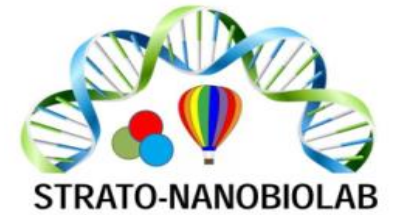


SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE
CZ/FMP.17A/0436



Kvantové tečky a jejich využití v bioanalýze

Jiří Kudr

Datum: 9.4.2015

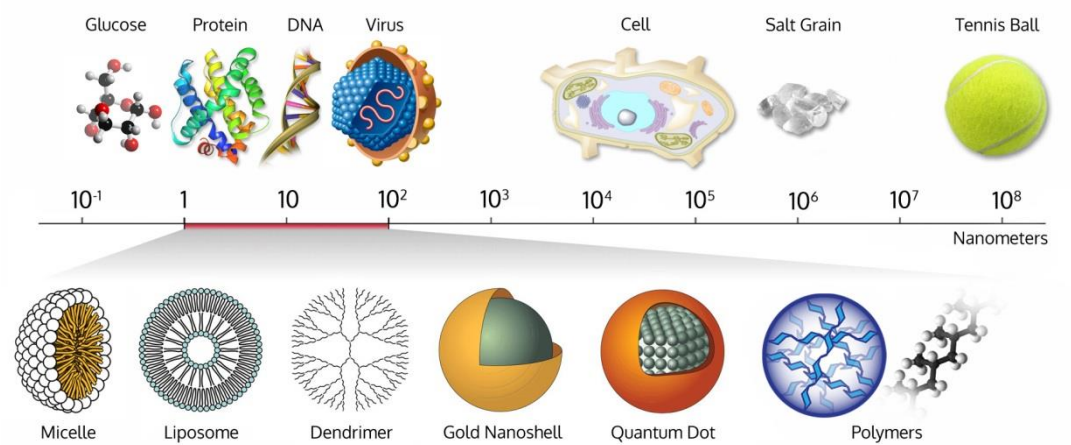
Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o, Vsetínská 78, Valašské Meziříčí ,



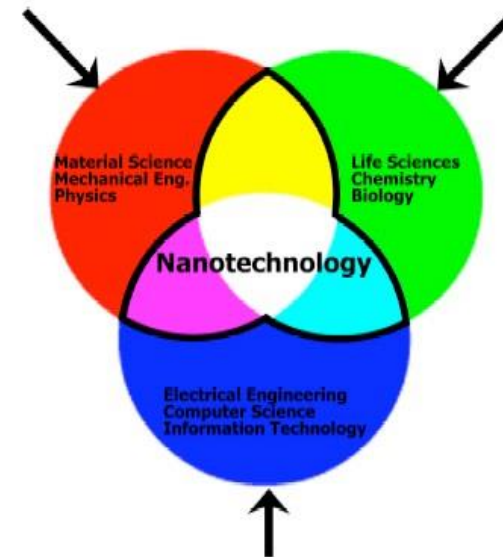
FOND MIKROPROJEKTŮ

Nanotechnologie...

☐ vědní obor zabývající se vytvářením a využíváním struktur materiálů v měřítku několika nanometrů



☐ v současnosti nalézají uplatnění v mnoha oblastech vědy, techniky a běžného života



Nanočástice v historii

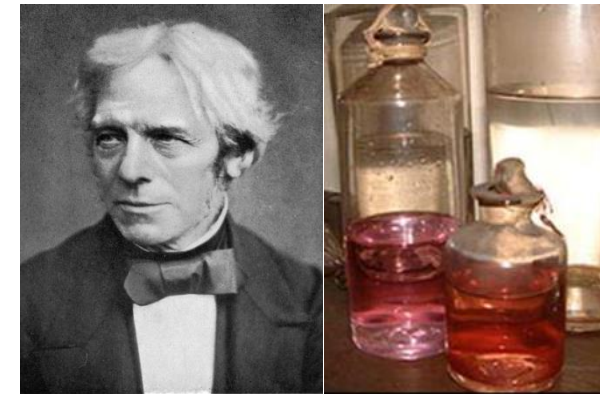
- ❑ skláři využívaly kovové prášky k barvení



Lykurgovy poháry (4. století n. l.)

