Министерство образования и науки РФ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Пензенский государственный университет»

Факультет приборостроения, информационных технологий и электроники

Кафедра «Физика»

Курсовая работа по дисциплине:

«Физика полупроводников»

на тему: «Квантовые точки в биологии и медицине»

Выполнила: ст.гр.14ПФ1

Байкова К. В.

Проверил: д.ф-м.н., профессор

Кревчик В. Д.

Принято к защите _____

Дата, подпись преподавателя

Оценка хорошо _____

Оценка, подпись преподавателя

Пенза, 2017 год

Министерство образования и науки РФ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Пензенский государственный университет»

Факультет приборостроения, информационных технологий и

Электроники

Кафедра «Физика»

«УТВЕРЖДАЮ»

Заведующий кафедрой

М.Б.Семенов

(подпись,инициалы,фамилия)

«11» декабря 2017г.

ЗАДАНИЕ

по курсовой работе студента

Байкова Кристина Валерьевна

по дисциплине «Физика полупроводников»

Группа 14ПФ1

1.Тема работы: Квантовые точки в биологии и медицине

2.Руководитель д.ф-м.н., профессор Кревчик В.Д.

3.Срок сдачи студентом законченной работы 11.12.2017

4.Перечень подлежащих разработке вопросов:

- Изучить характеристики квантовых квантовых точек.

- Изучить особенности применения КТ в биологии и медицине.

- Изучить методы практического применения КТ.

Подпись студента

Подпись преподавателя

Содержание

Введение 3
1 Понятие «квантовые точки» 5
2 Типы квантовых точек 6
3 Методы получения квантовых точек 7
4 Применение квантовых точек 8
5 Применение квантовых точек в биологии 9
6 Применение квантовых точек в медицине 15
7 Новый метод исследования клетки с помощью "CU dots" 18
8 Диагностика опухолевых клеток 19
9 Направляющие агенты 20
10 Иммуногистохимический анализ 22
11 Особенности практического применения 23
Заключение 25
Список используемых источников 26

Введение

Квантовые точки (КТ) – это изолированные нанообъекты, свойства которых существенно отличаются от свойств объемного материала такого же состава. Сразу следует отметить, что квантовые точки являются скорее математической моделью, нежели реальными объектами. И связано это с невозможностью формирования полностьюобособленных структур – малые частицы всегда взаимодействуют с окружающей средой, находясь в жидкой среде или твердой матрице.[1]

1 Понятие «квантовые точки»

Ква́нтовая то́чка — фрагмент проводника или полупроводника (например InGaAs, CdSe или GaInP/InP), носители заряда (электроны или дырки) которого ограничены в пространстве по всем трём измерениям. Размер квантовой точки должен быть настолько мал, чтобы квантовые эффекты были существенными [1]. Это достигается, если кинетическая энергия электрона заметно больше всех других энергетических масштабов: в первую очередь больше температуры, выраженной в энергетических единицах.

Квантовые точки были впервые получены в 1981-м году Алексеем Екимовым в стеклянной матрице [2], а затем, в 1985-м году, Луи Е. Брусом [3] в коллоидных растворах [4, 5]. Термин «квантовая точка» был предложен Марком Ридом [6].

Энергетический спектр квантовой точки дискретен, и расстояние между стационарными уровнями энергии носителя заряда зависит от размера квантовой точки .

Вследствие этого электронные и оптические свойства квантовых точек занимают промежуточное положение между объёмным полупроводником и дискретной молекулой [1].

Возможное применение квантовых точек: полевые транзисторы, фотоэлементы, LED, лазерные диоды [1]. Исследуются также возможности применения квантовых точек в качестве биомаркеров для визуализации в медицине [7] и кубитов для квантовых вычислений.

Проще говоря, квантовая точка — это полупроводник, электрические характеристики которого зависят от его размера и формы. Чем меньше размер кристалла, тем больше расстояние между энергетическими уровнями. Например, при переходе электрона на энергетический уровень ниже, испускается фотон; так как мы можем регулировать размер квантовой точки, то

мы можем изменять энергию испускаемого фотона, а значит, мы можем изменять цвет испускаемого квантовой точкой света. Основное преимущество квантовой точки заключается в возможности высокоточного контроля над её размером, это делает возможным очень точный контроль над проводимостью [8]. Квантовые точки разных размеров могут быть собраны в градиентные многослойные нанопленки.

Квантовые точки способны поглощать свет в широком диапазоне, а излучать — в узком интервале длин волн, который определяется размерами нанокристалла. Таким образом, та или иная квантовая точка "светится" строго определенным цветом. Эти свойства квантовых точек делают их практически идеальным средством для сверхчувствительной многоцветной регистрации биологических объектов, а также для медицинской диагностики.[9][рис.1]

