

Desenvolvimento de Filmes Finos para Criomicroscopia Utilizando Metais Amorfos como Substrato

Pesquisador responsável: Jefferson Bettini
Unidade do CNPEM: LNNano

objetivos, metodologia, cronograma de atividades e referências

1. Introdução

A criomicroscopia eletrônica (Cryo-EM) é uma técnica de imagem de alta resolução que tem revolucionado a biologia estrutural por permitir a observação de macromoléculas em seu estado quase nativo, sem necessidade de cristalização (Bai et al., 2017). A qualidade das imagens obtidas depende das propriedades do suporte utilizado. Os substratos convencionais, como filmes de carbono ou redes metálicas cristalinas como o Ouro, podem introduzir ruído de fundo indesejado ou comprometer a estabilidade térmica durante a aquisição das imagens (Egerton, 2016). Nesse contexto, os metais amorfos surgem como alternativa promissora. Devido à ausência de estrutura cristalina, esses materiais exibem características como baixa rugosidade superficial, uniformidade eletrônica e ausência de picos de difração, que são ideais para técnicas de imagem de alta precisão (Inoue & Takeuchi, 2011). Além disso, sua elevada resistência à corrosão e estabilidade térmica os torna excelentes candidatos para aplicação em ambientes extremos, como as temperaturas criogênicas utilizadas na Cryo-EM.

2. Estado da arte

O substrato de filme fino de Carbono é amorfo e isto é uma vantagem pois não há interferência de espalhamento cristalino nas imagens de criomicroscopia. Além disso, o filme fino de carbono pode ser crescido com espessura a partir de 3nm de forma contínua, devido a sua falta de cristalinidade. Contudo, como o Carbono é um átomo com massa baixa, o filme apresenta movimentação durante a aquisição das imagens e por não ser um material com baixa condutividade em baixas temperaturas acumula carga e gera ruídos. O Substrato de filme fino de Ouro apresenta ótima condutividade em baixas temperaturas, reduzindo o acúmulo de carga e conseqüente deslocamento do feixe de elétrons. Além disso, a movimentação do filme é reduzida devido à alta massa do átomo de ouro. Entretanto, o ouro é cristalino e o espalhamento do ouro gera alto contraste reduzindo a área efetiva do gelo amorfo para obtenção de imagem e devido não é possível obter filmes finos contínuos de oro com mesmo de 6 nm. Desta forma, o estado da arte nesta área é o crescimento de filmes finos amorfos metálicos com foco em ligas de Ouro e Platina (por exemplo, AuSi, AuGe, PtSi, PtGe, etc), ou seja, combinar as vantagens dos dois tipos de filmes finos existentes utilizados em Criomicroscopia em um único filme fino.

3. Objetivos

Metais amorfos podem ser obtidos por diferentes métodos, o principal método é o resfriamento ultrarrápido (megakelvin por segundos) de ligas metálicas a partir de seu ponto de fusão. Dentre destes métodos, metais amorfos também podem ser obtidos também na forma de filmes finos a partir do crescimento de liga metálicas por evaporação térmica ou por sputtering. Estes filmes crescidos com tamanho nanométrico, possibilita seu estudo através da microscopia eletrônica de transmissão. Utilizando difração de elétrons combinado com a técnica de análise da função de distribuição de primeiros vizinhos (ePDF), podemos estudar o grau de ordenamento do filme em função da composição e taxas de crescimentos, a rugosidade da superfície, a condutividade e o grau de oxidação em função da composição e do tempo de exposição controlada a umidade. Desta forma, temos como objetivos:

3.1 Crescimento de filmes finos metálicos amorfos com foco ligas de Ouro e Platina para aplicação com substrato em Criomicroscopia.

3.2 Estudo e caracterização dos filmes pelas técnicas de Microscopia Eletrônica de Transmissão (principal, medida do grau de ordenamento do material), Microscopia de Força atômica (rugosidade) e medidas elétricas por quatro pontas (condutividade).

3.3 Aplicação do filme fino com substrato em criomicroscopia.

4. Metodologia

Serão estudadas ligas metálicas amorfas conhecidas por sua estabilidade em forma de filme fino, como ligas baseadas em Au e Pt misturadas principalmente com Ge e Si, podendo acrescentar outros átomos

Deposição dos Filmes Finos: Utilizaremos a técnica de sputtering magnético, com controle rigoroso da taxa de deposição, temperatura do substrato e pressão da câmara (Schroeder et al., 2020).

Caracterização dos Filmes para análise estrutural por Microscopia Eletrônica de Transmissão utilizando a Difração de Elétrons (SAED) combinado com a técnica de análise da função de distribuição de primeiros vizinhos (ePDF) para confirmação da amorficidade (Egerton, 2016). Microscopia eletrônica de varredura (SEM) e força atômica (AFM) para análise de morfologia e rugosidade e por fim, estudo das propriedades Físico-Químicas: Medidas de condutividade, resistência mecânica e estabilidade criogênica.

Os substratos serão utilizados em grids para Cryo-EM, sobre os quais serão depositadas amostras biológicas. As imagens obtidas serão avaliadas quanto a contraste, ruído de fundo e integridade estrutural das biomoléculas (Bai et al., 2017).

4. Cronograma de Atividades (12 meses)

Etapas	Meses			
	1-3	4-6	7-9	10-12
Levantamento bibliográfico	X			
Seleção e preparo das ligas amorfas	X	X		
Deposição dos filmes finos	X	X	X	
Caracterizações e Análise de dados		X	X	
Testes com criomicroscopia			X	X
Elaboração Relatório e artigo				X

5. Referências

- Bai, X. C., McMullan, G., & Scheres, S. H. W. (2017). Cryo-EM structure determination: resolution and beyond. *Current Opinion in Structural Biology*, 46, 183–192.
- Egerton, R. F. (2016). *Physical Principles of Electron Microscopy*. Springer.
- Inoue, A., & Takeuchi, A. (2011). Recent development and application products of bulk glassy alloys. *Acta Materialia*, 59(6), 2243–2267.
- Schroeder, L. F., Thompson, R. F., Wehmer, M., et al. (2020). UltrasMOOTH metal films for cryo-EM grids. *Microscopy Today*, 28(4), 34–39.