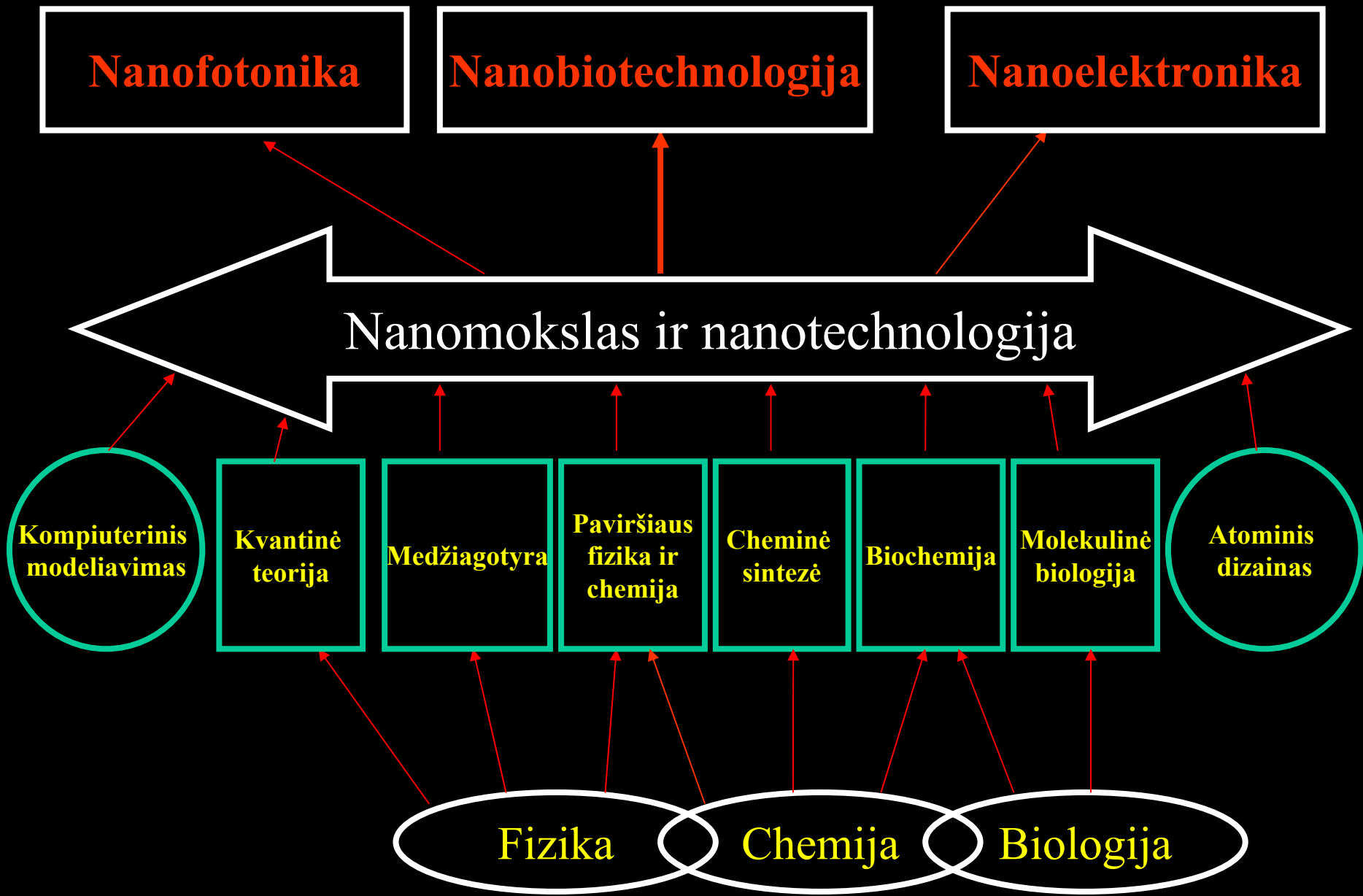


*Nanobiotechnologija: Kvantiniai taškai ir jų taikymas biologijoje ir medicinoje*



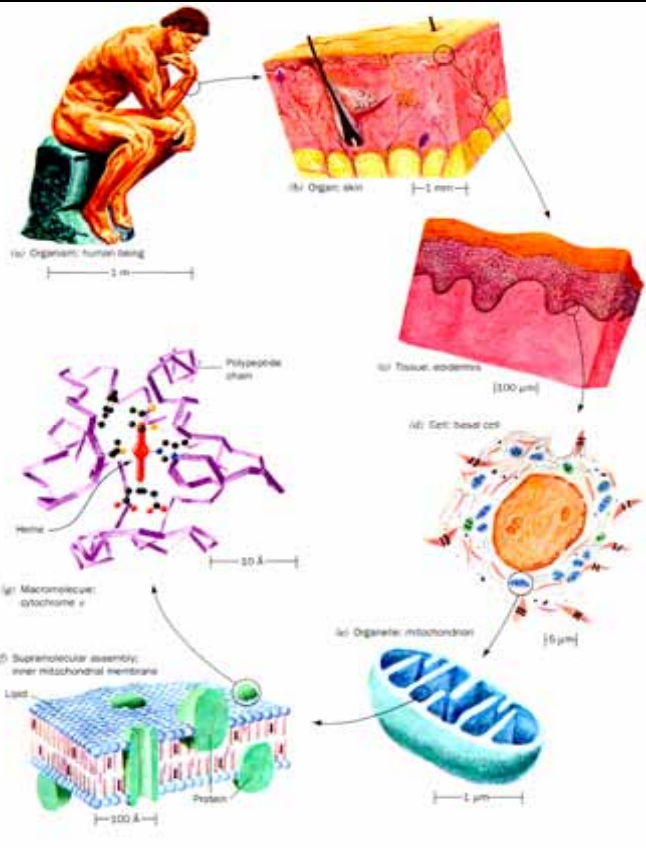
# *Turinys*

- Įvadas į nanobiotechnologija
  - Istorija
  - Puslaidininkiniai kvantiniai taškai
  - Pagrindiniai fizikiniai principai
  - Sintezės mechanizmai
  - Koloidiniai kvantiniai taškai
  - Fotofizikinės savybės
  - Koloidinių kvantinių taškų biokonjugacija
- Kvantinių taškų taikymas biologijoje ir medicinoje

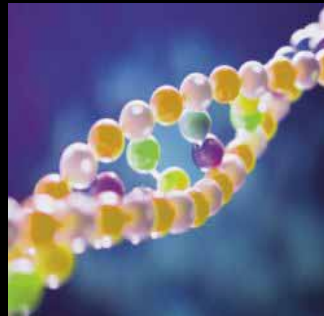


# "Bio" = "Nano" ?

*Kiekvienos organizme esančios ląstelės struktūrą bei funkcijas nulemia nanodydžio dalelės. Gyvybės paslaptis slypi nanodydžio darinių pasaulyje.*

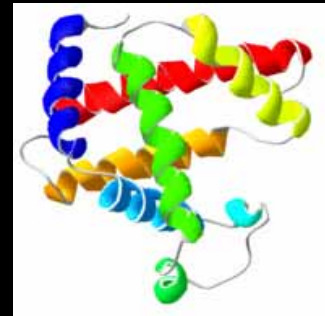


*oligonukleotidas*



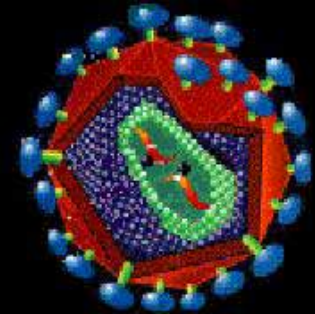
**3nm**

*mioglobinas*



**20nm**

*retrovirusas*

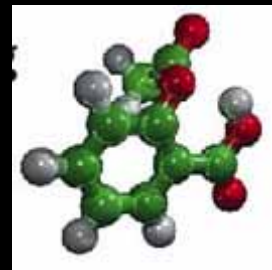
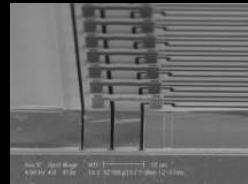
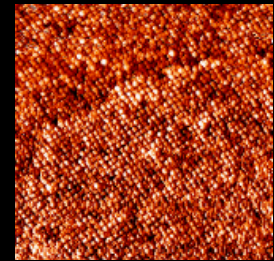


**100nm**

*Jau prieš 3.5 mlrd. metų pirmosiose ląstelėse, kaip ir dabar, veikė nanodydžio molekuliniai "robotai", kurie "nuskaitydami" genuose užkoduotą informaciją kuria gyvus organizmus.*

# Nano-bio sujungimas

- Nanotechnologija pasiūlo biologijai naujas biologinio objekto tyrimo priemones.
- Biologija pasiūlo nanotechnologijai puikias nanosistemas – ląstelių komponentės – ir procesus ląstelės viduje (saviorganizacija).
- “Teisingas” dydis nanobiotechnologijoje
  - Ląstelės dydis (mažiausias gyvybės vienetas) ( $\mu\text{m}$ )
  - Molekulių dinamika ląstelės viduje (nm)
  - Saviorganizacijos procesai (nm)

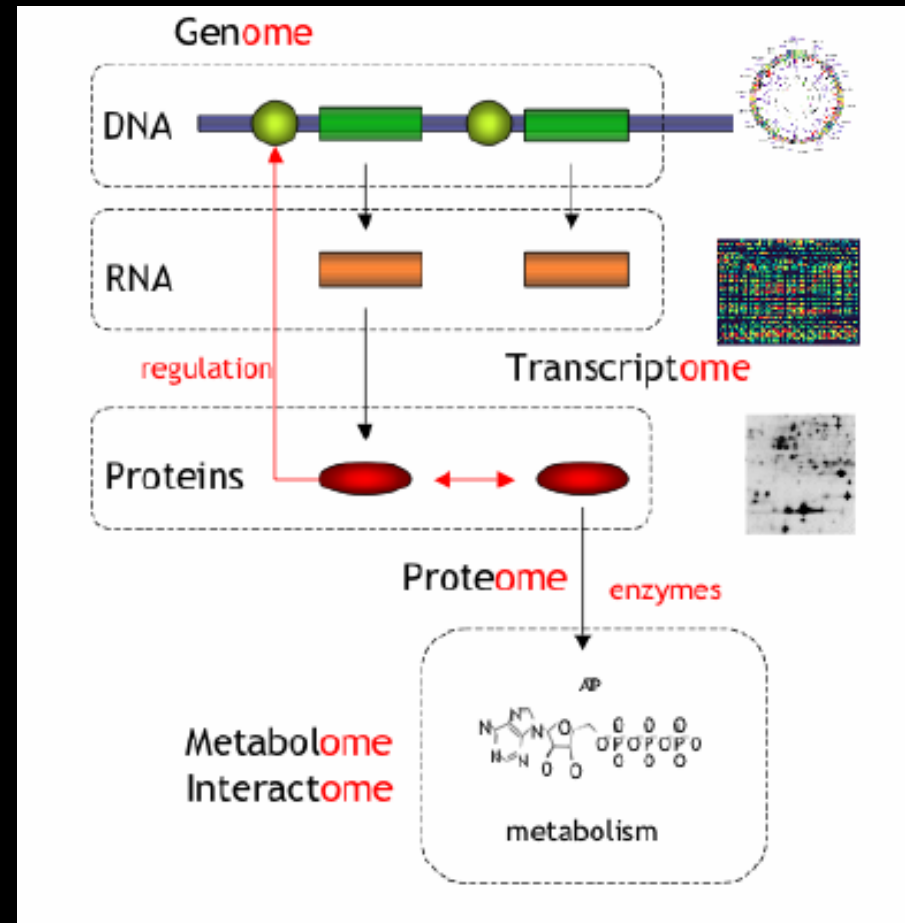




# Kodėl nanobiotechnologija ?

Genomika ir funkcinė genomika stipriai motyvuoti įžengti į nanobiotechnologiją

- Reikalingas detalesnis biologinėje sistemoje vykstančių procesų supratimas (sujungti žinias įvairiuose lygiuose)
- Reikalingas detalesnis supratimas ligų, kurias lemia ne viena priežastis.
- Reikalingas padidinimas specifiškumo ir jautrumo diagnostikoje.
- Reikalingi labiau efektyvus ir labiau nukreipti į taikinius vaistai.



# Nanobiotechnologijos medžiagų ir metodų gausa

## Nano- structures and tools for Biology (Nano -> Bio)

### 1. Nanostructured materials interfaced with bio

- 11 Nanoparticles (0D)
  - 111 Qdots
  - 112 Liposomes
  - 113 nanospheres, nanocapsules
  - 114 Other polymeric systems
  - 114a dendrimers
  - 115 Solid Lipid nanoparticles
  - 116 Inorganic nanoparticles
  - 117 Nanohybrids
  - 118 Nanosuspensions
  - 119 Fullerenes
- 12 Nanotubes – nanowires (1D)
- 13 Nanostructured surfaces (2D)
  - 131 Nanopatterning
  - 132 Surface functionalisation
  - 132a Characterisation tools for surface roughness
  - 133 Biological nanopatterning
- 14 Nanostructured complex architectures (3D)
  - 141 Biomimetic membranes

### 2. Bioanalytics with nanotools

- 21 Electron and ion probes
- 22 TOF SIMS
- 23 Laser techniques
  - 231 laser SNMS
  - 232 laser induced single molecule detection
  - 233 FCS
  - 234 Holographic techniques
  - 235 Ellipsometry
  - 236 Scatterometry
  - 237 SPR
- 24 Proximity probes
  - 241 STM
  - 242 AFM
  - 243 MFM
  - 244 SECPM
  - 245 SNOM
- 25 FEG micr.
  - 251 Optical tweezers
  - 252 Magnetic tweezers

## Biological nanoscale structures (Bio ->nano)

### 3. Bioengineered materials

- 31 DNA-based fabrication techniques
- 32 Self assembly of proteins and peptides
- 33 In vivo fabrication of nanostr.