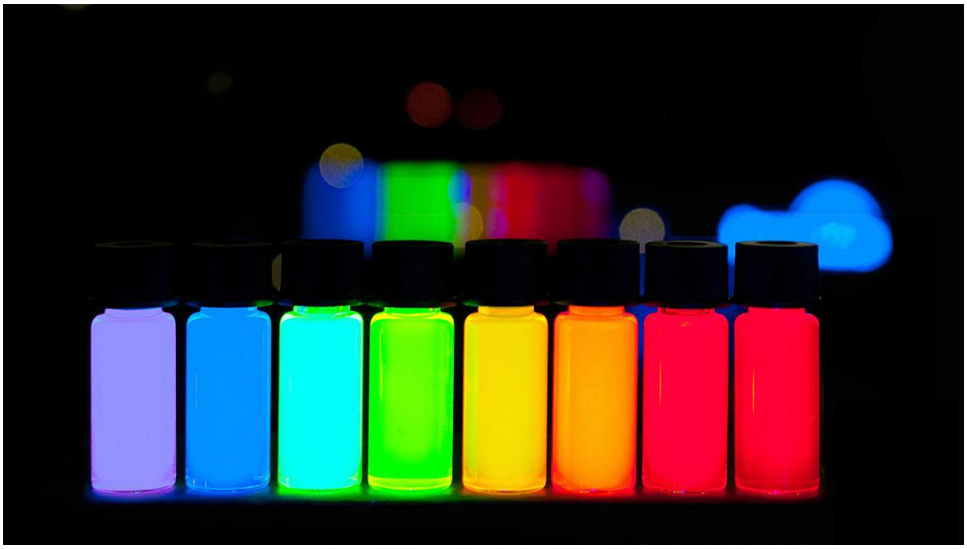

Рисунок 1- Квантовые точки

2 Типы квантовых точек

Различают два типа квантовых точек (по способу создания):

- эпитаксиальные квантовые точки;
- коллоидные квантовые точки.

Конструкции квантовых точек

Квантовой точкой может служить любой достаточно маленький кусочек металла или полупроводника. Исторически первыми квантовыми точками, вероятно, были микрокристаллы селенида кадмия CdSe. Электрон в таком микрокристалле чувствует себя как электрон в трёхмерной потенциальной яме, он имеет много стационарных уровней энергии с характерным расстоянием между ними. Аналогично переходу между уровнями энергии атома, при переходе между энергетическими уровнями квантовой точки может излучаться фотон. Возможно, также забросить электрон на высокий энергетический уровень, а излучение получить от перехода между более низколежащими уровнями (люминесценция). При этом, в отличие от настоящих атомов, частотами переходов легко управлять, меняя размеры кристалла. Собственно, наблюдение люминесценции кристаллов селенида кадмия с частотой люминесценции, определяемой размером кристалла, и послужило первым наблюдением квантовых точек.[10]

В настоящее время множество экспериментов посвящено квантовым точкам, сформированным в двумерном электронном газе. В двумерном электронном газе движение электронов перпендикулярно плоскости уже ограничено, а область на плоскости можно выделить с помощью затворных металлических электродов, накладываемых на гетероструктуру сверху. Квантовые точки в двумерном электронном газе можно связать туннельными контактами с другими областями двумерного газа и изучать проводимость через квантовую точку. В такой системе наблюдается явление кулоновской блокады.

3 Методы получения квантовых точек

Существует два главных метода создания квантовых точек:

- синтез в коллоиде, при котором вещества смешиваются в растворе
- эпитаксия — метод выращивания кристаллов на поверхности подложки

При помощи коллоидного синтеза можно получать нанокристаллы, покрытые слоем адсорбированных поверхностно-активных молекул. Таким образом они растворимы в органических растворителях, после модификации — также в полярных растворителях. Квантовые точки, связанные с подложкой могут использоваться, например, в перспективных приложениях наноэлектроники. Особый интерес представляют флуоресцирующие квантовые точки, получаемые методом коллоидного синтеза, например КТ на основе халькогенидов кадмия в зависимости от своего размера флуоресцируют разными цветами. Интерес заключается в том, что они поглощают энергию в широком диапазоне спектра, а испускают узкий спектр световых волн.[11]

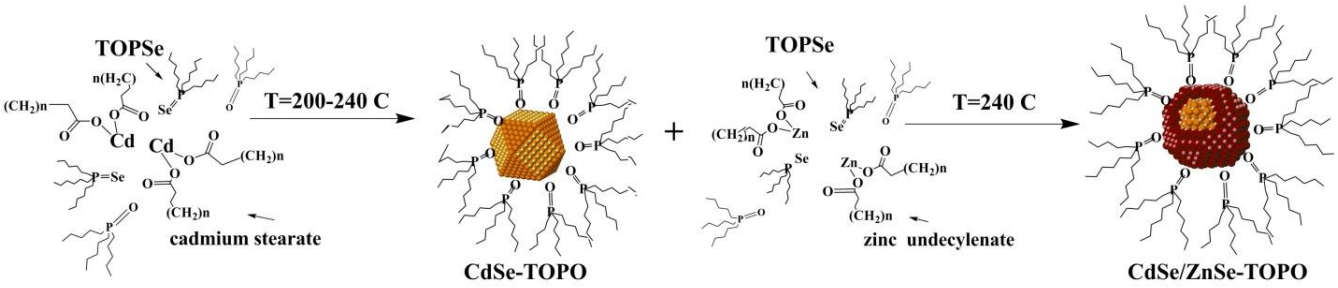

Рисунок 2- Схема синтеза CdSe-ZnSe квантовых точек

4 Применение квантовых точек

Коллоидные квантовые точки являются хорошей заменой традиционных люминофоров, как органических, так и неорганических. Они превосходят их по фотостабильности, яркости флуоресценции, а также имеют некоторые уникальные свойства [6].

Ещё недавно о широком применении квантовых точек речи не шло, но в последние годы ряд компаний выпустил на рынок продукцию с использованием данных наночастиц. Среди анонсированных продуктов имеются, как экспериментальные образцы, так и массовые изделия. Например, компанией LG созданы первые прототипы дисплеев на основе квантовых точек [7]. В то же время компания Nexxus Lighting выпустила светодиодную лампу с использованием квантовых точек [8], а российская компания QDLight готовит к

выпуску целую линейку продукции на квантовых точках в области оптоэлектроники, безопасности и сельского хозяйства [9]. Оптические свойства нанокристаллов — квантовых точек используются в самых неожиданных исследованиях, в которых требуется удобная, перестраиваемая люминесценция, например в биологических исследованиях.

