона, равен 414 отсчетам.

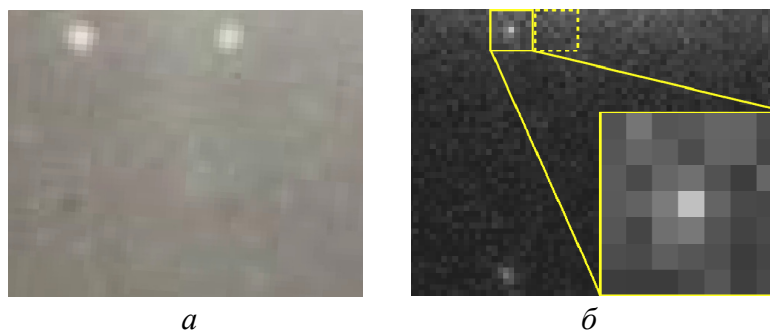


Рис. 7. Белый свет, прошедший через нанотверстия, показанные на рис. 3 (а), флуоресцентный сигнал на фотоматрице из тех же нанотверстий (б); на вставке показан сигнал из одного нанотверстия из квадрата размером 7×7 пикселей

Полученные значения суммировались и делились на чувствительность. Таким образом оценивали число фотонов N_{exp} сигнала, попавших в выделенные пиксели ($N_{exp} = 12767/s_{pm} = 3,17 \cdot 10^3$ фотонов), за время измерения, что по порядку величины совпадает с оценочным количеством зафиксированных фотоматрицей фотонов за время экспозиции матрицы ($N_{calc} = 2,86 \cdot 10^3$ фотонов). При этом с учетом пропускания фильтров и оптической системы в числе сигнальных фотонов N_{exp} могут содержаться остаточные фотоны лазера $N_{las} \leq 10^3$ фотонов, что не оказывает существенного влияния. Совпадение по порядку величин N_{exp} и N_{calc} подтверждает работоспособность изготовленного нанотверстия для целей одномолекулярной флуоресцентной спектроскопии.

Заключение

В данной работе проведено исследование формирования нанотверстий в алюминиевой пленке толщиной 100 нм методом лазерной абляции с использованием фемтосекундных УФ-импульсов. Проанализирована зависимость диаметра кратера от энергии и числа импульсов, демонстрирующая непротиворечивость эксперимента и теории. Были

определены оптимальные энергия и число фемтосекундных импульсов для формирования наноотверстий размером <150 нм. Экспериментальные результаты продемонстрировали возможность быстрого изготовления наноотверстий в алюминиевой пленке для целей одномолекулярной спектроскопии.

Авторы выражают благодарность Российской академии наук за финансовую поддержку, а также С.Л. Микерину и С.К. Голубцову за техническую помощь. В исследовании использовано оборудование ЦКП «Спектроскопия и оптика». Работа выполнена при поддержке программы Президиума РАН.

Список литературы

1. Schuler B. Single-molecule spectroscopy // *Encycl. Biophys.* – Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013.
2. Levene M.J. Zero-mode waveguides for single-molecule analysis at high concentrations // *Science.* – 2003. – № 299. – P. 682–686.
3. Real-time DNA sequencing from single polymerase molecules / J. Eid, A. Fehr, J. Gray, K. Luong, J. Lyle, G. Otto [et al.] // *Science.* – 2009. – № 323. – P. 133–138.
4. Nanoaperture-enhanced fluorescence: towards higher detection rates with plasmonic metals / D. Gerard, J. Wenger, N. Bonod, E. Popov, H. Rigneault, F. Mahdavi [et al.] // *Phys. Rev. B. Condens Matter Mater Phys.* – 2008. – № 77. – P. 1–8.
5. Zhao J., Branagan S.P., Bohn P.W. Single-molecule enzyme dynamics of monomeric sarcosine oxidase in a gold-based zero-mode waveguide // *Appl. Spectrosc.* – 2012. – № 66. – P. 163–169.
6. Improved fabrication of zero-mode waveguides for single-molecule detection / M. Foquet, K.T. Samiee, X. Kong, B.P. Chauduri, P.M. Lundquist, S.W. Turner [et al.] // *J. Appl. Phys.* – 2008. – № 103. – P. 1–9.
7. Single molecule fluorescence in rectangular nano-apertures / J. Wenger, P.-F. Lenne, E. Popov, H. Rigneault, J. Dintinger, T. Ebbesen // *Opt. Express.* – 2005. – № 13. – P. 7035–7044.
8. Pulsed-interleaved excitation FRET measurements on single duplex DNA molecules inside C-shaped nanoapertures / S. Fore, Y. Yuen, L. Hesselink, T. Huser // *Nano Lett.* – 2007. – № 7. – P. 1749–1756.