### 4. Biomimetic systems (molecular motors)

- 41 Linear motors
- 42 Rotary motors

## In vitro integrated devices

### 5. Microarrays and biochips

- 51 DNA chips
- 52 Protein chips
- 52a Glycochips
- 53 Cell on chips
- 54 Tissue on chips
- 55 Lab on chips, μfluidics

## In vivo integrated devices

### 6. In vivo systems

#### 61 Therapeutics/ repairing: drug delivery

- 611 Nanoparticles and carriers
- 612 patches
- 613 Inhalers
- 614 Microneedles

#### 62 Therapeutics/ repairing: implants

- 621 Implantable prosthesis
- 622 Biomaterials for tissue engineered products

#### 63 In vivo diagnosis and monitoring

- 631 Molecular imaging
  - 631a MRI mol imaging
  - 631b Optical mol imaging

#### 632 Implantable monitoring devices

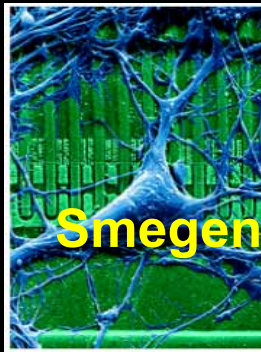
#### 64 Smart pill (diagnosis and delivery)

## Other integrated devices

### 7. Molecular electronics devices

### 8. Energy conversion systems

# Nanomedicina fantastika ar realybė?



Smegenų patobulinimas



Nanorobotai valantys kraujagysles ir plaučius



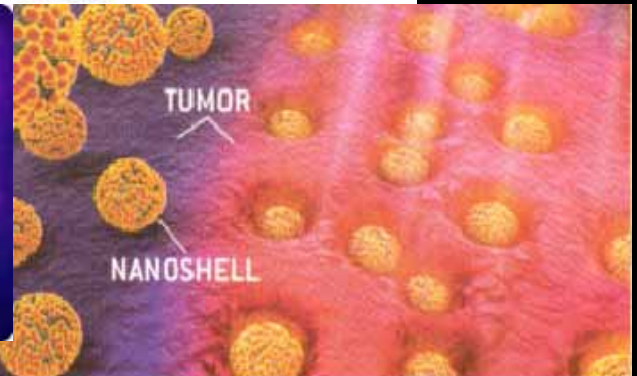
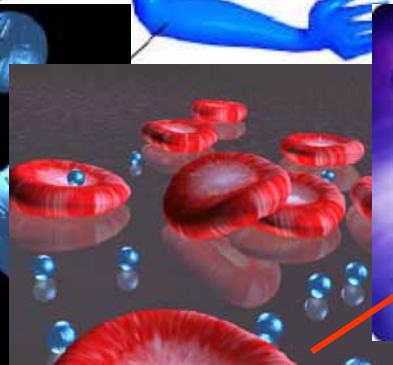
Implantas



Cardio flow and function monitor



Greitas DNR šifravimas



TUMOR

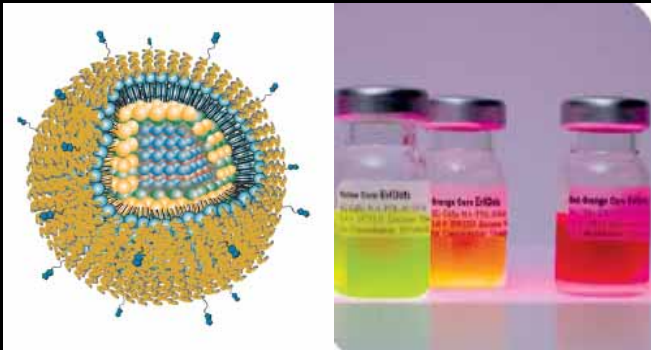
NANOSHELL

Respirocitas – dirbtinis eritrocitas

Vaistų tikslus transportas



# Kvantinis taškas primityvus nanorobotas ?



=

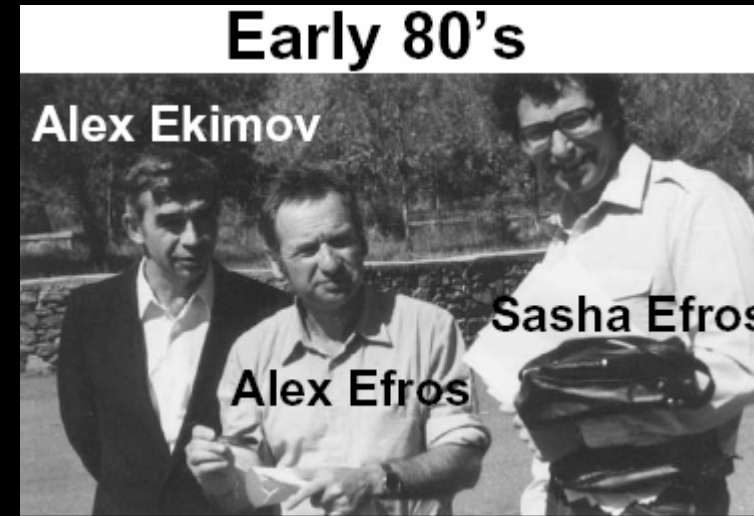
## WE CAN REBUILD HIM



# Istorija

## Koloidinių kvantinių taškų atsiradimo etapai

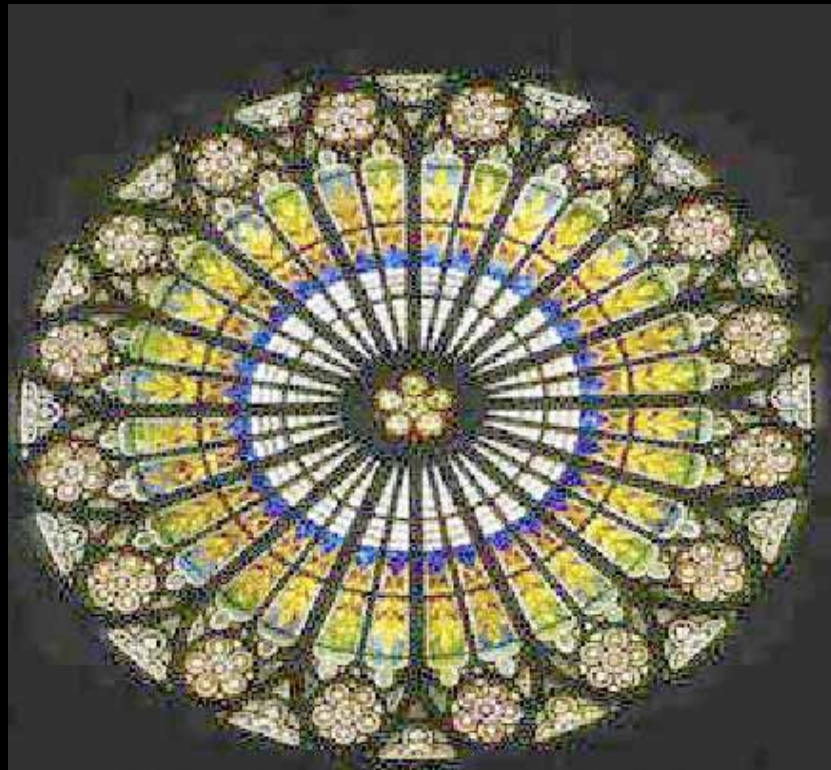
- M. Faradėjus 1857m. darbai su koloidiniu auksu, pirmoji koloidinių kvantinių taškų sintezė.
- 1980m. Teorinis darbas Dr. Ekimov ir Efros (Rusija) bei Dr. Brus iš Bell lab. (Jav) pirma karta nustatė dydžio kvantavimo efektus stikle turinčiame PbS.
- 1982m. Rosetti ir Brus pirmieji kvantinių taškų liuminescencinių savybių tyrimai. Tyrinėjo CdS kvantinių taškų koloidus ir pirmieji pasiūlė CdS dengti ZnS, kadangi pamatė kad ženkliai padidėja fluorescencijos kvantinė išeiga.
- 1989m. Bell Lab. CdS-ZnS kvantinis taškas vandenyje.
- 1993m. Pirmoji aukštos kokybės monodispersinių CdS, CdSe ir CdTe sintezė
- 1995m. Dr. Guyot-Sionnest ir jo studentas Peggy Hines išvystė CdSe padengimo ZnS metodą. Pirmieji pagamino aukštos kokybės CdSe-ZnS kvantinį tašką
- 1996m. Vandenyje tirpių CdTe kvantinių taškų sintezė.
- 1998m. Pirmieji kvantinių taškų taikymai biologijoje.



“Everything new is well forgotten old”

People’s sayings

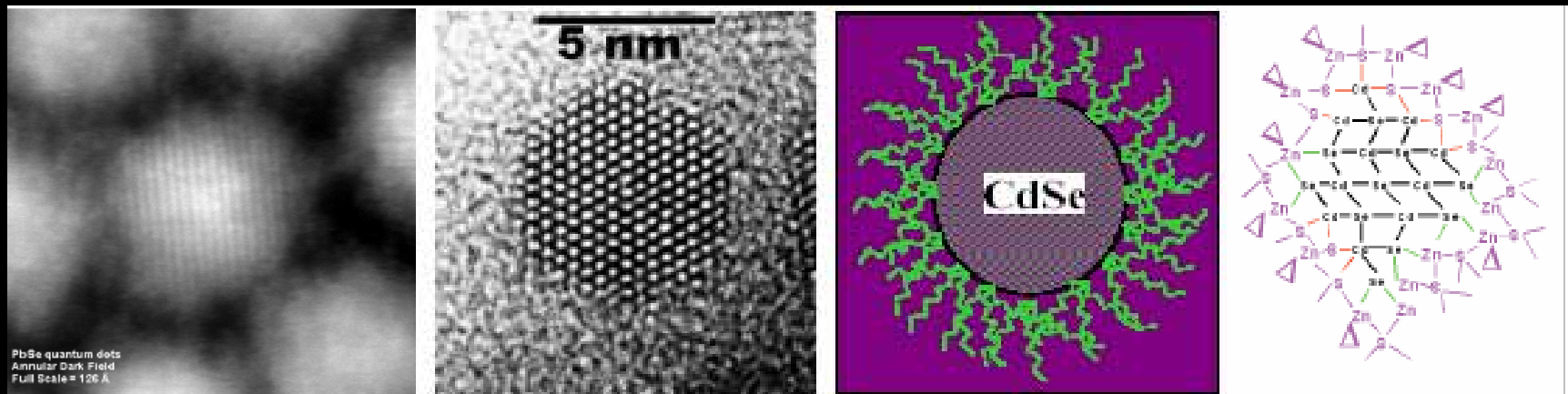
● Atlikus cheminę analizę nustatyta, kad stiklą spalvą lemia stiklo sudėtyje esantys Zn, Cd, S, Se nanokristalitai.



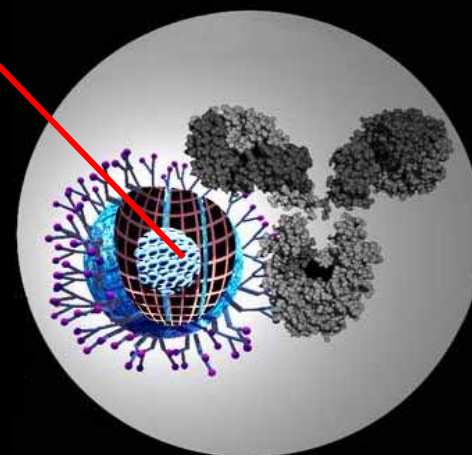
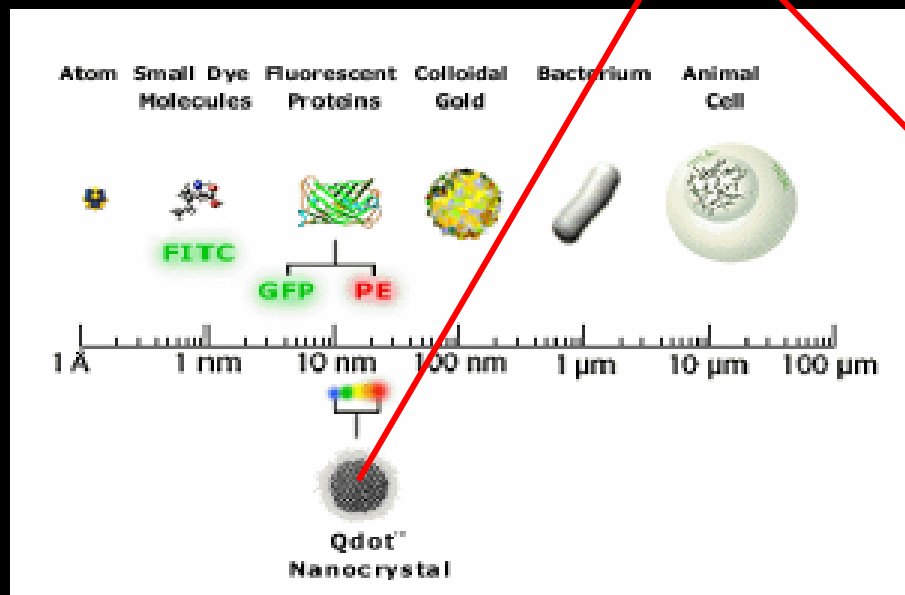
NOTRE DAME CATHEDRAL  
STRASBOURG (XIII-XIV centuries)