Квантовые точки — один из главных кандидатов для представления кубитов в квантовых вычислениях.

5 Применение квантовых точек в биологии

Одной из наиболее активно развивающихся областей применения полупроводниковых квантовых точек является использование коллоидных квантовых точек (полупроводниковых нанокристаллов в органических и водных растворах) в качестве люминесцентных меток для визуализации структуры биологических объектов разного типа и для сверхчувствительного детектирования биохимических реакций, которые крайне важны в молекулярной и клеточной биологии, медицинской диагностике и терапии. Люминесцентная метка представляет собой люминофор, связанный смолекулой-линковщиком,которая может селективно связываться с детектируемой биоструктурой (мишенью). Метки должны быть растворимыми в воде, иметь большой коэффициент поглощения, обладать высоким квантовым выходом люминесценции в узкой спектральной полосе. Последнее особенно важно для регистрации многоцветных изображений, когда различные мишени в клетке помечены разными метками. В качестве люминофоров меток обычно используются органические красители. Их недостатками являются низкая устойчивость к фотообесцвечиванию, не позволяющая проводить долговременные измерения, необходимость использования нескольких источников света для возбуждения различных красителей, а также большая ширина и асимметрия полос люминесценции, затрудняющие анализ многоцветных изображений.

Последние достижения в области нанотехнологий позволяют говорить о создании нового класса люминесцентных меток, использующих в качестве люминофора полупроводниковые квантовые точки – коллоидные нанокристаллы .

Синтез нанокристаллов на основе соединений A2B6 (CdSe, CdS, CdTe, ZnS) и A3B5 (InP и GaAs) известен достаточно давно.Еще в 1993 году был предложен высокотемпературный органометаллический синтез квантовых точек CdSe и получены нанокристаллы с хорошей кристаллической структурой и узким распределением по размерам, но с квантовым выходом, не превышающим 10%. Резкое увеличение квантового выхода квантовых точек до 85% при комнатной температуре было достигнуто, когда нанокристаллы стали покрывать тонкой(1–2 монослоя) оболочкой из другого материала с большей шириной запрещенной зоны (например, для CdSe это ZnS, CdS, CdO) [6,6]. Такие структуры называются квантовые точки ядро/оболочка (core/shell QDs). Диаметр квантовых точек (от 1.5 нм и выше) можно контролировать, варьируя время реакции, проходящей при температуре около 300oC, от минут до нескольких часов или просто отбирая необходимое количество продукта через разное время после начала реакции. В результате оказалось возможным получить набор квантовых точек одного состава, но с разными размерами. Например, положение полосы люминесценции CdSe/ZnS КТ может меняться в диапазоне от 433 до 650 нм (2.862– 1.906 эВ) при ширине полосы около 30мэВ. Использование других материалов позволяет существенно расширить спектральную область перестройки полосы люминесценции нанокристаллов.

Поверхность таких квантовых точек, полученных в результате химической реакции, покрыта гидрофобными молекулами, используемыми при синтезе, поэтому они растворимы только в органических растворителях. Поскольку биологические объекты (протеины, ДНК, пептиды) существуют только в водных растворах, были разработаны методы модификации поверхности нанокристаллов, которые делают их водорастворимыми как с положительно, так и с отрицательно заряженной поверхностью.

В самое последнее время люминесцентные метки на основе полупроводниковых квантовых точек для мишеней различного типа стали коммерчески доступными.

Для использования квантовых точек in vivo необходимо предпринять меры, уменьшающие их токсичность. В этих целях предложено помещать квантовые точки в инертные полимерные сферы с диаметрами50–300нм и уже их использовать в качестве люминофоров в случаях, когда относительно большие размеры наносфер не препятствуют их применению.

Успехи в развитии синтеза флуоресцентных нанокри-сталлов (квантовых точек) с заданными свойствами открыли пути создания нового класса флуорофоров для многочисленных биологических и медицинских применений. Флуоресцентные нанокристаллы, детектируемые в обычных флуоресцентных микроскопах, позволяют визуализировать процессы на уровне единичных молекул. По сравнению с органическими флуорофорами нанокристаллы обладают высокой яркостью, уникально высокой фотостабильностью и узким симметричным пиком эмиссии. Такие уникальные свойства делают их идеальными флуорофорами для сверхчувствительной, многоцветной детекции биологических объектов и для медицинской диагностики, требующей одновременной регистрации многих параметров.

В последние годы это направление успешно развивается в Институте биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН совместно с Реймским университетом (Франция).

Уменьшение размера частицы приводит к появлению весьма необычных свойств материала, из которого она сделана. Причина этого — пространственное ограничение движения носителей заряда. Их энергия в этом случае становится дискретной. Число уровней энергии зависит от размера потенциальной ямы, высоты потенциального барьера и массы носителя заряда. Увеличение ширины ямы ведет к росту числа уровней энергии, которые при этом приближаются друг к другу. В пределе, когда яма становится бесконечно широкой, энергетический спектр оказывается непрерывным. Ограничить

движение носителей заряда можно по одной координате, формируя таким образом квантовые пленки, по двум координатам образовывая квантовые проволоки или нити, или по всем трем направлениям формируя квантовые точки (КТ).