9. Fabrication of microscale medical devices by two-photon polymerization with multiple foci via a spatial light modulator / S.D. Gittard, A. Nguyen, K. Obata, A. Koroleva, R.J. Narayan, B.N. Chichkov // *Biomed. Opt. Express.* – 2011. – № 2. – P. 3167.

10. Machining of sub-micron holes using a femtosecond laser at 800 nm / P. Pronko, S. Dutta, J. Squier, J. Rudd // *Opt. Commun.* – 1995. – № 114. – P. 106–110.

11. Venkatakrishnan K., Tan B., Sivakumar N.R. Sub-micron ablation of metallic thin film by femtosecond pulse laser // *Opt. Laser Technol.* – 2002. – № 34. – P. 575–578.

12. Doerr D.W., Alexander D.R. Submicron patterning of aluminum films by laser ablation // *Proc. SPIE.* – 1999. – Vol. 3874. – P. 62–67.

13. Spiro A., Lowe M., Pasmanik G. Drilling rate of five metals with picosecond laser pulses at 355, 532, and 1064 nm // *Appl. Phys. A.* – 2012. – № 107. – P. 801–808.

14. High-speed and crack-free direct-writing of microchannels on glass by an IR femtosecond laser / E. Bulushev, V. Bessmeltsev, A. Dostovalov, N. Goloshevsky, A. Wolf // *Opt. Lasers. Eng.* – 2016. – № 79. – P. 39–47.

15. Optical properties of metallic films for vertical-cavity optoelectronic devices / A.D. Rakic, A.B. Djurusic, J.M. Elazar, M.L. Majewski // *Appl. Opt.* – 1998. – № 37. – P. 5271–5283.

16. Femtosecond pulsed laser ablation with spatial filtering / K. Venkatakrishnan, B. Tan, L.H.K. Koh, B.K.A. Ngoi // *Opt. Lasers Eng.* – 2002. – № 38. – P. 425–432.

17. Fabrication of nanometer-size structures in metal thin films using femtosecond laser Bessel beams / B. Yalizay, T. Ersoy, B. Soyulu, S. Akturk // *Appl. Phys. Lett.* – 2012. – № 100. – P. 82–85.

18. Parallel confocal detection of single molecules in real time / P.M. Lundquist, C.F. Zhong, P. Zhao, A.B. Tomaney, P.S. Peluso, J. Dixon, B. Bettman, Y. Lacroix, D.P. Kwo, E. McCullough, M. Maxham, K. Hester, P. McNitt, D.M. Grey, C. Henriquez, M. Foquet, S.W. Turner, D. Zaccarin // *Opt. Lett.* – 2008. – № 33. – P. 1026–1028.

19. О создании платформы для исследования нуклеиновых кислот (ДНК-секвенатора) / В.П. Бессмельцев, В.С. Терентьев, В.В. Вилейко, С.А. Бабин, А.М. Шалагин, А.В. Латышев, Д.А. Насимов, Л.И. Федина, Д.В. Пышный, П.Е. Воробьев, В.В. Анненков, Е.Н. Дани-

ловцева, С.Н. Зелинский, О.Н. Верхозина, М.А. Грачев, Ю.П. Галач-
янц // Прикладная фотоника. – 2016. – Т. 3, № 4. – С. 388–412.