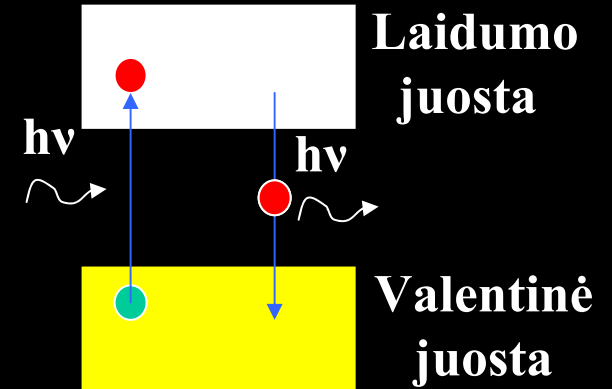
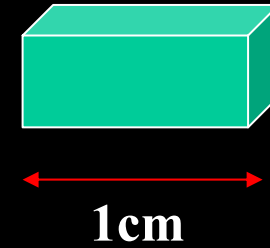
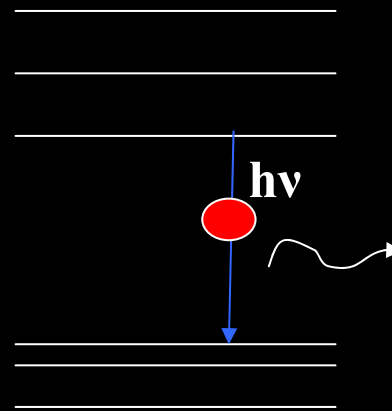
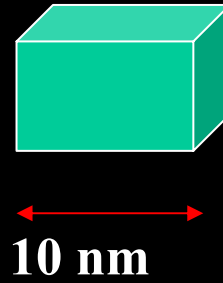
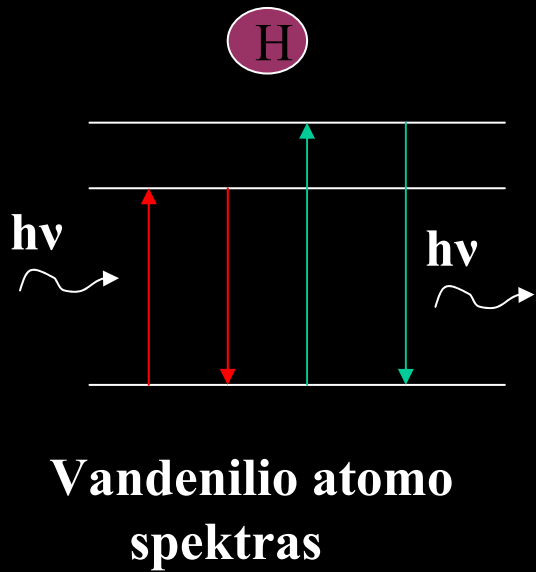
# Puslaidininkiniai kvantiniai taškai



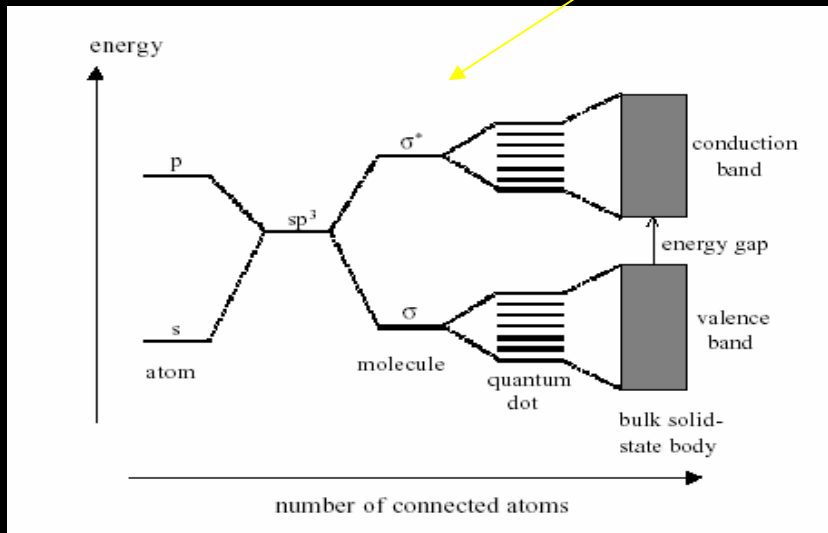
Kvantiniai taškai (QDs) yra neorganiniai puslaidininkiniai kristalai nuo 1 nm iki 10 nm (keli šimtai atomai) skersmens.



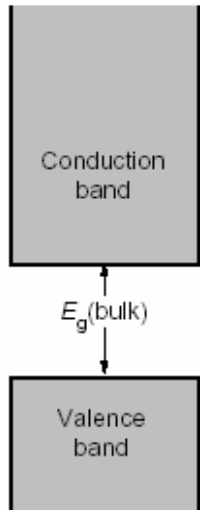




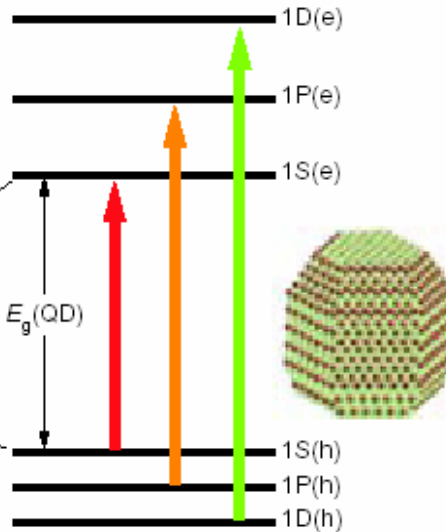
**Puslaidininkinis kristalas**



semiconductor

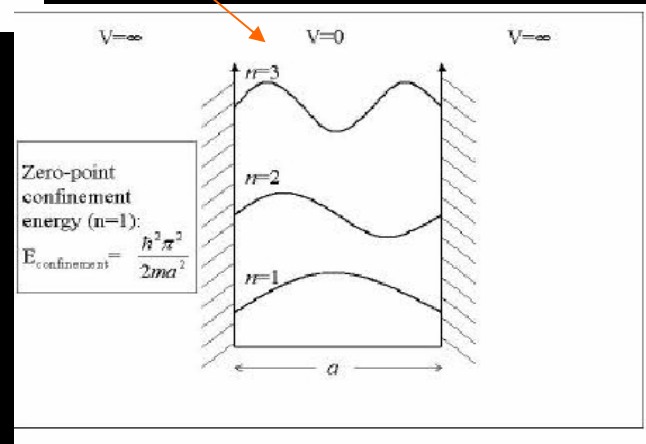
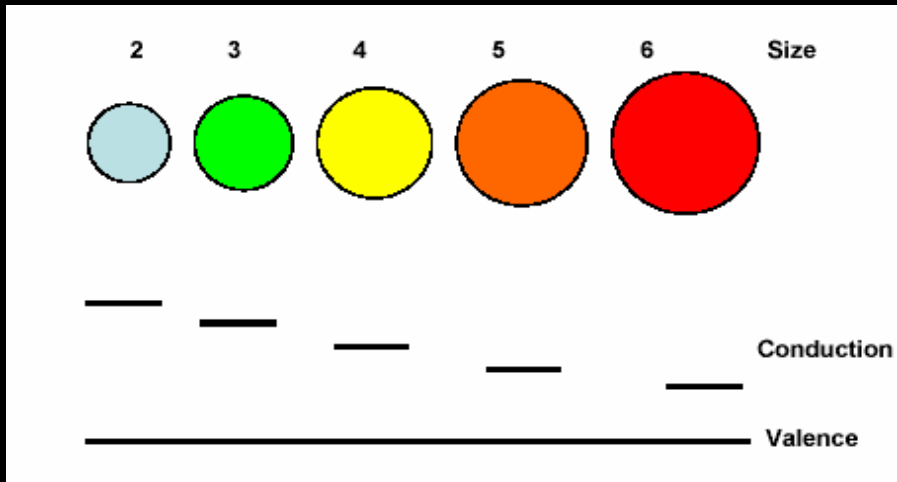


(b) CdSe Quantum Dot (QD)



$$E_g(\text{QD}) = E_{g0} + \frac{\hbar^2 \pi^2}{2m_{eh} R^2}$$

$$m_{eh} = \frac{m_e m_h}{m_e + m_h}$$



# *Sintezės mechanizmai*

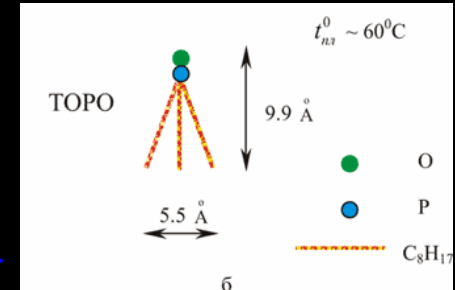
- **Litografijos metodai**
- **Epitaksiniai metodai (skystinė epitaksija, dujų epitaksija, molekulinio pluoštelio epitaksija)**
- **Nanotechnologiniai metodai (surinkimas su AFM)**
- **Koloidų chemijos metodai**

# • Koloidų chemijos metodai

## • Tirpalai

A. TOPSe(tris-n-oktilfosfinas)

B.  $(\text{CH}_3)_2\text{Cd}$  (kadmio dimetilas)



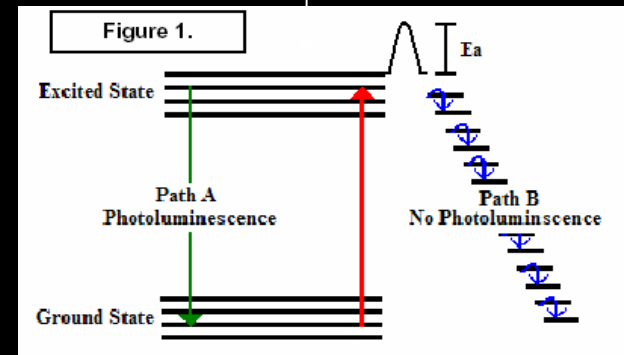
tris-n-oktilfosfinoksidas

TOPO  
šildome iki  
 $360^\circ$

A+B

CdSe

Paviršiaus defektai





# Kam reikalinga paviršiaus modifikacija?

1. Apvaskalas gali pakeisti nanodalelės kruvį, funkcionalumą ir paviršiaus reaktyvumą.
2. Apvaskalas padidina stabilumą ir dispersiškumą koloidinio branduolio.
3. Keičiant apvaskalą galima keisti nanodalelės optines, magnetines ir katalitines funkcijas.
4. Apvaskalas taip pat apsaugo branduolį nuo oksidacijos atakuojant įvairiais oksidatoriais.

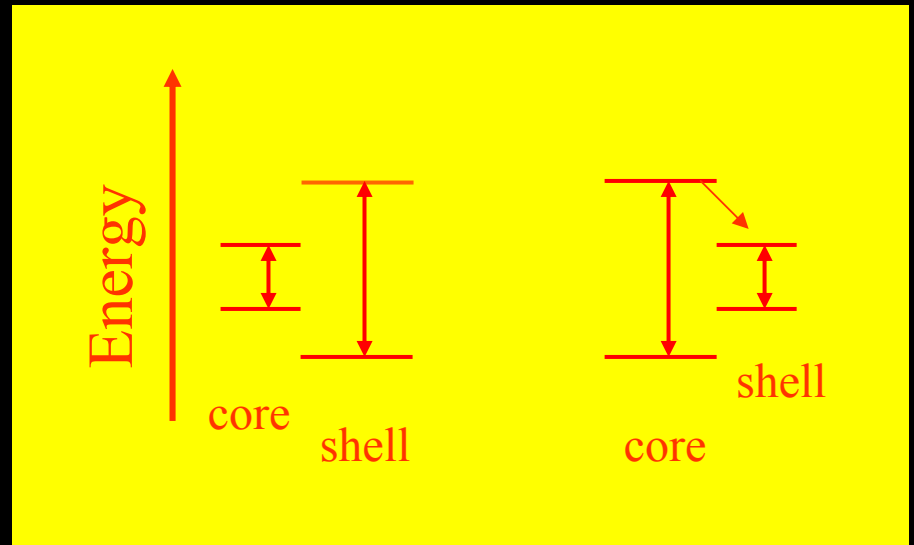
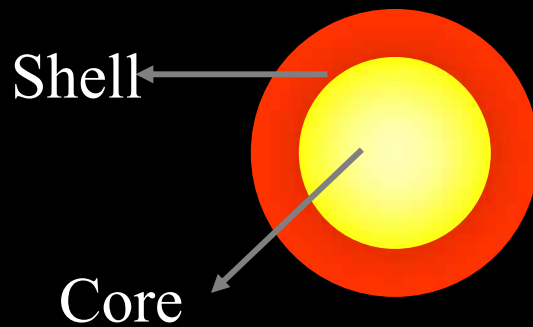
# Branduolys-apvalkalas kvantinių taškų tipai

- Metalas-Polymeras
- Metalas-Metalas
- Puslaidininkis- Puslaidininkis
- Puslaidininkis-Metalas
- Metalas - Puslaidininkis