Полупроводниковые нано-кристаллы — это промежуточные структуры между молекулярными кластерами и сплошными (массивными, непрерывными) материалами. Границы между ними не определены с достаточной четкостью и зависят от материала. К нанокристаллам принято относить частицы, содержащие от 100 до 10 тыс. атомов. Нижний предел этого диапазона определяется стабильностью кристаллической структуры, свойственной сплошным материалам. Верхний — соответствует размерам, для которых интервалы между уровнями энергии приближаются к значению тепловой энергии kT (T — температура, k — постоянная Больцмана), когда носители заряда становятся мобильными.

Естественный масштаб длины для электронных возбужденных областей в макроскопических непрерывных полупроводниках определяется радиусом экситона Борах, который зависит от силы кулоновского взаимодействия между электроном (е) и дыркой (й). В кристаллах, размеры которых сопоставимы с ах или меньше его, сами частицы определяют пространственную форму пары ей и, следовательно, размер экситона. Тогда энергии электронов непосредственно зависят от степени пространственного ограничения их волновых функций (т.е. от размера нанокристалла). Это явление известно как эффект квантового ограничения. Используя его, можно непрерывно регулировать ширину запрещенной зоны нанокристалла Eg, просто изменяя его размер.

Как физический объект квантовые точки известны и изучаются довольно давно. В форме коллоидных нанокристаллов каждая квантовая точка представляет собой изолированный мобильный объект, находящийся в растворителе. Такие нано-кристаллы можно использовать для построения различных ассоциатов, гибридов, упорядоченных слоев и т.п., на основе которых конструируют элементы электронных и оптоэлектронных устройств,

пробники и сенсоры для анализов в микрообъемах вещества, различные флуоресцентные, хемилюминесцентные и фотоэлектрохимические датчики.

Стремительное проникновение полупроводниковых нано-кристаллов в разнообразные области науки и технологии определяет их уникальные оптические характеристики [1, 2]. Во-первых, это узкий симметричный пик флуоресценции (в отличие от известных органических красителей, имеющих длинноволновый «хвост»). Во-вторых, широкая полоса возбуждения, которая позволяет возбуждать нанокристаллы разных цветов одним источником излучения. В третьих, высокая яркость флуоресценции, определяемая высоким значением экстинкции и высоким квантовым выходом (для нанокристаллов CdSe/ZnS структуры ядро/ оболочка — до 70%). И, наконец, уникально высокая фотостабильность, позволяющая использовать источники возбуждения высокой мощности .

Принцип получения нано-кристаллов состоит в быстрой инъекции прекурсоров в реакционную среду при высокой температуре (300—350°C) с последующим медленным ростом нанокристаллов при относительно низкой температуре (250—300°C). Условия синтеза подбирают так, чтобы реализовался так называемый фокусирующий режим роста: растут все кристаллы, но скорость роста маленьких частиц больше скорости роста больших. В результате уменьшается разброс по размерам нанокристаллов [3].

Технология контролируемого синтеза дает возможность управлять формой частиц, используя анизотропию нанокристаллов. Характерная кристаллическая структура конкретного материала (например, для CdSe — гексагональная упаковка, вюрцит) опосредует выделенные направления роста, что позволяет вытягивать нанокристаллы вдоль выделенных осей [5]. Так формируют наностержни (quantum rods) или тетраподы — кристаллы, вытянутые в четырех направлениях .

С самого начала нанокристаллы из полупроводников групп II—VI, синтезируемые при высокой температуре, обладали рядом свойств, ограничивающих их практическое применение. Во-первых, квантовый выход

люминесценции оставался намного ниже, чем у широко известных органических флуоресцентных красителей. Во-вторых, фотостабильность так называемых ядер нанокристаллов была низка. Оба параметра ухудшались, когда нанокристаллы попадали в водные растворы. Проблему создавало и качество ядер нанокристаллов: множество поверхностных дефектов работает как безызлучательные центры рекомбинации или ловушки для возбужденных e-h-пар, которые уменьшают квантовый выход флуоресценции. Квантовое размерное ограничение в полупроводниковых кристаллах нанометрового размера вызывает сильное взаимодействие между возбужденными e-h-парами и окружающей средой. Преодолеть его можно, создав между ядром нанокристалла и окружающей средой барьер, который изолирует e-h-пару, увеличивает время жизни и уменьшает безызлучательную рекомбинацию. Значит, квантовый выход флуоресценции и фотостабильность возрастут. Для решения этой проблемы достаточно нескольких монослоев широкозонного материала. Сегодня наиболее известные флуоресцентные нанокристаллы имеют структуру ядро/оболочка. Усовершенствование синтеза нанокристаллов CdSe/ZnS позволяет достичь квантового выхода 90%, что близко к лучшим органическим флуоресцентным красителям.

Уникальные свойства квантовых точек в форме нанокристаллов можно использовать во всех системах мечения и визуализации биологических объектов (за исключением внутриклеточных меток, экспрессируемых генетически). Солюбилизированные нанокристаллы вводятся в объект непосредственно или после присоединения к их поверхности специальных распознающих молекул (обычно это антитела или олигонуклеотиды). Нанокристаллы проникают в объект и распределяются по нему в соответствии со своими свойствами [6, 7]. Так, проникновение нанокристаллов разных размеров через биологические мембраны зависит от их размера, определяющего цвет флуоресценции (рис.6). Наличие распознающих молекул на поверхности нанокристаллов делает возможным адресное связывание. К

примеру, определенный объект в биомедицинской пробе (например, опухолевый) можно окрасить заданным цветом [8].

Как уже указывалось, узкий и симметричный пик флуоресценции нанокристаллов дает возможность надежно выделять цветной сигнал флуоресценции (до 10 цветов в видимом диапазоне). В то же время широкая полоса флуоресценции нано-кристаллов позволяет возбуждать нанокристаллы всех цветов единым источником. Эти свойства, а также высокая фотостабильность нанокристаллов, делают их идеальными флуорофорами для многоцветного спектрального кодирования объектов; создания систем кодирования, подобных штрихкодовым, но с использованием возможностей многоцветности; формирования «невидимых» кодов, флуоресцирующих в инфракрасной области.