- ❑ Faraday prováděl první experimenty s nanočásticemi zlata (polovina 19. století)

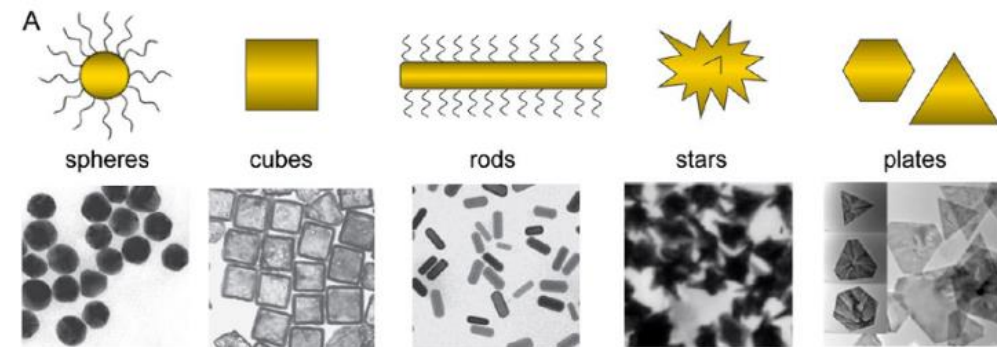
- ❑ 1959 Richard Feynman představil přednášku s názvem: „There's plenty of room at the bottom“.



Michael Faraday a jeho zlaté nanočástice.

Co jsou kvantové tečky (QDs)?

- polovodičové krystaly o velikosti 1- 10 nm
- jsou většinou sférické, ale i krychlové, tyčinkovité aj.



- nejčastěji se jedná o sloučeniny prvků z II. a VI. skupiny prvků (CdTe, CdSe, CdS, ZnSe ...) a III. a V. skupiny (InP, InAs ...)

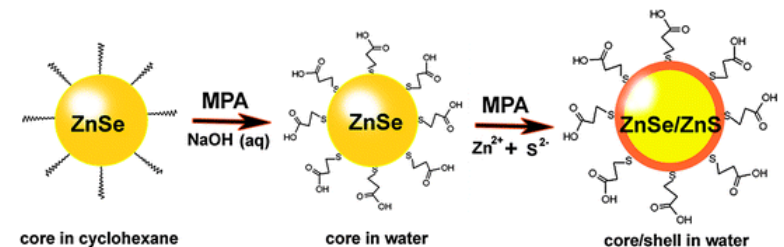
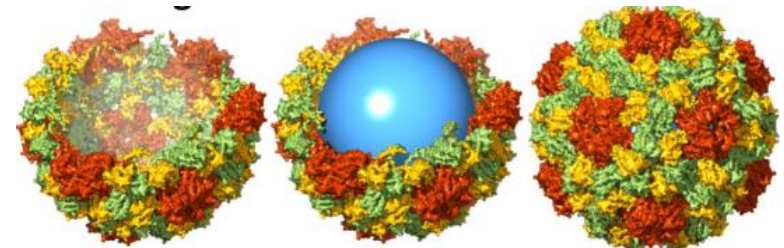
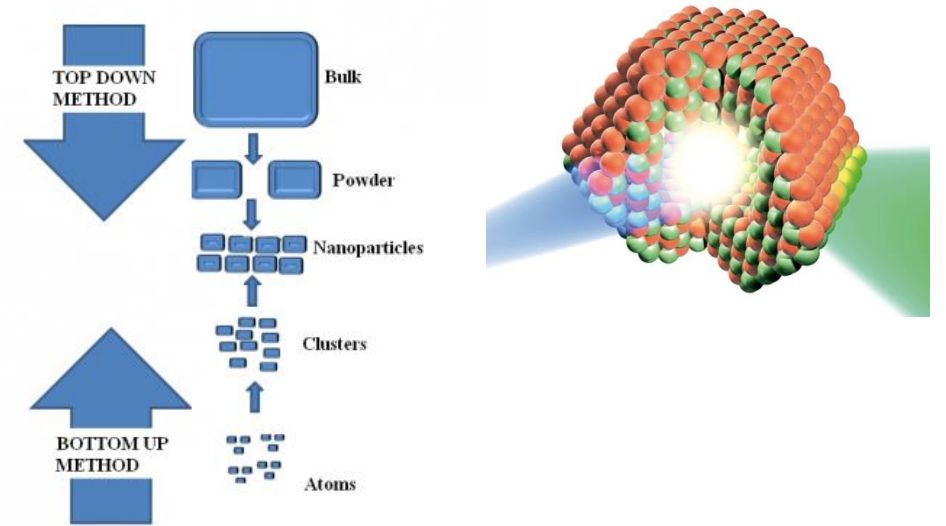
- Uhlíkové kvantové tečky vynikají svoji biokompatibilitou.