# Puslaidininkis - puslaidininkis

Optinės savybės

Padidėja fluorescencija

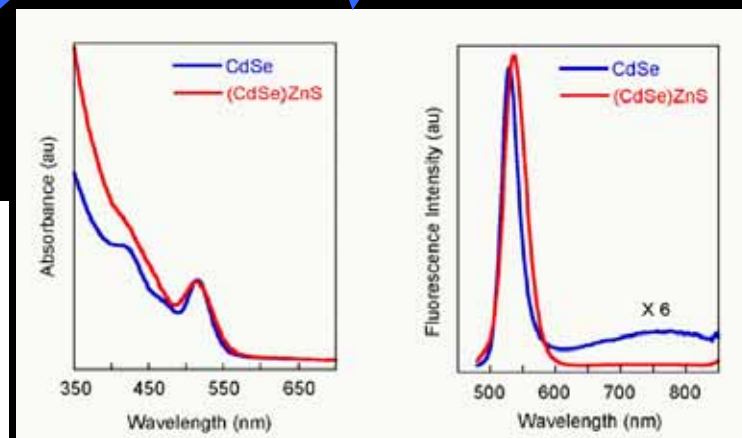
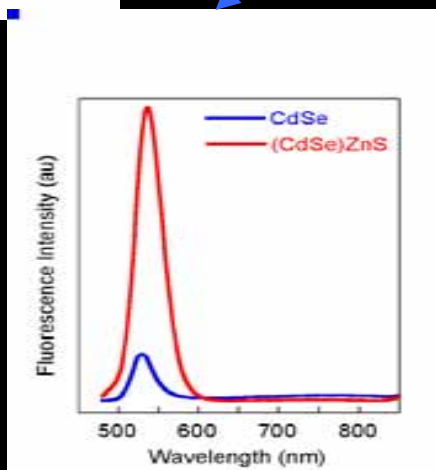
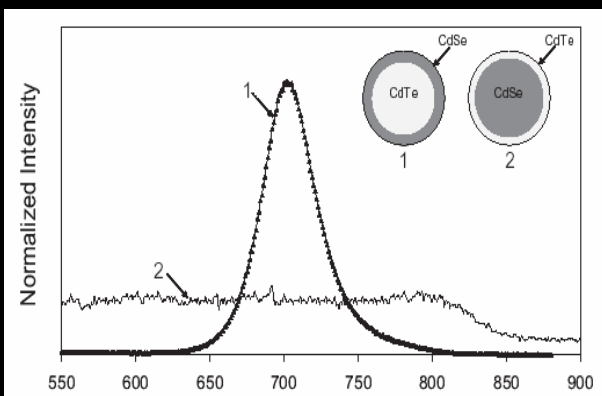
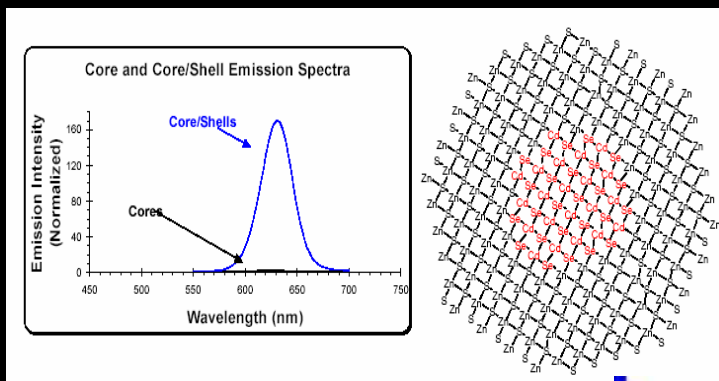
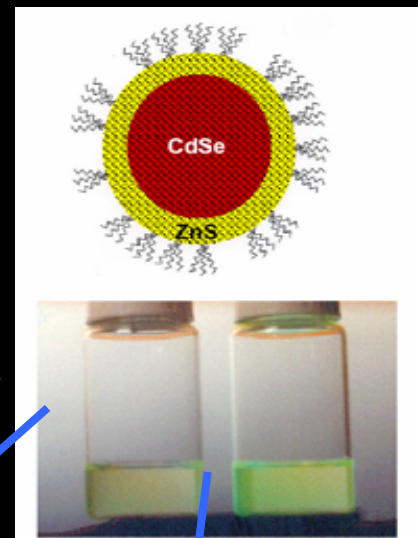
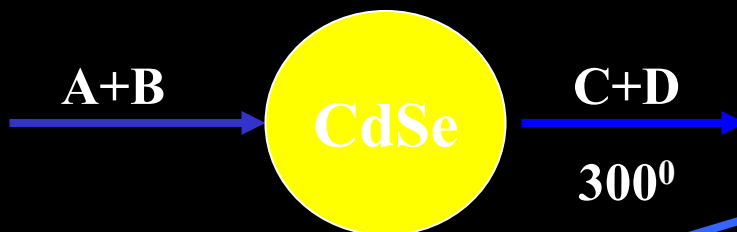


- Tirpalai

C. Bis (trimetilsilil)sulfidas(TOP)

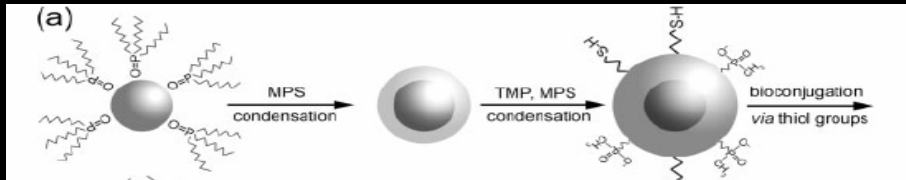
D.  $(\text{CH}_3)_2\text{Zn}$  (cinko dimetilas)

TOPO  
šildome iki  
 $360^\circ$

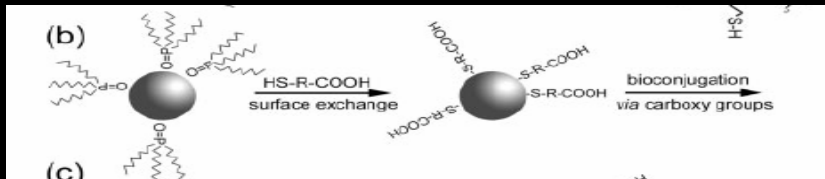




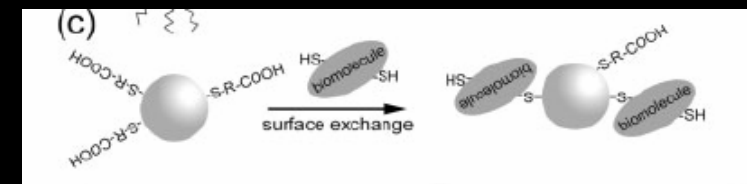
# • Paviršiaus modifikacija ir biokonjugacija



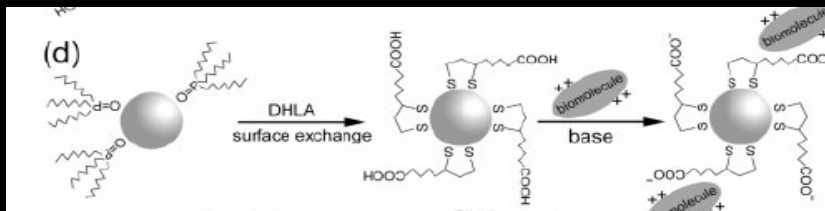
padengimas  
silicio apvaskalu



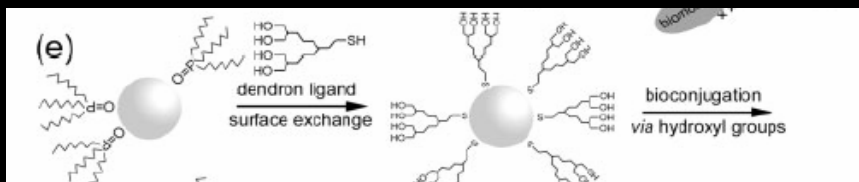
bifunkcionalinių grupių  
adsorbcija



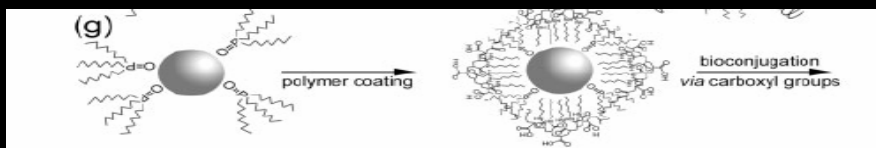
tiolinių biomolekulių  
adsorbcija



konjugacija elektrostati-  
sąveikų dėka



Stabilizacija ir  
konjugacija naudojant  
organinius dendrimerus

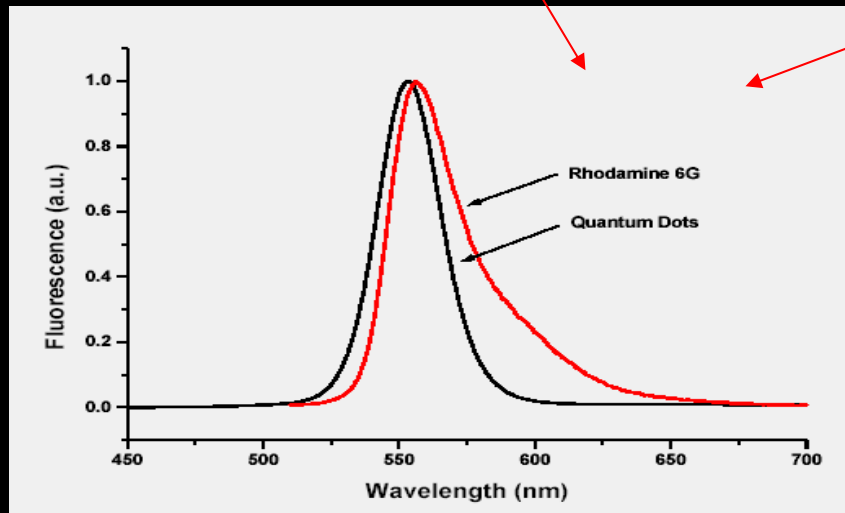
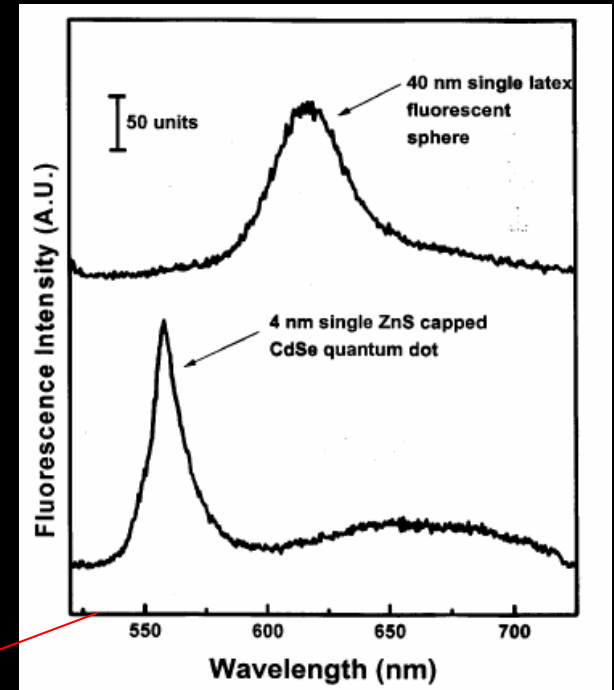
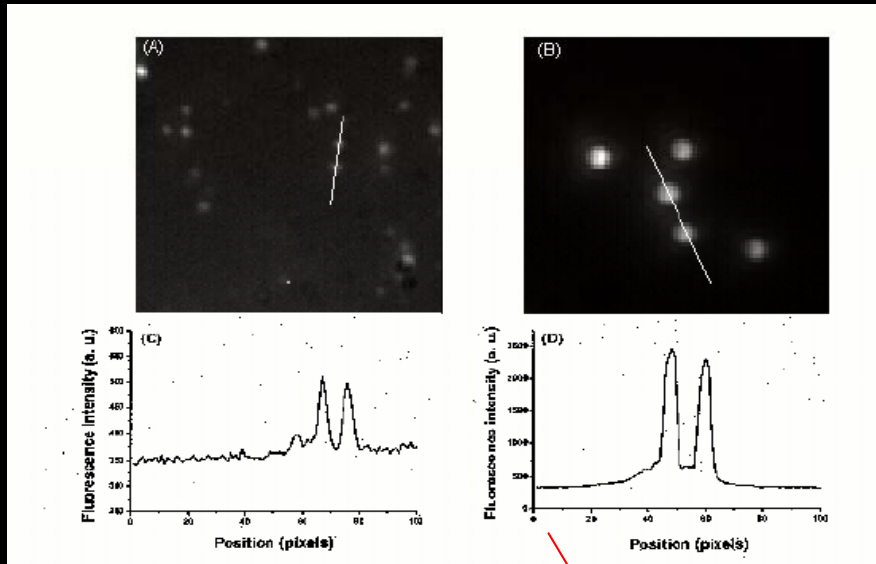