В настоящее время все шире применяют так называемые жидкие микрочипы, которые, подобно классическим плоским чипам, позволяют одновременно анализировать множество различных параметров. Основа действия жидких микрочипов — спектральное кодирование .

Каждый элемент микрочипа содержит заданные количества квантовых точек определенных цветов, т.е. индивидуальный спектральный код.

6 Применение квантовых точек в медицине

Современная медицина уже немыслима без нанотехнологий. Ученые постоянно ищут и разрабатывают новые материалы и методы их применения. Наночастицы размерами менее одной десятитысячной диаметра человеческого волоса — квантовые точки — обеспечили научный прорыв в диагностике и фармакологии. Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ" активно исследует возможности применения квантовых точек в области биомедицины.

Квантовая точка (их также называют "искусственными атомами") — это кристалл полупроводника с таким малым размером, что электроны в нем

ограничены в движении в трех измерениях. Это сравнимо с лежащим в коробке с мячиком, который может перемещаться только между ее стенками. Термин "квантовая" в данном случае подразумевает, что различные характеристики этой точки, например оптические и электрические, меняются в зависимости от ее размера.

Квантовые точки были открыты в пятидесятые годы XX века. Довольно долго они были пассивным объектом изучения физиков. Затем химики научились синтезировать квантовые точки, задавая размеры и управляя таким образом их физическими и химическими свойствами. Но в биологии и медицине квантовые точки стали применять лишь после того, как был найден способ делать их растворимыми в воде и биологических жидкостях, а также контролировать их размер, то есть задавать физические свойства еще в процессе создания.

В медицине чаще всего используют коллоидные квантовые точки — нанокристаллы, полученные методом химического высокотемпературного синтеза. В нагретую среду, включающую в себя два фазовых состояния или более, впрыскивают состав с необходимыми химическими реагентами. В результате происходит быстрая химическая реакция с образованием зародышей твердой фазы. Это и есть основы для кристаллических квантовых точек. Далее частицы растут, причем их размер контролируется с точностью до 10%. Средний размер квантовых точек, подходящих для использования в медицине, составляет от двух с половиной до пяти нанометров. От размера зависят оптические свойства: при внешнем облучении малые нанокристаллы светятся фиолетовым светом, а большие — красным.

Основное препятствие для введения в организм человека большинства наночастиц — их токсичность по отношению к живым клеткам, причем не только того или иного химического элемента, входящего в их состав. Речь идет о нанотоксичности. Наночастицы имеют очень малую величину, сходную с размерами биологических молекул. К нанокристаллу прилипают наши

собственные белки, выворачиваясь при этом "наизнанку", что приводит к резкой реакции иммунной системы, стремящейся уничтожить "чужой" белок.

Наночастицы могут стать центрами образования нитевидных (фибрилл) и скрученных в клубок белков, напоминающих бляшки, образующиеся при болезни Альцгеймера и способные блокировать передачу нервного импульса. С "притяжением" белков нанокристаллами борются по-разному. Например, в НИЯУ МИФИ стремятся сделать поверхность частиц максимально "непривлекательной" для прилипания белков, а также исключить их слипание. При этом размер должен сохраняться в установленных рамках (2,5–5 нанометров), чтобы кристаллы выводились из организма с вероятностью, близкой к 100%.

"Скорее всего, полностью устранить проблему токсичности наноматериалов не получится. Однако перспективы их применения в медицине будут всегда определяться балансом отрицательных и положительных свойств, которые они смогут привнести в диагностику и лечение. Очевидно, что противоопухолевые лекарства представляют серьезную опасность для здоровых тканей организма, но иначе опухоль просто не уничтожить! Поэтому задача нанобиотехнологов заключается в минимизации воздействия ядовитых веществ на здоровые клетки и органы. Приходится идти на определенный риск, чтобы в конечном итоге получить больше шансов на спасение жизни и здоровья человека", — рассказали РИА Новости Игорь Набиев, заведующий лабораторией нано- и биоинженерии НИЯУ МИФИ и профессор Реймского университета Шампань-Арденн (Франция).

На данный момент в НИЯУ МИФИ разрабатывается проект создания переносчиков, включающих в себя микрокапсулы, заряженные лекарством, в стенки которых вводят магнитные и серебряные наночастицы, а также радиоактивные и флуоресцентные квантовые точки. Благодаря последним капсулы светятся, что дает возможность регистрировать их местонахождение, а частицы еще и управляются при помощи магнита, двигая всю капсулу в место расположения опухоли. С помощью переменного магнитного поля или

ультразвука их можно нагреть и вскрыть в тот момент, когда они достигли цели.

Примечательно, что квантовые точки не "засиживаются" на стадии исследований: на основе нанокристаллов активно разрабатывают практически применимые конкретные приборы. В НИЯУ МИФИ сейчас создается целая серия устройств, способных детектировать одновременно большое количество патогенов. Эти устройства смогут определять целый ряд инфекций только по одной пробе воздуха. Выпуск пилотной серии таких приборов запланирован в 2019-2020 годах.