Periodic Table of the Elements

The periodic table is color-coded by groups: Alkali Metal (pink), Alkaline Earth (orange), Transition Metal (yellow), Semimetal (light green), Nonmetal (green), Semi-Metal (blue), Noble Gas (purple), Lanthanide (light blue), and Actinide (dark blue). Arrows point to groups 13, 14, 15, and 16, which correspond to the elements mentioned in the text: III, IV, V, and VI groups.

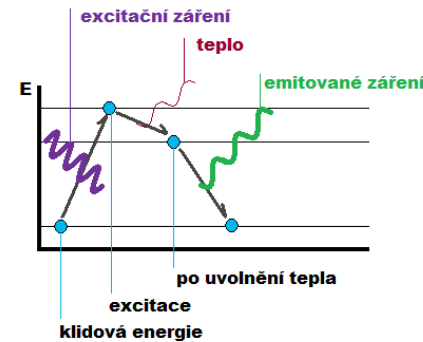
Syntéza kvantových teček

- 4 základní kroky: syntéza jádra, růst obalu, rozpuštění ve vodě a biomolekulární konjugace
- top-down metoda – rozdílné velikosti částic, defekty v krystalické struktuře, špatné optické vlastnosti a opakovatelnost
- bottom-up metoda – umožňuje kontrolovat velikost vznikajících částic
- vždy je nutné zabránit agregaci vzniklých nanočástic
- core-shell (vrstevnaté) kvantové tečky

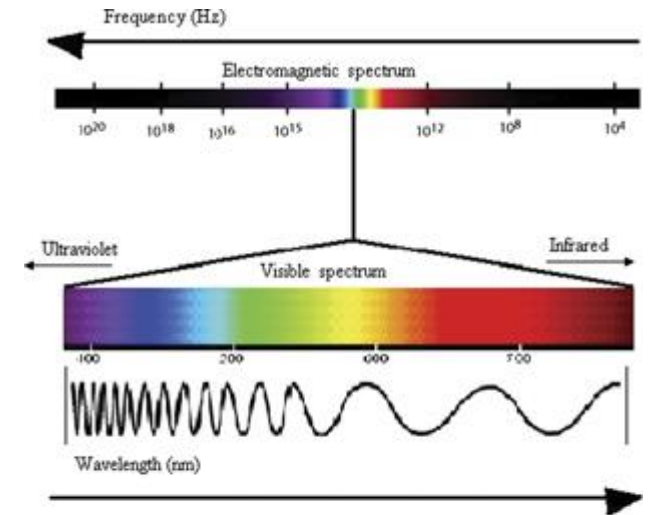


Vlastnosti kvantových teček

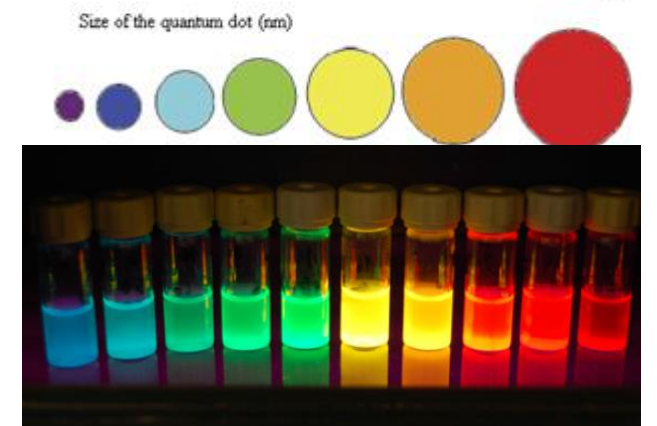
□ velké krystaly vs. nanokrystaly – vlastnosti ovlivněné velikostí