padengimas polimeru

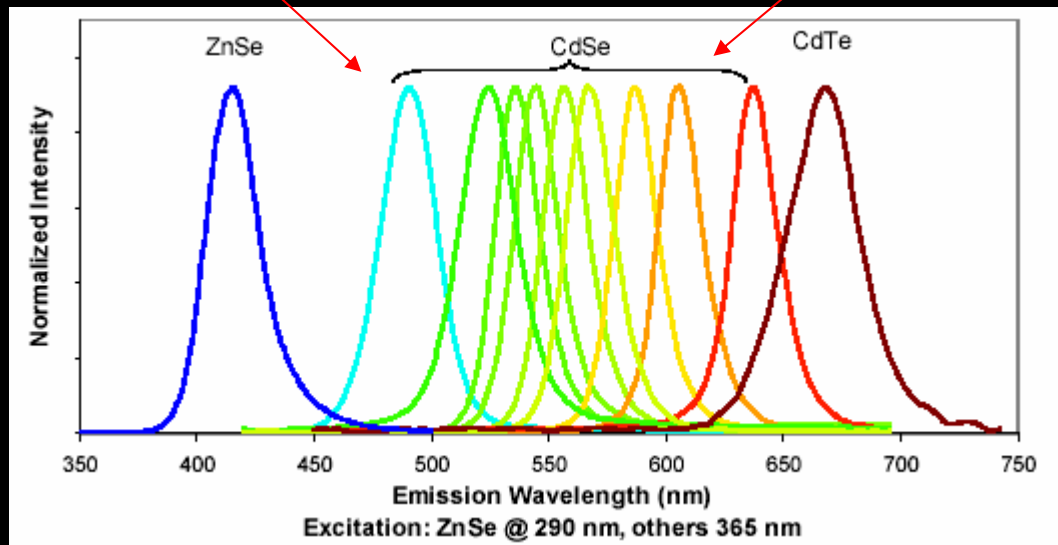
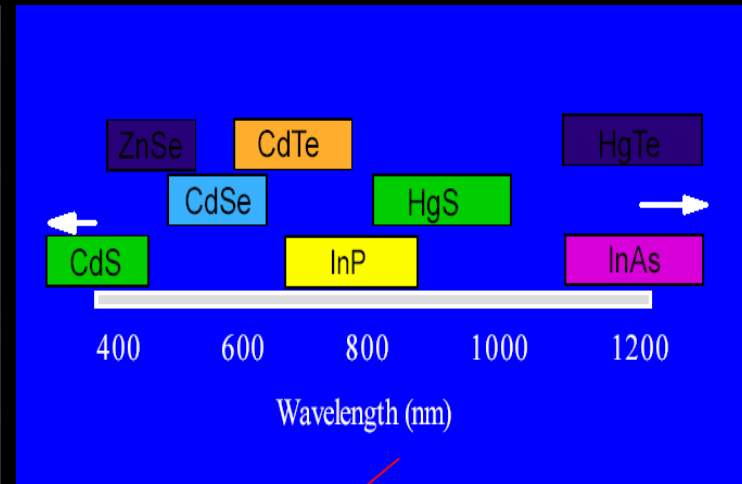
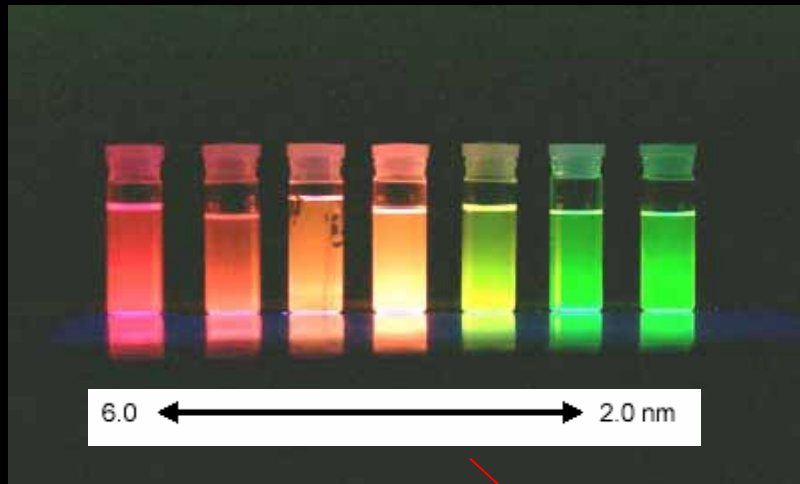
## • *Fotofizikinės savybės*

- *Platus sugerties spektras*
- *Didelė fluorescencijos kvantinė išeiga ( apie 80%)*
- *Pakankamai didelis fotostabilumas*
- *Siauras Gauso pavidalo fluorescencijos spektras*
- *Nuo dydžio bei medžiagos priklausomas fluorescencijos spektro diapazonas*
- *Lengvai modifikuojamas paviršius*

# Fotofizikinės savybės

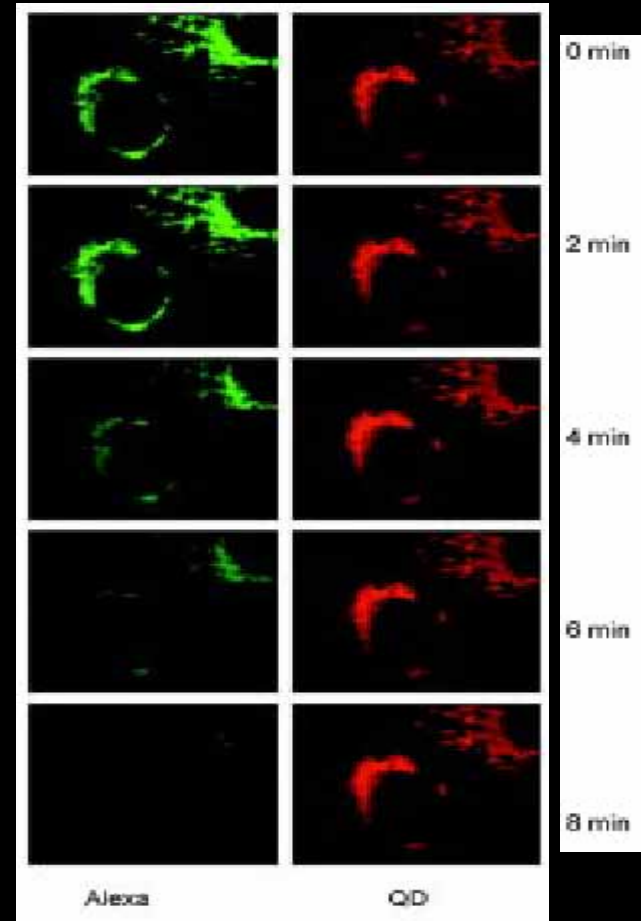
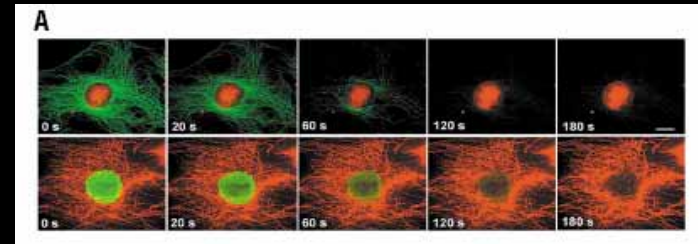
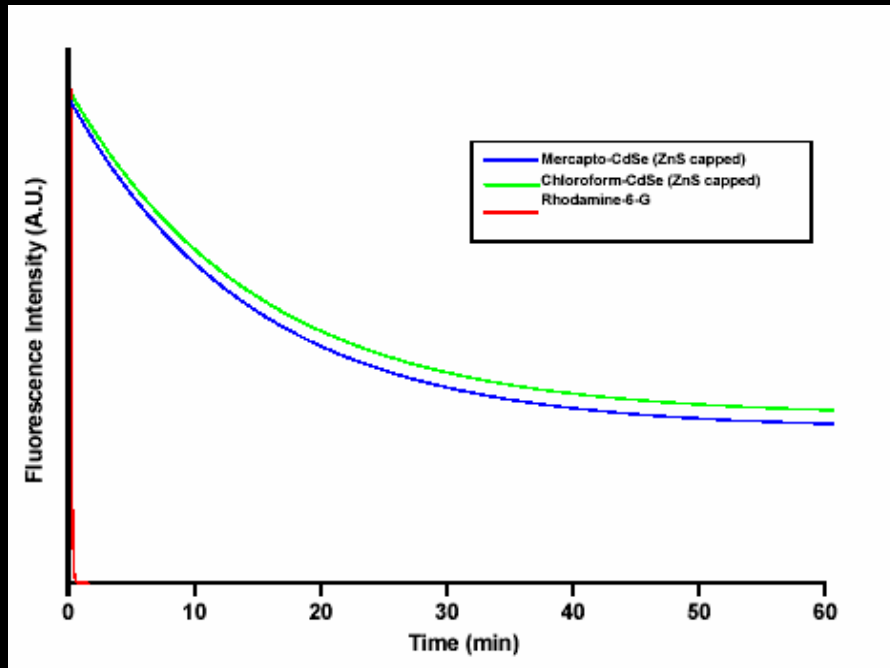


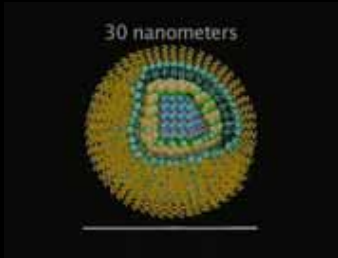
# Fotofizikinės savybės





# Fotofizikinės savybės





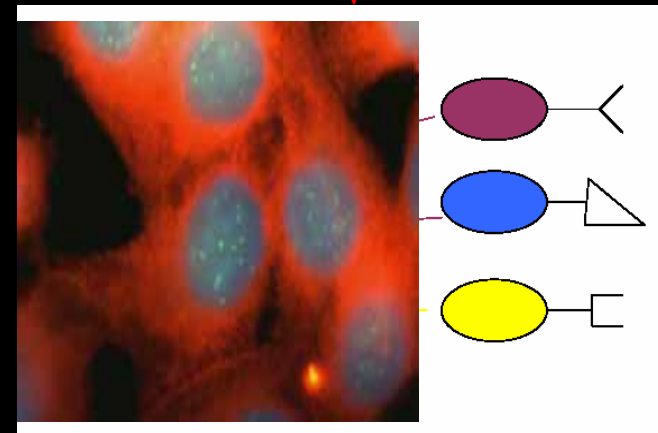
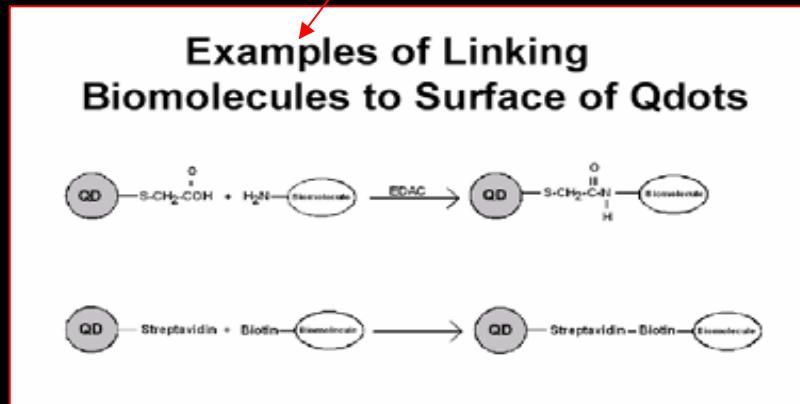
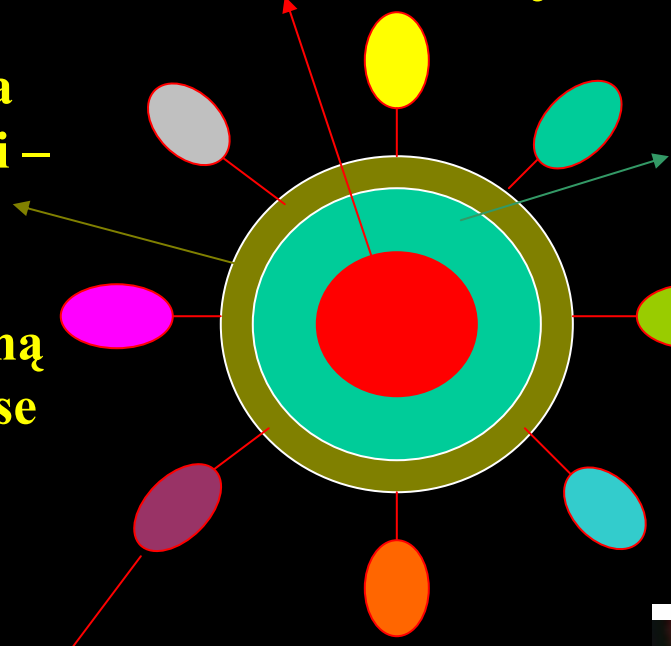
**Branduolys (CdS, CdSe, CdTe ir t.t) –  
nulemia fluorescencijos diapazoną.**

**Apvalkalas (ZnS) –  
ženkliai padidina ryškumą.**

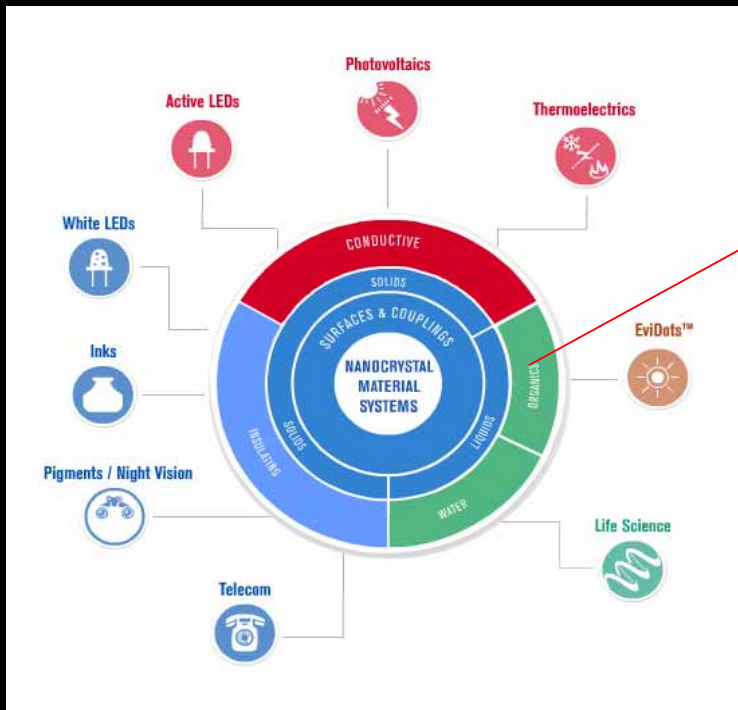
**Polimerinė danga  
arba kiti ligandai –  
suteikia  
nanokristalui  
stabilumą ir tirpumą  
vandenyje ir kituose  
buferiuose.**