References

1. Schuler B. Single-Molecule Spectroscopy. In: Roberts GCK, edi-
tor. *Encycl. Biophys.*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013.
2. Levene MJ. Zero-Mode Waveguides for Single-Molecule Analysis
at High Concentrations. *Science* 2003; 299:682–6.
3. Eid J, Fehr A, Gray J, Luong K, Lyle J, Otto G, et al. Real-Time
DNA Sequencing from Single Polymerase Molecules. *Science* 2009;
323:133–8.
4. Gerard D, Wenger J, Bonod N, Popov E, Rigneault H, Mahdavi F,
et al. Nanoaperture-enhanced fluorescence: Towards higher detection rates
with plasmonic metals. *Phys Rev B - Condens Matter Mater Phys* 2008;
77:1–8.
5. Zhao J, Branagan SP, Bohn PW. Single-molecule enzyme dynam-
ics of monomeric sarcosine oxidase in a gold-based zero-mode waveguide.
Appl Spectrosc 2012;66:163–9.
6. Foquet M, Samiee KT, Kong X, Chauduri BP, Lundquist PM,
Turner SW, et al. Improved fabrication of zero-mode waveguides for single-
molecule detection. *J Appl Phys* 2008; 103:1–9.
7. Wenger J, Lenne P-F, Popov E, Rigneault H, Dintinger J, Ebbes-
sen T. Single molecule fluorescence in rectangular nano-apertures. *Opt*
Express 2005; 13:7035–44.
8. Fore S, Yuen Y, Hesselink L, Huser T. Pulsed-interleaved excita-
tion FRET measurements on single duplex DNA molecules inside C-shaped
nanoapertures. *Nano Lett* 2007; 7:1749–56.
9. Gittard SD, Nguyen A, Obata K, Koroleva A, Narayan RJ, Chich-
kov BN. Fabrication of microscale medical devices by two-photon polym-
erization with multiple foci via a spatial light modulator. *Biomed Opt Ex-
press* 2011; 2:3167.
10. Pronko P, Dutta S, Squier J, Rudd J. Machining of sub-micron
holes using a femtosecond laser at 800 nm. *Opt Commun* 1995;114:106–10.
11. Venkatakrishnan K, Tan B, Sivakumar NR. Sub-micron ablation
of metallic thin film by femtosecond pulse laser. *Opt Laser Technol*
2002;34:575–8.

12. Doerr DW, Alexander DR. Submicron patterning of aluminum films by laser ablation. In: Smith JH, Karam JM, editors. Proc. SPIE, vol. 3874, 1999, p. 62–7.

13. Spiro A, Lowe M, Pasmanik G. Drilling rate of five metals with picosecond laser pulses at 355, 532, and 1064 nm. Appl Phys A 2012; 107:801–8.

14. Bulushev E, Bessmeltsev V, Dostovalov A, Goloshevsky N, Wolf A. High-speed and crack-free direct-writing of microchannels on glass by an IR femtosecond laser. Opt Lasers Eng 2016; 79:39–47.

15. Rakic AD, Djuricic AB, Elazar JM, Majewski ML. Optical properties of metallic films for vertical-cavity optoelectronic devices. Appl Opt 1998; 37:5271–83.

16. Venkatakrisnan K, Tan B, Koh LHK, Ngoi BKA. Femtosecond pulsed laser ablation with spatial filtering. Opt Lasers Eng 2002;38:425–32.

17. Yalizay B, Ersoy T, Soylu B, Akturk S. Fabrication of nanometer-size structures in metal thin films using femtosecond laser Bessel beams. Appl Phys Lett 2012; 100:82–5.

18. P.M. Lundquist, C.F. Zhong, P. Zhao, A.B. Tomaney, P.S. Peluso, J. Dixon, B. Bettman, Y. Lacroix, D. P. Kwo, E. McCullough, M. Maxham, K. Hester, P. McNitt, D.M. Grey, C. Henriquez, M. Foquet, S.W. Turner, D. Zaccarin. Parallel confocal detection of single molecules in real time. Opt. Lett. 2008;33:1026–1028.

19. V.P. Bessmel'cev, V.S. Terent'ev, V.V. Vilejko, S.A. Babin, A.M. Shalagin, A.V. Latyshev, D.A. Nasimov, L.I. Fedina, D.V. Pyshnyj, P.E. Vorob'ev, V.V. Annenkov, E.N. Danilovceva, S.N. Zelinskij, O.N. Verhozina, M.A. Grachev, Ju.P. Galach'janc. “O sozdanii platformy dlja issledovaniija nukleinovyh kislot (dnk-sekvenator)” // Prikladnaja fotonika. 2016, T.3, №4, s. 388-412.

Получено 24.03.2017