□ unikátní optoelektronické vlastnosti



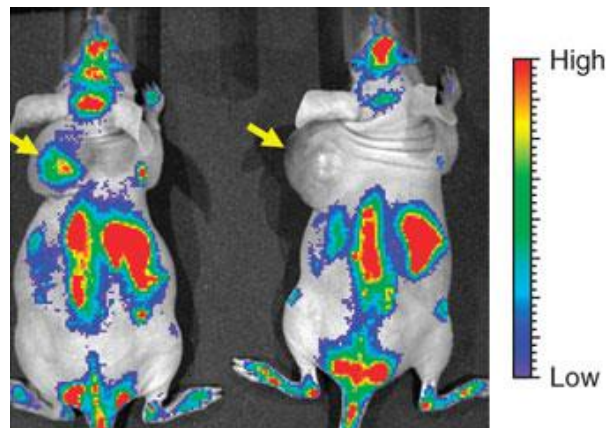
□ vykazují fluorescenci



Využití kvantových teček

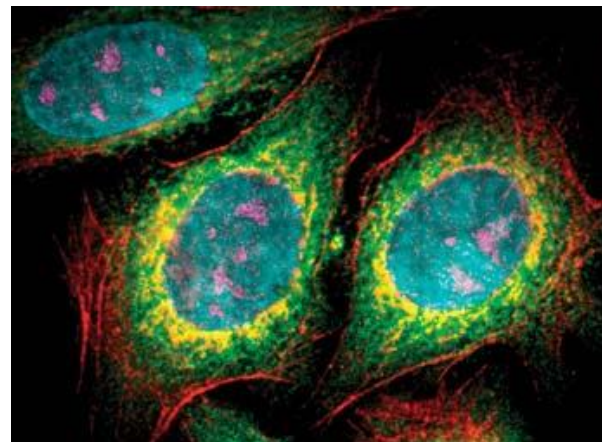
□ slouží především jako optické značky pro :

zobrazování



Zobrazení nádoru *in vivo*.

detekci – konstrukce nanosenzorů



Zobrazení buněčných struktur

In vivo zobrazování

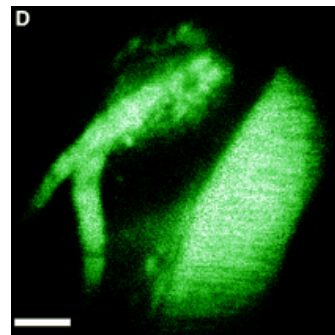
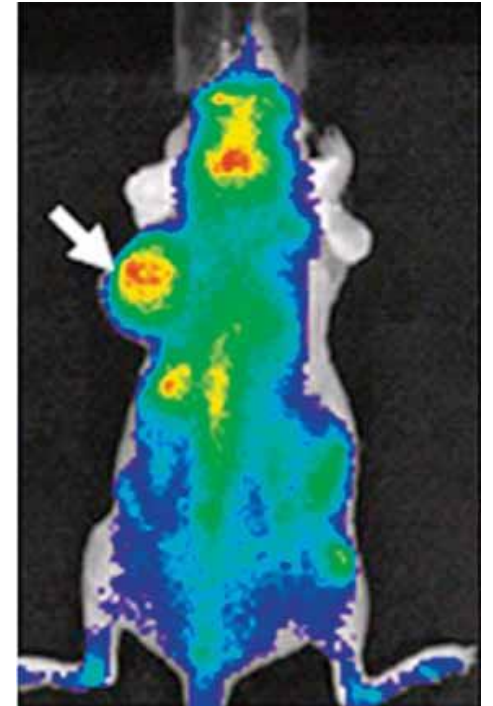
❑ komplikacemi je autofluorescence tkání a špatný průchod světla tkáněmi

❑ NIR region v použitelný

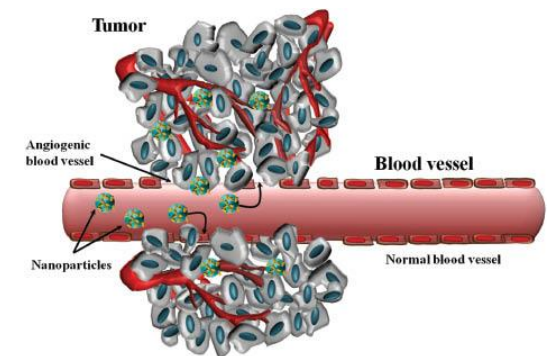
❑ necílené vs. cílené zobrazení

❑ pasivní cílení na tumory (využívá se efekt zesílené permeability a retence EPR)

❑ zobrazení cévní soustavy



Kapiláry 2mm pod povrchem mozku (měřítko 10 μm)