**Funkcinės biomolekulės:**

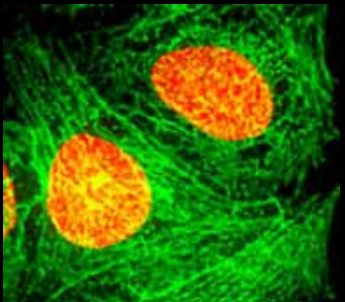
- Antikūnai
- Biotinas, streptavidinas
- Oligonukleotidai



# Puslaidininkinių kvantinių taškų taikymas biologijoje ir medicinoje

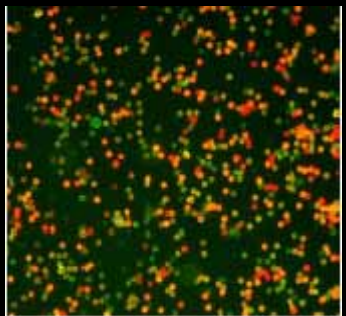


Biologiniai žymekliai



- Fluorescencinė mikroskopija
- DNR čipai
- Imunologinė analizė
- Tėkmės citometrija

Kvantinių taškų mikrosferos



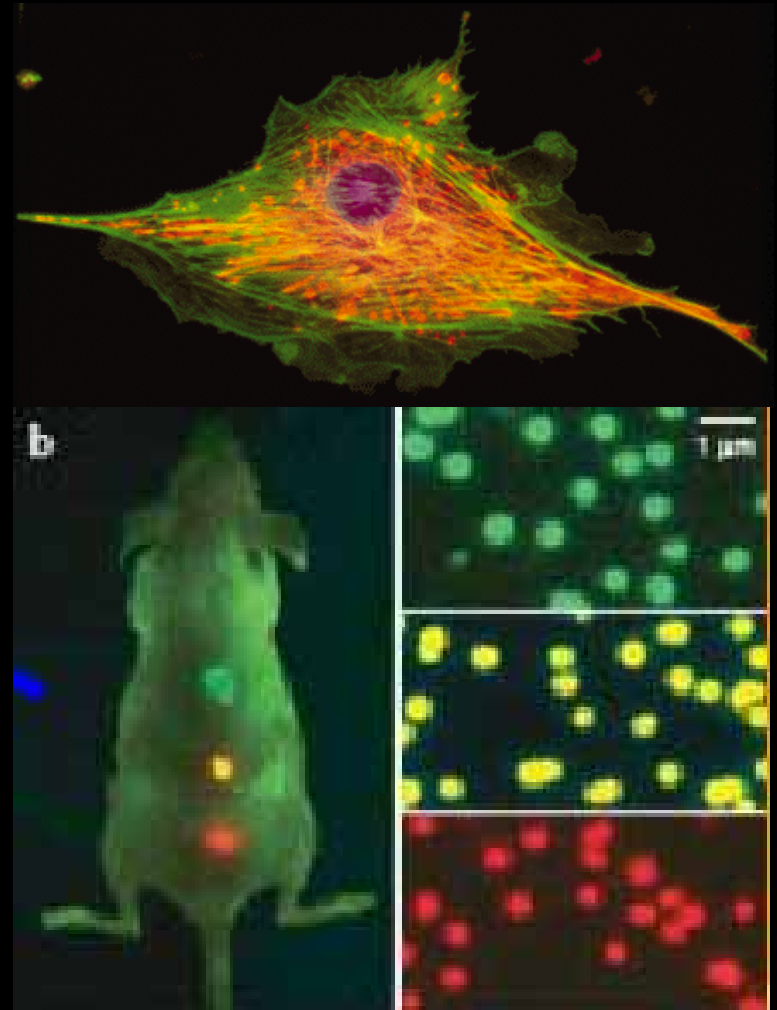
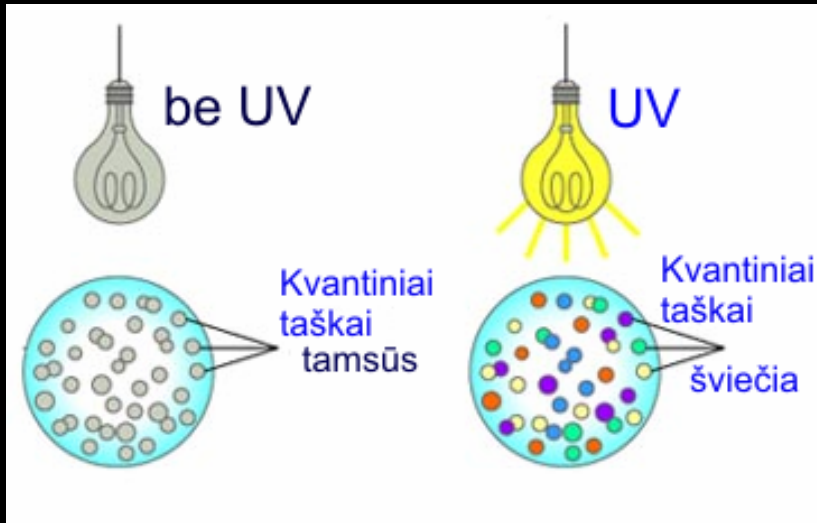
- Sudėtingos analizės pagrindas:
- Proteomika
  - Genų ekspresija

In vivo vaizdinimas

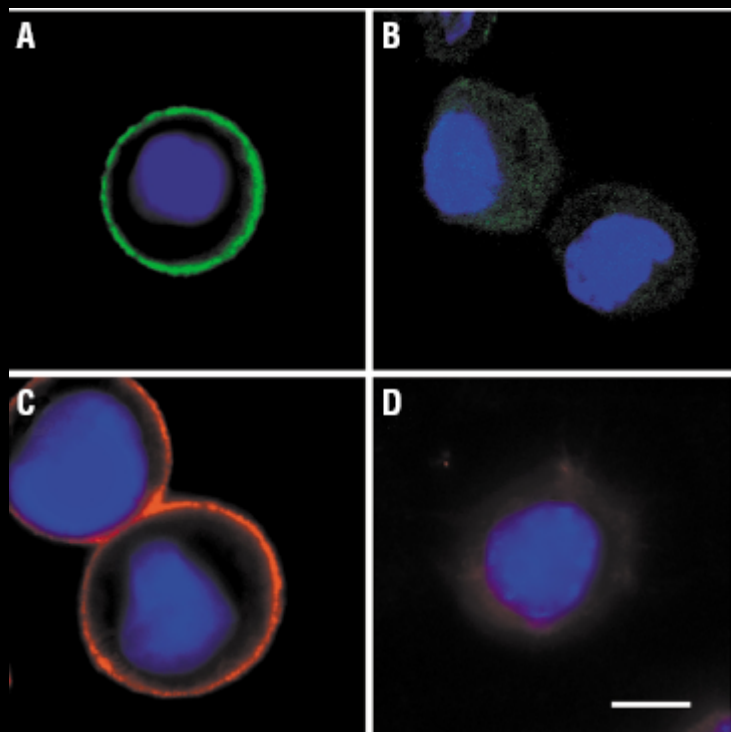


# Nanomedicina

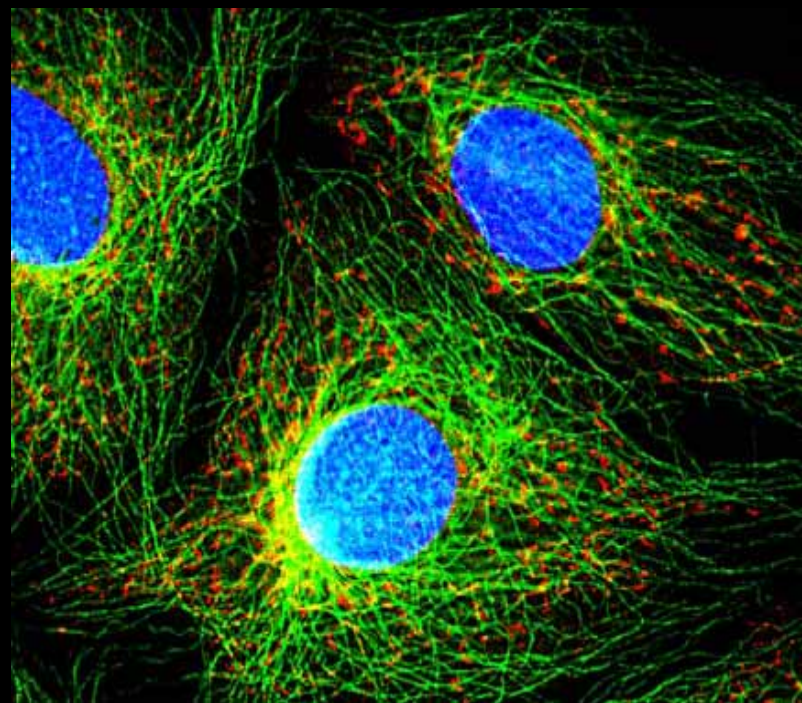
## Kvantiniai taškai



# *Įvairių ląstelių žymėjimas kvantiniais taškais*



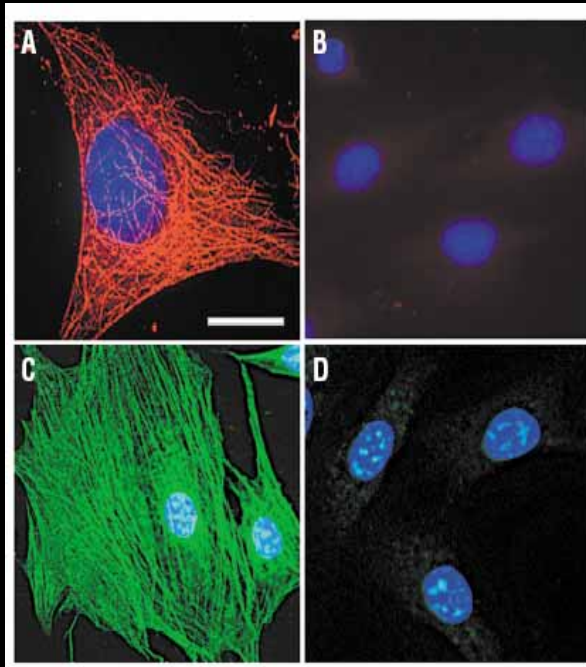
Vėžio žymės Her2 nustatymas  
panaudojant QD-IgG. (A,C).  
A) 535nm -IgG  
C) 630nm -IgG  
B) ir D) normalios ląstelės.



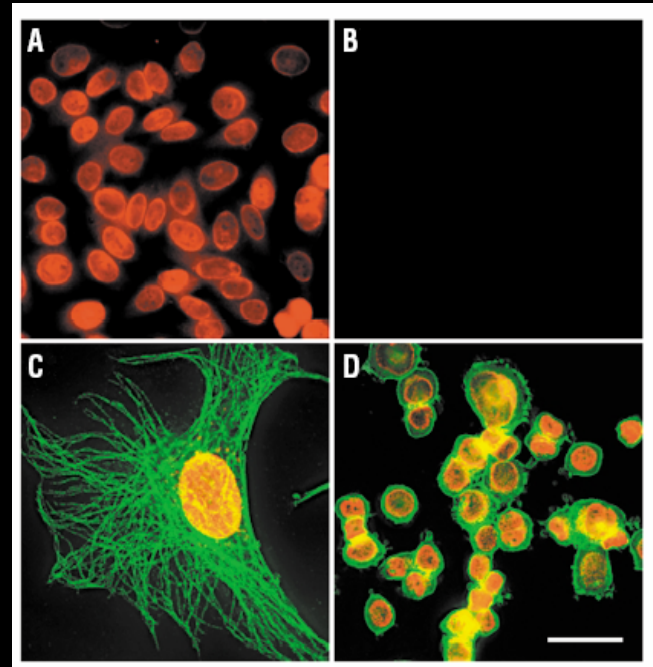
NIH 3T3 pėlės fibroblastai  
Mikrotubulės pažymėtos Qdot 525-  
streptavidino konjugatu  
Mitochondrijos Qdot 605-streptavidino  
konjugatu  
Branduolys pažymėtas Hoechst žymekliu