7 Новый метод исследования клетки с помощью квантовых точек

Недавно ученым из Корнельского университета удалось синтезировать квантовые точки, которые могут использоваться в исследованиях клетки. С помощью оптического микроскопа мы не можем проследить за перемещением отдельных молекул внутри живой клетки, а с помощью электронного микроскопа отдельные молекулы видно, но для этого клетку приходится умертвить. Однако если снабдить квантовые точки специальными маркерами, то можно прикрепить эти наносистемы к отдельным типам молекул. Для клетки это не представляет вреда, и, что самое главное, результаты видны в оптический микроскоп, благодаря флуоресценции маркеров. Поэтому исследователи используют квантовые точки в биологических исследованиях.

Что же нового удалось привнести в уже отлаженную процедуру исследований ученым из Корнельского университета? Во-первых, обычные квантовые точки химически активны, что может негативно повлиять на проводимые с их использованием исследования. Во-вторых, новый тип квантовых точек в 30 раз ярче обычных, что позволило "высвечивать" внутри клетки отдельные молекулы. И, в-третьих, они могут присоединяться только к тем молекулам, маркеры которых исследователи "запрограммируют" в квантовой точке. Все эти выгоды ученым принесла новая архитектура

построения наночастиц: теперь квантовая точка - это довольно сложное программируемое наноустройство.

Новая технология, разработанная исследователями, заключается в том, что квантовые точки обрабатывают, нанося на них специальное кремниевое покрытие и добавляют специфические метки, которые позволяют придавать квантовым точкам различные свойства. Так, например, можно сделать КТ флуоресцентными и использовать их для исследования живых тканей с помощью оптической микроскопии. "С помощью наших квантовых точек ученые могут проводить исследования, которые без их использования невозможны", - говорит Ульрих Вайснер, профессор материаловедения из Корнельского университета.

КТ - наночастицы, состоящие из ядра диаметром 2,2 нанометра, помещенного в кремниевую оболочку, содержащую молекулы флуоресцентной краски. Диаметр наночастицы целиком - 25 нанометров. Ученые назвали такое строение квантовой точки архитектурой ядро-оболочка.

Ранее для нанесения на поверхность квантовой точки белкового маркера нужно было использовать дорогостоящий производственный процесс, который состоял в том, что квантовую точку инкапсулировали в полимер. Переход на кремний позволит значительно сократить стоимость диагностики, и, как следствие, сделает ее общедоступной для больниц (для ранней диагностики рака, например).

В контрольном исследовании ученые выявили раковые клетки в образце ткани человека, больного лейкемией (см. рисунок 2). Антитела иммуноглобулина Е (IgE), расположенные на поверхности раковых клеток, связывались с наночастицами, а результат было видно в оптический микроскоп.

8 Диагностика опухолевых клеток

При использовании КТ в качестве флуорофоров для визуализации опухолей часто необходимо их связывание с различными направляющими

молекулами, обеспечивающими селективную доставку КТ к опухолевым клеткам и их компонентам. Специфичность мечения обеспечивается выбором мишени, оптимально подходящей для каждого конкретного случая и соответствующей направляющей молекулы.

В качестве специфических мишеней для диагностики опухолей чаще всего используют рецепторную часть сигнальных белков, гиперэкспрессирующихся на мембране опухолевых клеток. Уровень экспрессии таких клеточных молекулярных онкомаркеров, определяемых непосредственно в опухолевой ткани, характеризует молекулярный профиль каждой конкретной опухоли и используется для определения иммунного статуса опухоли и индивидуализации лекарственного лечения [17].

В качестве направляющего модуля, обеспечивающего селективную доставку КТ к опухолевым клеткам и их компонентам, в зависимости от целей и объектов исследований используют антитела и их фрагменты; лиганды специфических рецепторов, локализующихся на поверхности опухолевых клеток; небольшие специфически взаимодействующие с онкомаркерами молекулы, такие, как пептиды и аптамеры.

9 Направляющие агенты

Молекулы иммуноглобулинов (Ig) давно известны и широко используются как эффективные направляющие модули для специфической доставки диагностических и терапевтических агентов как in vitro на уровне клеток и тканей, так и на уровне целого организма in vivo. Уже в одной из первых работ по применению КТ для биологических исследований были показаны возможность получения комплексов КТ с молекулами IgG, способность образующихся комплексов связываться со специфичными антивидовыми поликлональными антителами и формировать преципитаты в растворе [14]. Позже подобные комплексы были использованы для мечения определенных молекул, находящихся в различных компар-тментах клетки - на поверхности мембраны, в цитоплазме и ядре [16].

Несмотря на большое распространение полноразмерных антител в диагностических системах in vitro, применение их в качестве направляющих агентов in vivo, как правило, требует исключения их эффектор-ных функций и кардинальной модификации физикохимических свойств [18]. Наиболее полно этим требованиям отвечают мини-антитела формата scFv [19, 20]. Эти небольшие фрагменты антител не содержат константного домена, что не влияет на их направляющие свойства, но снижает вероятность возникновения побочных эффектов, вызванных взаимодействием константных доменов с рецепторами клеток иммунной системы и белками системы комплемента [21]. Мини-антитела к поверхностным онкомаркерам активно используют в качестве направляющих модулей для флуоресцентной визуализации опухолевых клеток и доставки к ним терапевтических агентов [22, 24].

В лаборатории Nie была показана возможность использования КТ, оснащенных направляющими мини-антителами формата scFv, для визуализации опухолей, в том числе in vivo. После внутривенного введения конъюгатов КТ с анти-EGFR-антителом человека формата scFv в организм мыши с привитой опухолью поджелудочной железы человека наблюдалось накопление и эффективная интернализация конъюгатов клетками опухоли [25].