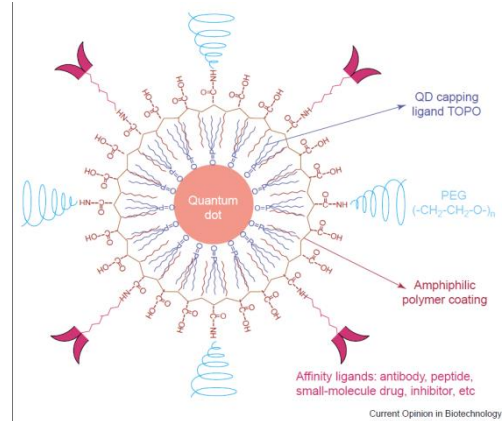
In vivo zobrazování

☐ k cílenému zobrazování se QDs modifikují:

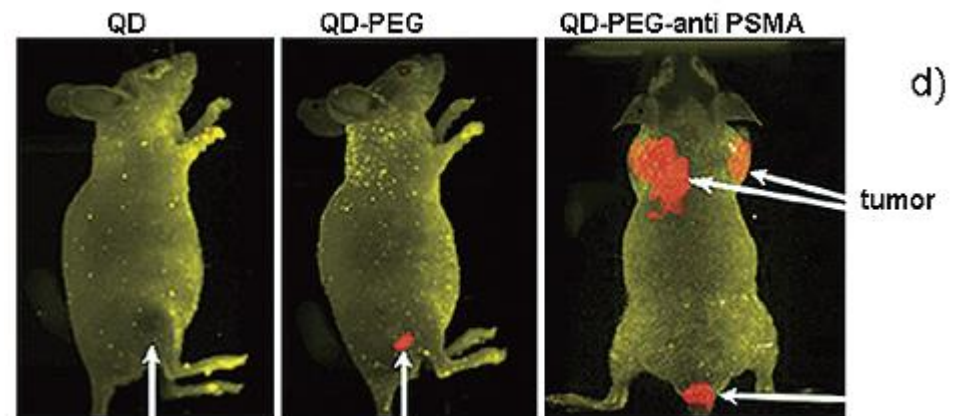
ligandy

protilátkami

peptidy



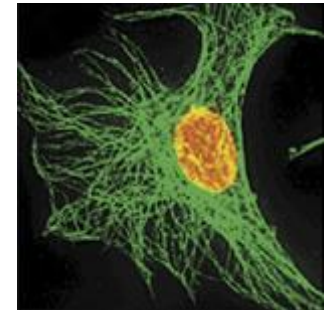
Obecná struktura cílené QDs.



QDs cílené na specifický membránový antigen rakoviny prostaty (PSMA).

Zobrazování *in vitro*

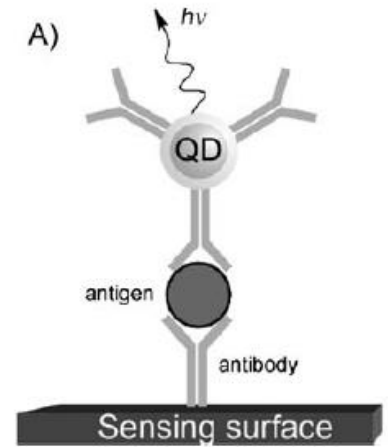
- ❑ umožňuje sledovat dynamiku procesů v buňce
- ❑ QDs s protilátkou se dopravují do buňky endocytózou nebo pomocí modifikace peptidem - PTD (protein transduction domain)
- ❑ cílení na membránové proteiny, lipidy a jiné molekuly – modifikované QDs komerčně vyráběny
- ❑ multiplexing – jednou excitací zobrazeno více molekul



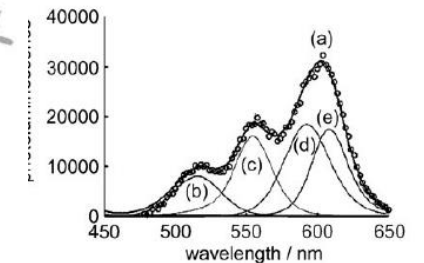
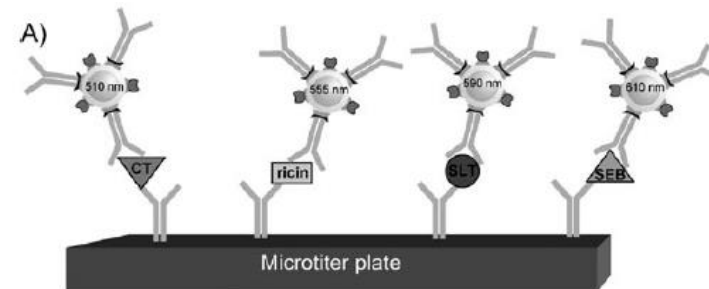
Optické značky pro bioanalýzy

□ QDs se využívají v imunoesejích a analýzách DNA

□ imunoesej = Princip metody je založen na přidání malého množství značené protilátky nebo antigenu k studované směsi antigen-protilátka a stanovení této značené komponenty ve výsledném imunokomplexu.