I

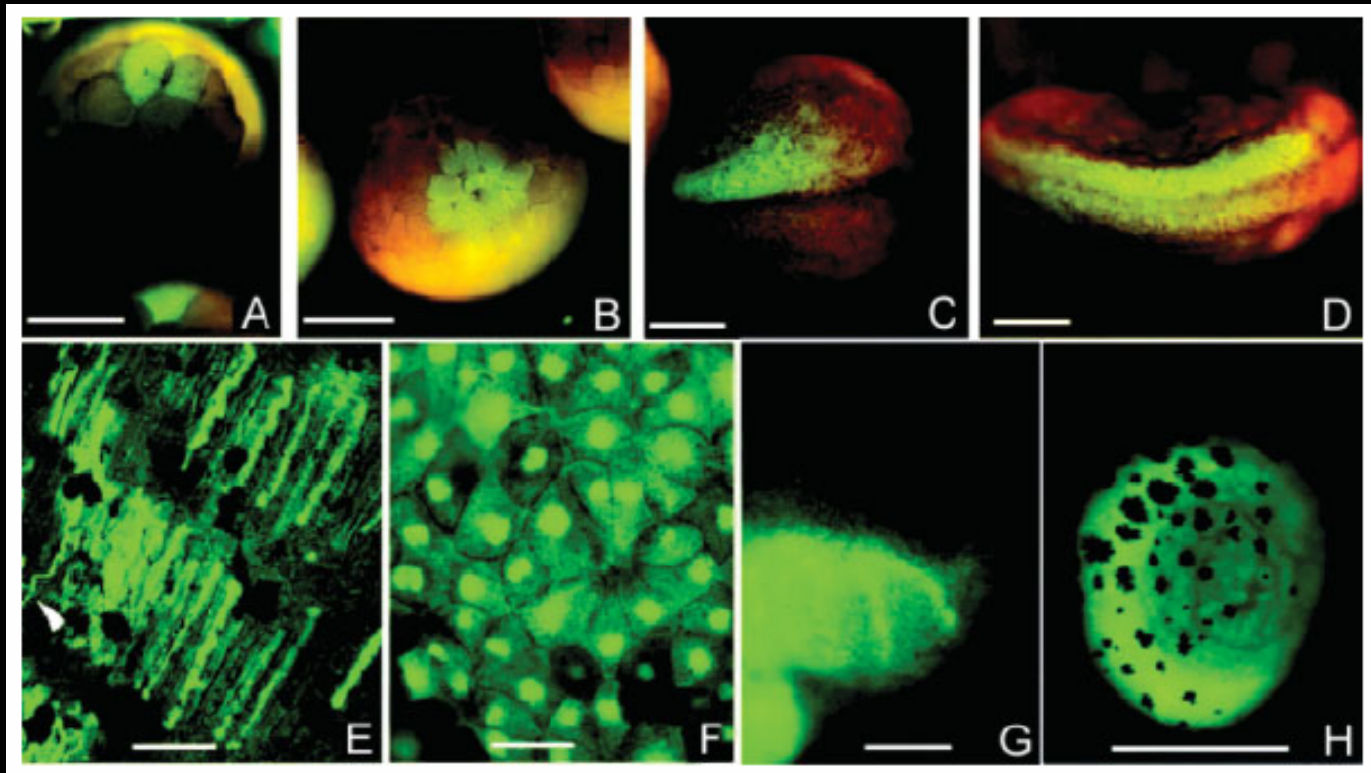


II



I. 3T3 peles fibroblastų ląstelių citoskeleto skaidulų žymėjimas skirtingos spalvos kvantiniais taškais konjuguotais streptavidinu. II Branduolio antigenų detekcija(A) ir dvigubas žymėjimas(C ir D) kvantiniais taškais. Naudoti IgG-biotin ir streptavidino kvantiniai taškai.

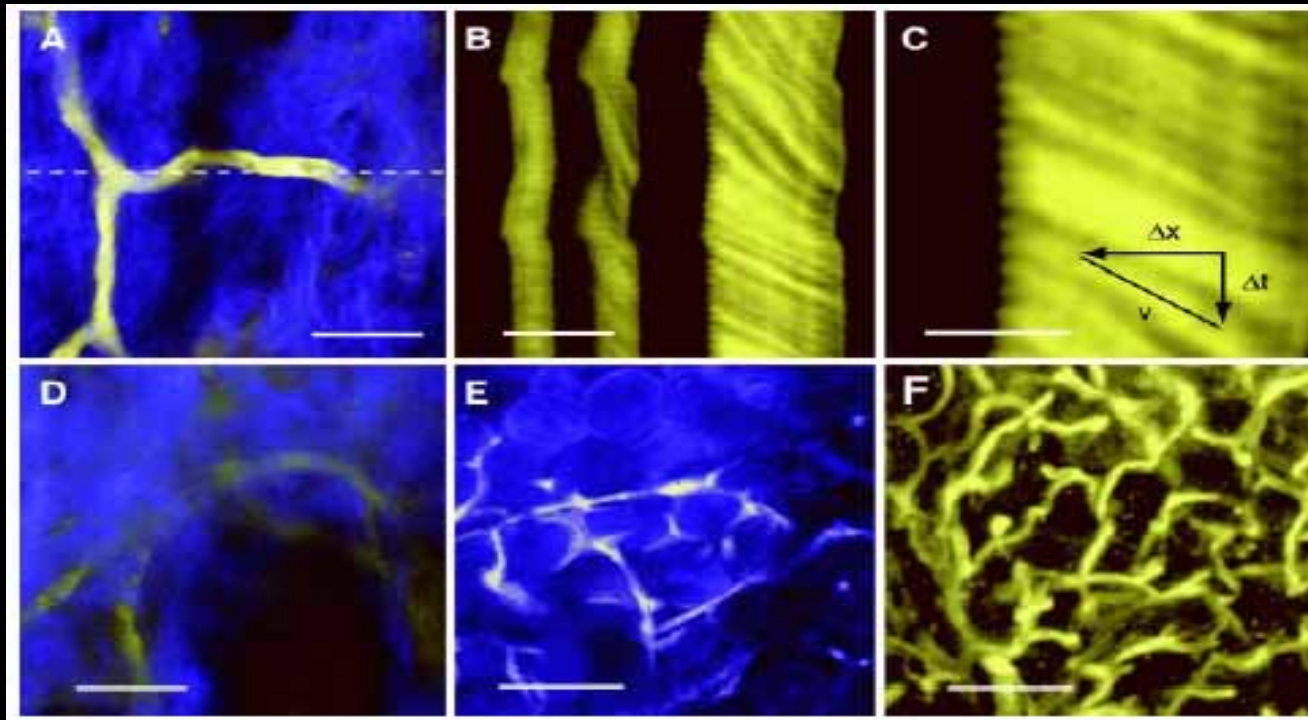




Xenopus embriono žymėjimas kvantiniai taškais ir specifinė kvantinių taškų lokalizacija.

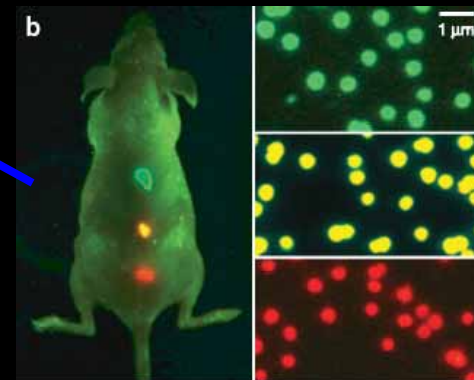
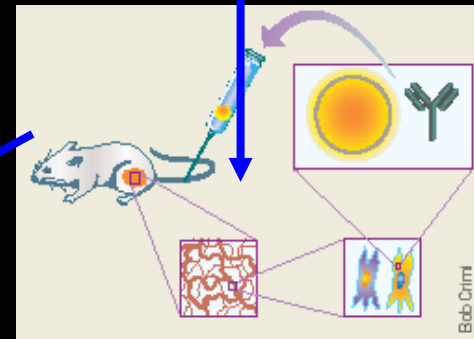
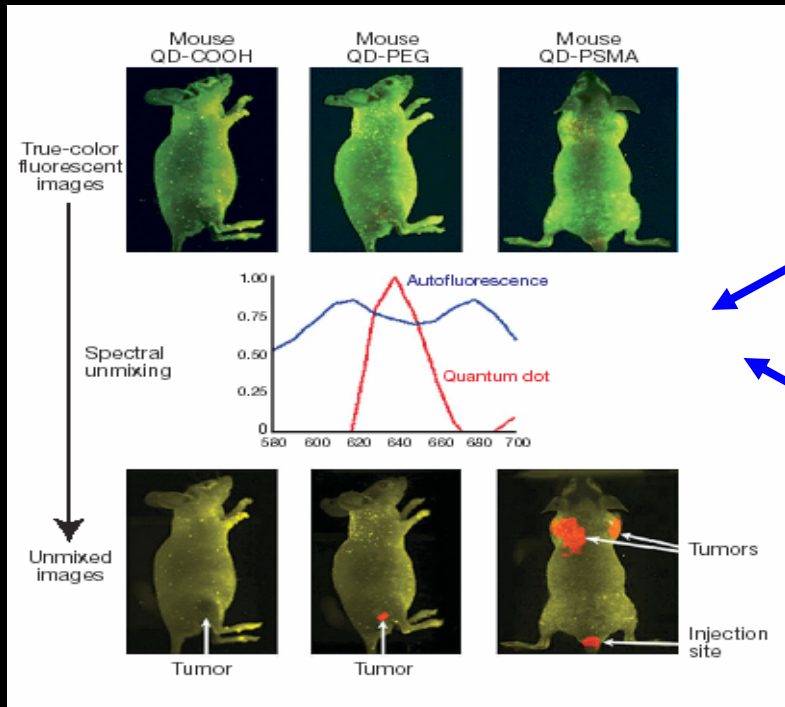
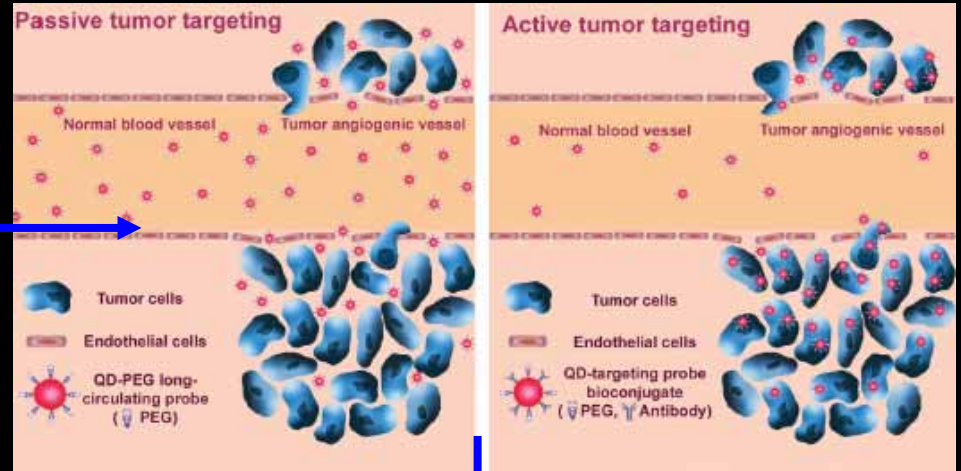
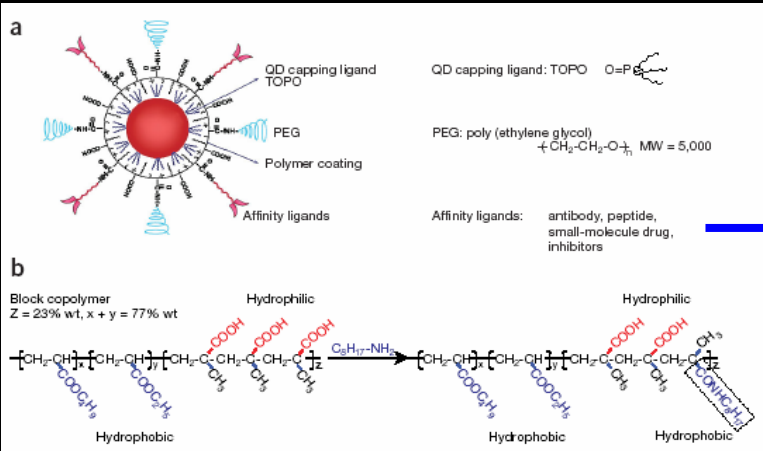
- A) Pažymėtos blastomeros įvedimas
- B) Tas pats embrionas po 1 val. Pažymėtos dukterinės ląstelės įvestos blastomeros.
- C) vėlesnė stadija
- D) parodytos dvi embriono nervų ląstelės.
- E) viduląstelinis aksono žymėjimas

# *Puslaidininkinių kvantinių taškų dvifotonio žadinimo mikroskopija*



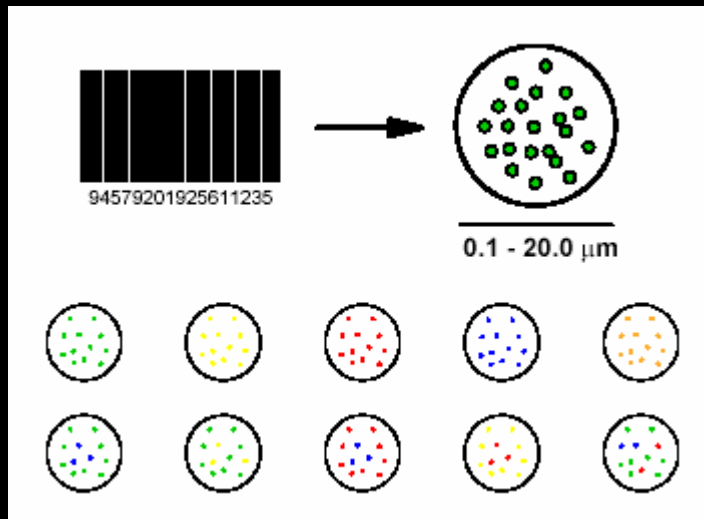
Išsišakojusios kapiliarų struktūros vaizdinimas gyvajame audinyje panaudojant kvantinius taškus. Nuotrauka padaryta dvifotonio žadinimo mikroskopu (A) fluorescuojančiame kapiliare  $1\mu\text{M}$  Qdots gylis  $100\mu\text{m}$ , žadinimas  $900\text{nm}$ . Melyna yra kolageno autofluorescencija. (D) Palyginimui FITC-dekstranas.