Основным недостатком антител формата scFv в качестве направляющих агентов является их моновалентность, так как моновалентное связывание с антигеном на поверхности клеток не обеспечивает длительного удерживания антитела и приводит к его быстрой диссоциации [26, 27]. В то же время большая площадь поверхности, характерная для КТ, обеспечивает возможность присоединения к каждой такой наночастице нескольких молекул scFv и позволяет создавать своеобразные мультивалентные конструкции с улучшенными свойствами [28].

Для специфичного узнавания некоторых белков с целью визуализации клеток и их компонентов в качестве направляющих молекул используют пептиды [29]. Применение этого подхода к созданию специализированных КТ было впервые показано для коротких генно-инженерных пептидов,

специфически узнающих интегрин, в работах на нейробластоме человека [30]. Позже было доказано, что этот подход можно использовать и для специфического мечения клеток эндотелия легких, эндотелия мозга и карциномы молочной железы человека как in vitro, так и в живых клетках [13]. Аргинил-глицил-аспарагиновая кислота (RGD-пептид), узнающая интегрин, зарекомендовала себя хорошим альтернативным направляющим агентом для КТ, флуоресцирующих в ИК-диапазоне, при визуализации различных опухолей в организме мыши in vivo [2].

Еще одним перспективным направляющим агентом для доставки КТ к опухолевым клеткам являются аптамеры - специально сконструированные олигонуклеотиды, способные узнавать некоторые белки и компоненты клетки и с высокой специфичностью связываться с ними. Различные конъюгаты на основе аптамеров успешно используются для имиджинга и распознавания клеток, детекции биомаркеров и т. д. [3]. Конъюгаты КТ с аптамером, специфичным к опухолевому маркеру PSMA, избирательно окрашивали фиксированные и живые клетки опухоли простаты линии LNCaP и те же клетки в модельной среде коллагенового матрикса [4]. Было показано, что использование аптамеров в качестве направляющего агента для визуализации клеток опухоли простаты с помощью КТ так же эффективно, как использование конъюгатов КТ с анти-PSMA-антителами, но значительно дешевле [5]. Конъюгаты КТ с аптамерами можно использовать параллельно с другими направляющими агентами, такими, как пептиды, для одновременной визуализации нескольких онкомаркеров [6]. Кроме того, получение биотинилированных ап-тамеров, которые могут связываться с любыми КТ, конъюгированными со стрептавидином, обеспечивает создание универсальных реагентов для двухстадийной доставки КТ к опухолевым клеткам [3].

10 Иммуногистохимический анализ

Наиболее широко используемым в клинике методом диагностики опухолей является иммуногистохими-ческий анализ (ИГХ). Этот метод морфологического исследования, в основе которого лежит визуализация и оценка с помощью микроскопии результатов реакции антиген-антитело в срезах биопсированных тканей, позволяет не только увидеть наличие и интенсивность сигнала, но и оценить распределение сигнала в клетке (окрашивание мембраны, цитоплазмы, ядра и других структурных элементов). Иммунохимическое окрашивание фиксированных формалином тканей и парафиновых срезов образцов биопсии опухолей - непростая задача из-за высокой аутофлуоресценции тканей и уменьшения количества антигена в процессе фиксации и включения в парафин.

Оказалось, что для решения этой задачи как нельзя лучше подходят КТ. С использованием КТ были получены изображения фиксированных срезов тканей базально-клеточной карциномы человека [9], опухоли молочной железы мыши, гиперэкспрессирующей человеческий рецептор НЕИ2 [16], базально-плоскоклеточной карциномы кожи человека [3]. На примере ткани опухоли молочной железы человека показано также, что на основе КТ можно создавать зонды для количественного и очень чувствительного обнаружения слабой экспрессии поверхностных раковых маркеров, в частности онкомаркера НЕИ2/пеи [7]. Исследователи также отмечают высокую фотостабильность препаратов, окрашенных КТ: интенсивность их флуоресценции не меняется в течение 9-75 дней.

Комбинирование традиционных методик ИГХ с флуоресцентными красителями на основе КТ позволяет значительно улучшить разрешение и чувствительность метода, а также дает возможность одновременной визуализации нескольких маркеров [15]. Кроме того, применение КТ делает метод ИГХ намного более наглядным.

11 Особенности практического применения

На пути практического применения нанокристаллов из полупроводников групп II–VI стоит ряд ограничений. Во-первых, квантовый выход люминесценции у них существенно зависит от свойств окружающей среды. Во-вторых, стабильность «ядер» нанокристаллов в водных растворах также невелика. Проблема заключается в поверхностных «дефектах», играющих роль безызлучательных центров рекомбинации или «ловушек» для возбужденных e–h пар. Для преодоления этих проблем квантовые точки заключают в оболочку, состоящую из нескольких слоев широкозонного материала. Это позволяет изолировать e—h пару в ядре, увеличить время ее жизни, уменьшать безызлучательную рекомбинацию, а значит — увеличить квантовый выход флуоресценции и фотостабильность. В связи с этим, к настоящему времени наиболее широко используемые флуоресцентные нанокристаллы имеют структуру ядро/оболочка (рисунок 3). Развитые процедуры синтеза CdSe/ZnS нанокристаллов позволяют достичь квантового выхода 90%, что близко к лучшим органическим флуоресцентным красителям.