Fluorescenční analýza antigenu na základě vazby protilátkou značené QDs.



Rozlišení mezi toxinem cholery, shiga-podobným toxinem τ_1 , ricinem a enterotoxinem B (*S. aureus*) pomocí imunoeseje s různými velikostmi QDs.

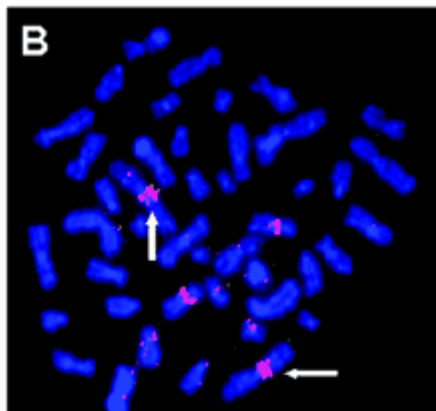
Analýzy DNA

□ využívá se hybridizace mezi cílovou DNA a komplementární sekvencí značenou pomocí QDs

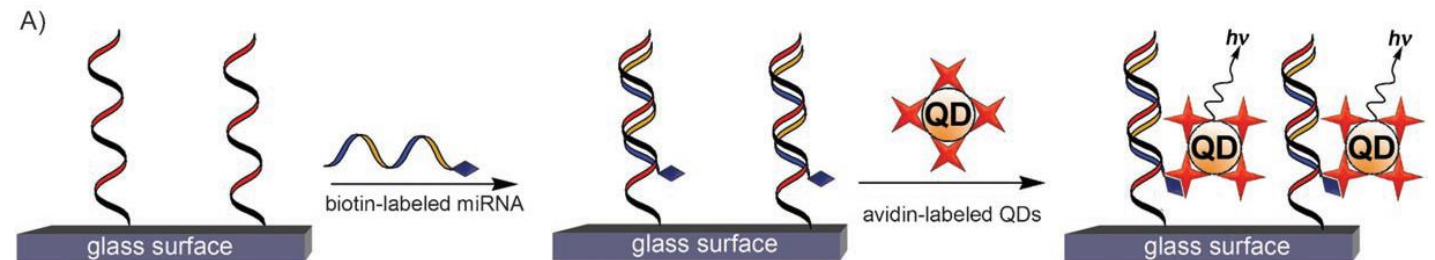
□ FISH – fluorescence *in situ* hybridization

– přímá vizualizace specifických DNA a RNA sekvencí

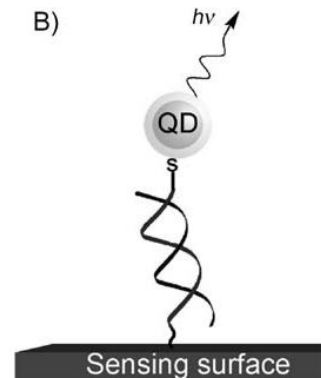
– mapování genů a kvantifikace genových kopií



FISH detekce 1q12 regionu chromosomu pomocí QDs.