# In vivo vaizdinimas

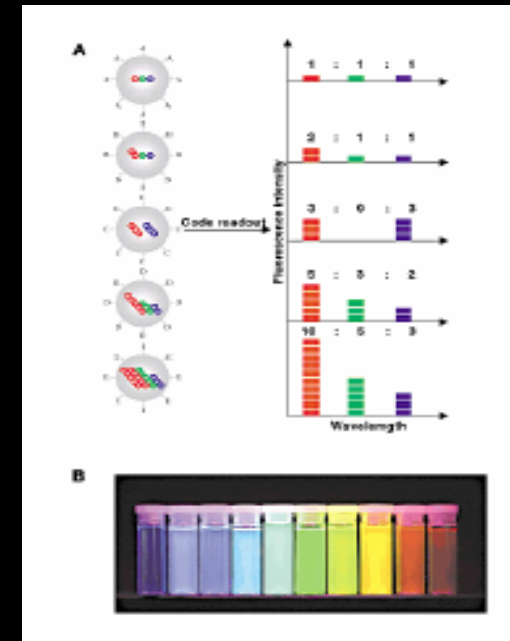
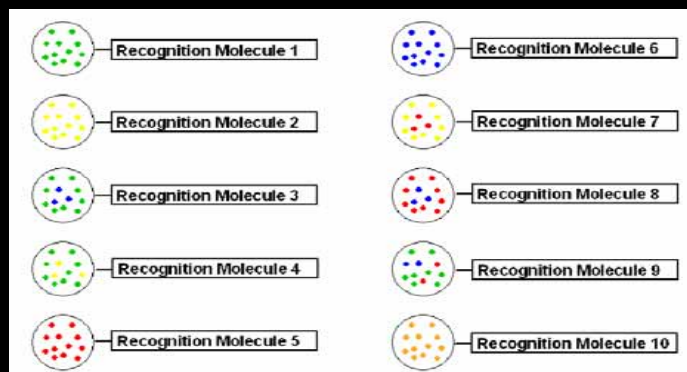


# Kvantinių taškų mikrosferos

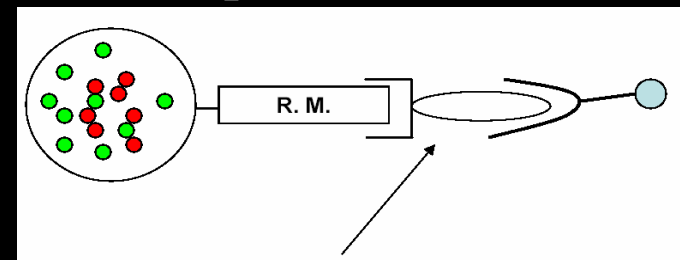
## • Barkodas



Skirtinga kvantinių taškų koncentracija



Mikrosferų intensyvumo profilis

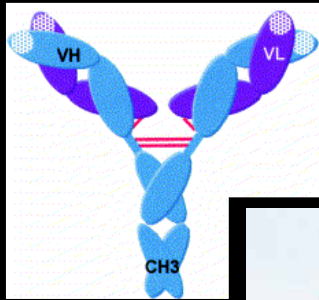




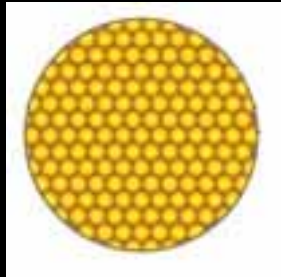
# *Kvantinis taškas vs Tradicinės priemonės*

Kvantinis taškas

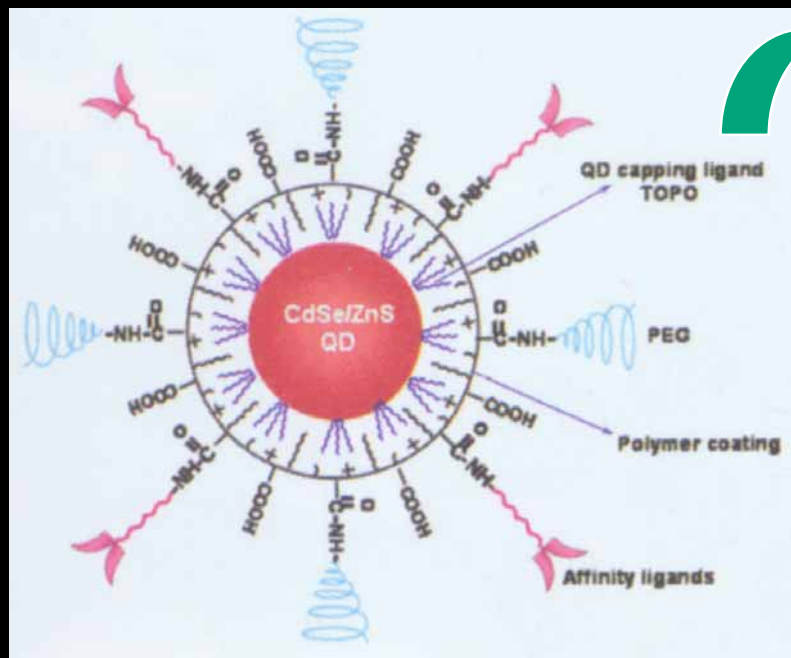
Antikūnas



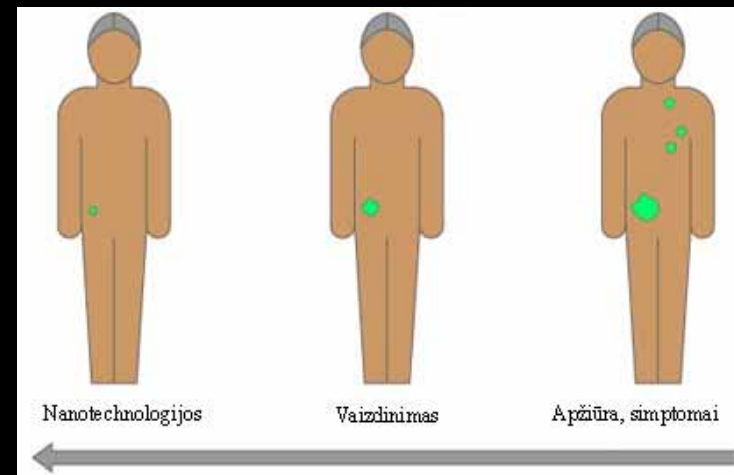
+



Selektyvus  
kvantinis  
taškas

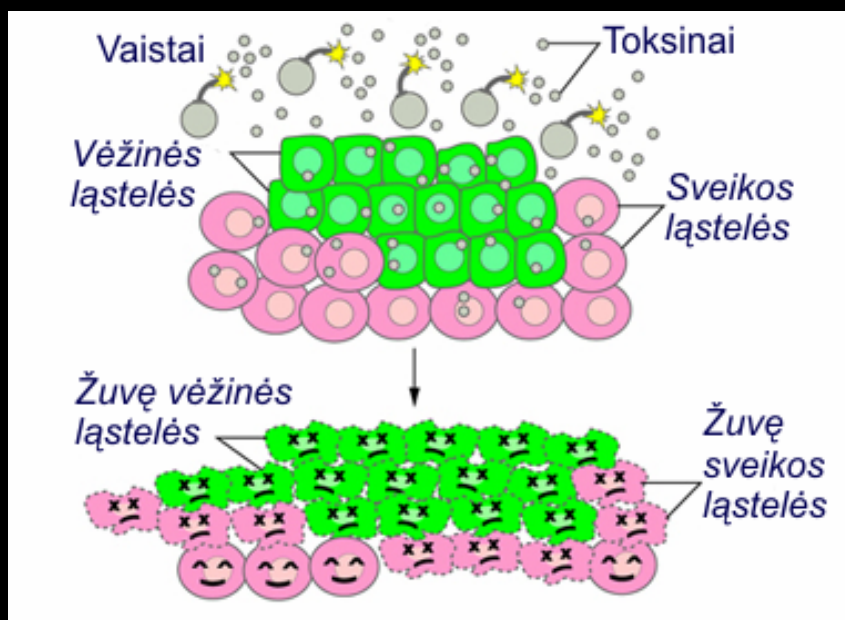


Ankstyvos  
stadijos navikų  
diagnostika

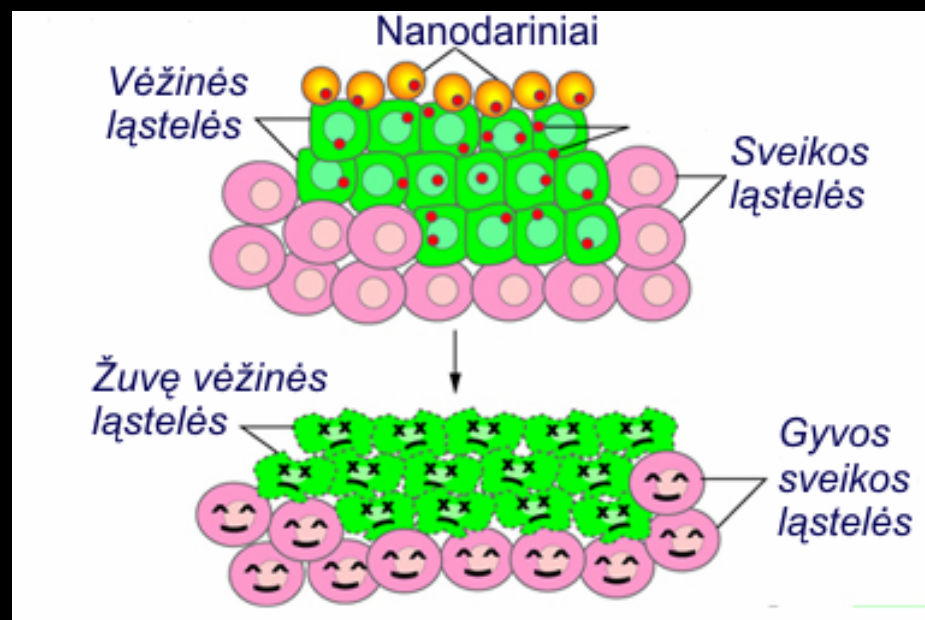


# *Kvantinis taškas vs Tradicinės priemonės*

## Tradicionis gydymas



## Nanobiotechnologijos

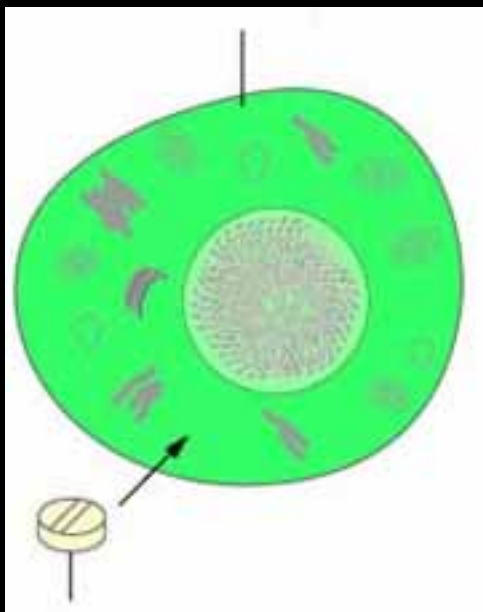




# Tikslas!!!

## Tradicioninis gydymas

### Vėžinė ląstelė

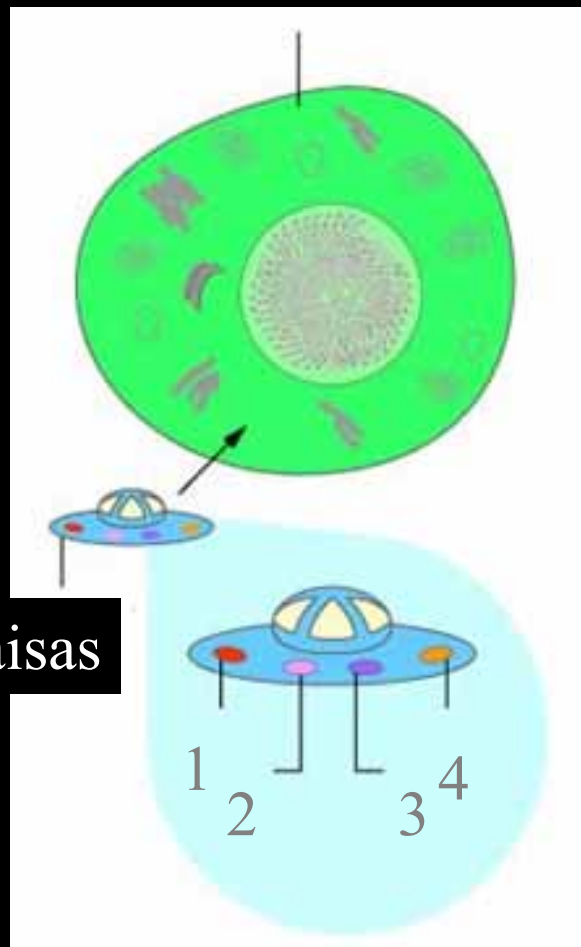


### Vaistas

1- vaizdinimas, 3- pažaidos  
2 - aptikimas, 4- atsakas

## Nanobiotechnologijos

### Vėžinė ląstelė



### Nanoįtaisas

# AČIŪ UŽ DĒMESI!!!