Заключение

Квантовые точки - это относительно новый класс соединений, обладающий большим потенциалом для применения в разных видах диагностики опухолей от определения онкомаркеров на микропланшете до неинвазивной визуализации опухолей in vivo. Уникальные физико-химические свойства КТ: легко настраиваемые спектры флуоресценции, высокий квантовый выход (особенно в ИК-области), возможность возбуждения в широком диапазоне длин волн и узкие пики флуоресценции, большое сечение двухфотонного поглощения, устойчивость к фотовыцветанию, - позволяют существенно расширить возможности современных методов флуоресцентной визуализации и оптической диагностики. Эти флуорофоры позволяют решать задачи, трудно осуществимые с помощью традиционных красителей: например, проводить одновременную детекцию нескольких маркеров, длительные наблюдения за молекулярными процессами в реальном времени и получать изображения новообразований в глубине тканей. В то же время для ряда рутинных задач проблемы, связанные с коллоидной природой КТ, значительно перевешивают преимущества их оптических свойств.

Список использованных источников

1. Олейников В.А. Квантовые точки в биологии и медицине. Природа № 3 (2010), 22 ;
2. Олейников В.А., Суханова А.В., Набиев И.Р. Флуоресцентные полупроводниковые нанокристаллы в биологии и медицине. Российские нанотехнологии № 2 (2007), 160–173 (pdf, 780 КБ);
3. Sukhanova A., Venteo L., Devy J., Artemyev M., Oleinikov V., Pluot M., Nabiev I. (2002). Highly Stable Fluorescent Nanocrystals as a Novel Class of Labels for Immunohistochemical Analysis of Paraffin-Embedded Tissue Sections. Laboratory Investigations 82, 1259–1261;;
4. Murray C.B., Norris D.J., Bawendi M.G. (1993). Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. J. Am. Chem. Soc. 115, 8706–8715;
5. Hines M.A., Guyot-Sionnest P. (1998). Bright UV-blue luminescent colloidal ZnSe nanocrystals. J. Phys. Chem. B 102, 3655–3657;;
6. Manna L., Scher E.C., Alivisatos P.A. (2002). Shape control of colloidal semiconductor nanocrystals. J. Clust. Sci. 13, 521–532;
7. Флуоресцирующая Нобелевская премия по химии; Nabiev I., Mitchell S., Davies A., Williams Y., Kelleher D., Moore R., Gun'ko Y.K., Byrne S., Rakovich Y.P., Donegan J.F., Sukhanova A., Conroy J., Cottell D., Gaponik N., Rogach A., Volkov Y. (2007).
8. Nonfunctionalized Nanocrystals Can Exploit a Cell's Active Transport Machinery Delivering Them to Specific Nuclear and Cytoplasmic Compartments. Nano Lett. 7, 3452–3461;
9. Williams Y., Sukhanova A., Nowostawska M., Davies A.M., Mitchell S., Oleinikov V., Gun'ko Y., Nabiev I., Kelleher D., Volkov Y. (2009). Probing Cell-Type-Specific Intracellular Nanoscale Barriers Using Size-Tuned Quantum Dots. Small 5, 2581–2588;

10. Cai W., Shin D.W., Chen K., Gheysens O., Cao Q., Wang S.X., Gambhir S.S., Chen X. (2006). Peptide-labeled near-infrared quantum dots for imaging tumor vasculature in living subjects. Nano Lett. 6, 669–676;
11. Han M., Gao X., Su J.Z., Nie S. (2001). Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. Nat. Biotechnol. 19, 631–635;; Sukhanova A., Nabiev I. (2008). Fluorescent nanocrystal-encoded microbeads for multiplexed cancer imaging and diagnosis. Crit. Rev. Oncol. Hematol. 68, 39–59;;
12. Rousserie G., Sukhanova A., Even-Desrumeaux K., Fleury F., Chames P., Baty D., Oleinikov V., Pluot M., Cohen J.H.M., Nabiev I. (2009). Semiconductor Quantum Dots for Multiplexed Bio-Detection on Solid-State Microarrays. Crit. Rev. Oncol. Hematol. 74, 1–15;
13. Рулетка для спектроскописта; Нано-pH-метр; Sukhanova A., Susha A.S., Bek A., Mayilo S., Rogach A.L., Feldmann J., Oleinikov V., Reveil B., Donvito B., Cohen J.H.M., Nabiev I. (2007). Nanocrystal-encoded fluorescent microbeads for proteomics: antibody profiling and diagnostics of autoimmune diseases. Nano Lett. 7, 2322–2327;
14. Rakovich A., Sukhanova A., Bouchonville N., Lukashev E., Oleinikov V., Artemyev M., Lesnyak V., Gaponik N., Molinari M., Troyon M., Rakovich Y.P., Donegan J.F., Nabiev I. (2010). Resonance energy transfer improves the biological function of bacteriorhodopsin within a hybrid material built from purple membranes and semiconductor quantum dots. Nano Lett. 10, 2640–2648.;
15. Васильев Р. Б., Дирин Д. Н. Квантовые точки: синтез, свойства, применение. — МГУ, Москва, 2007. — С. 50.
16. Екимов А. И., Онущенко А. А. Квантовый размерный эффект в трехмерных микрокристаллах полупроводников // Письма в ЖЭТФ. — 1981. — Т. 34. — С. 363—366.
17. Алфёров Ж. И. История и будущее полупроводниковых гетероструктур // Физика и техника полупроводников. — 1998. — Т. 32, № 1. — С. 12.
18. Nanotechnology Timeline (англ.). National Nanotechnology Initiative (26 November 2015). Проверено 14 декабря 2016.

19. Олейников В. А. Квантовые точки — наноразмерные сенсоры для медицины и биологии // Природа. — 2010. — № 3. — С. 22—28.
20. www.evidenttech.com: How quantum dots work.. Проверено 15 октября 2009.
21. ↑MEMBRANA | Мировые новости | Начато производство дисплеев на квантовых точках
22. Кревчик В.Д., Семенов М.Б., Волчихин В.И. Метод контролируемого роста квантовых точек в системе совмещенного асм/стм