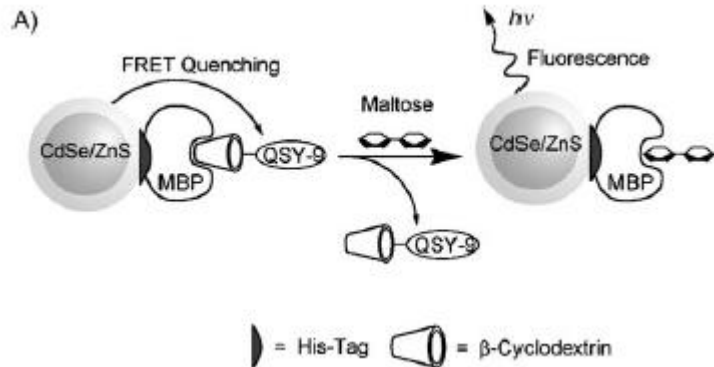
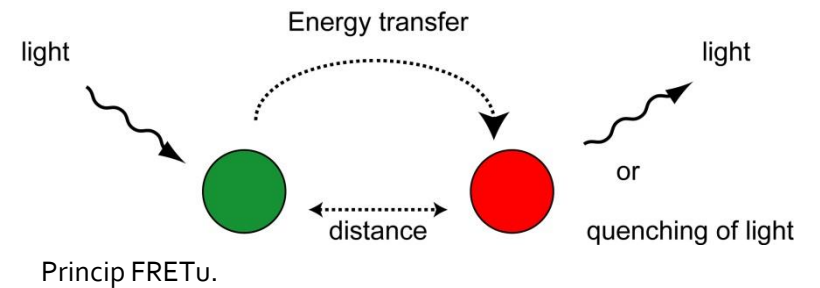
Detekce miRNA pomocí avidinem značené próby a následné ukotvení QDs načené streptavidinem. .



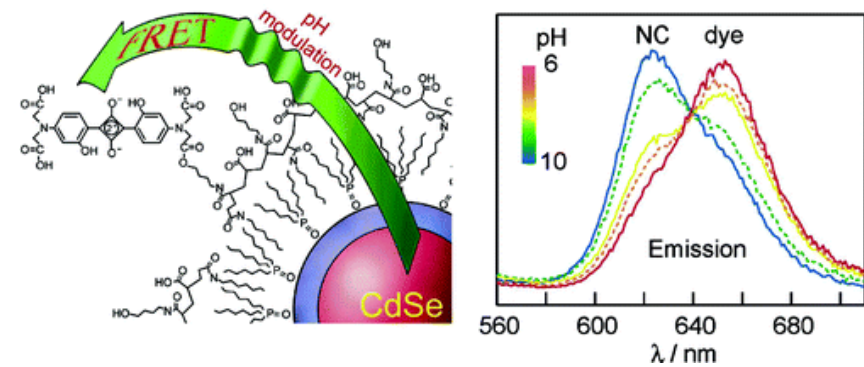
Fluorescenční analýza DNA na základě vazby komplementární próby značené pomocí QDs.

Senzory

- pomocí modifikací lze tvořit komplexní konjugáty s biologickou specificitou a unikátními optickými vlastnostmi
- QDs se stává centrální strukturou, která váže i více biomolekul najednou
- využívá se FRET (Förster resonance energy transfer) = nezářivý přenos energie mezi donorem a akceptorem závislý na jejich vzdálenosti



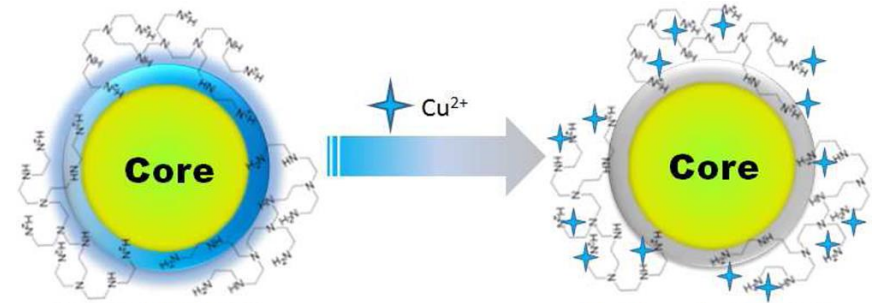
Detekce maltózy pomocí znovunabytí fluorescence po uvolnění zhášejícího barviva.



Fluorimetrická detekce pH pomocí konjugátu QDs a pH citlivého barviva na bázi FRETu.

Přímá interkace QDs a molekul

- přímá interkace s QDs je využívána k detekci iontů (Cu^{2+} , Fe^{3+}), chlóru v pitné vodě, glukózy aj.



Detekce Cu^{2+} pomocí CQDs modifikovanými polyethylenimidem.

- detekce změn biomolekul – poškození DNA pomocí CQDs

Závěr

- ❑ QDs jsou pro bioanalytické metody vhodnější než ostatní barviva.
- ❑ Jejich výhodou je vysoká stabilita, emise závislá na velikosti a nekonečné možnosti povrchových modifikací.

SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE
CZ/FMP.17A/0436



Děkuji za pozornost!



FOND MIKROPROJEKTŮ