

УДК 621.382.8.049.77

СТРУКТУРА НАНОКРИСТАЛЛОВ СЕЛЕНИДА КАДМИЯ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДАМИ КОЛЛОИДНОЙ ХИМИИ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ

К.Д. ЯШИН, В.С. ОСИПОВИЧ, С.Е. ПИЦУК

*Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники
П. Бровка, 6, Минск, 220013, Беларусь*

Поступила в редакцию 27 марта 2007

Исследованы структура и состав наночастиц селенида кадмия, полученных методами коллоидной химии. Методами рентгеноспектрального анализа установлено, что частицы имеют кристаллическую структуру. Определен качественный и количественный состав наночастиц. Они состоят на 46% из атомов селена и 54% из атомов кадмия.

Ключевые слова: нанокристаллы, селенид кадмия, рентгеноспектральный анализ.

Введение

Современные разработки нанотехнологий позволили получить новый класс люминесцентных полупроводниковых наночастиц. Они обладают широким спектром поглощения и ярко выраженным узким пиком люминесценции в видимой части спектра. Одной из перспективных областей применения наночастиц в настоящее время является медицинская диагностика. Примерами применения нанокристаллов CdSe в медицинской диагностике могут служить: био-визуализация клеток и клеточных компонентов [1]; маркировка и пространственный анализ р-гликопротеина (посредник фенотипа раковых клеток) [2]; молекулярная визуализация и диагностика единичных больных раковых клеток [3]; многоканальное оптическое кодирование и высокоскоростной анализ генов и протеинов [3]; локализация и количественные замеры цели на одиночной локализации опухоли с метастазами [4]; определение биологически активных соединений, от низкомолекулярных гормонов до вирусов и целых клеток [5, 6]; определение ДНК [7]; нейрорхимическое наблюдение образцов [8]; анализ FISH и ДНК гибридизации [9].

Цель работы

В нашей стране существует возможность при взаимодействии нескольких исследовательских лабораторий создать и довести до использования в медицинской диагностике иммуноферментные наборы на основе люминесцентных наночастиц в качестве носителей моноклональных антител. Подобное реализовано пока лишь только в лабораторных условиях некоторых американских университетов [3]. Наночастицы предполагается использовать для проведения иммуноферментного анализа тестостерона, прогестерона и других биологически активных веществ. Носители моноклональных антител на основе люминесцентных наночастиц могут быть также применены для проведения иммунолюминесцентного анализа по определению целого ряда заболеваний: туберкулеза; онкологических опухолей; заболеваний, передающихся половым путем, и др.

Целью работы является исследование структуры и состава наночастиц селенида кадмия, полученных методами коллоидной химии и предназначенных для использования в медицинской диагностике.

Методика эксперимента

Для исследований использовались образцы CdSe, полученные методами коллоидной химии. Наночастицы в транспортировочной оболочке из триоктилфосфина синтезировались в атмосфере аргона при температуре 300–350°C по реакции взаимодействия металлического селена Se с диметилкадмием $Cd(CH_3)_2$ в растворе оксида триоктилфосфина и гексадециламина. Методика синтеза наночастиц CdSe изложена в [9, 10].

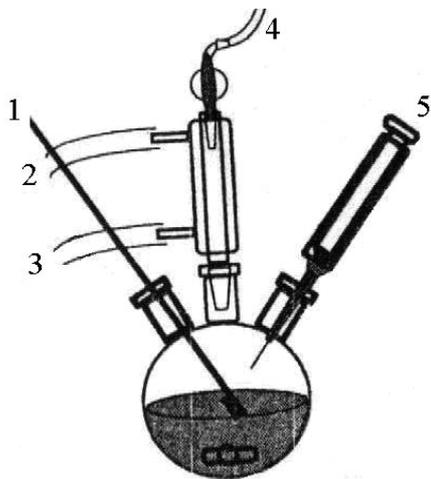


Рис. 1. Химический реактор: 1 — термометр; 2, 3 — выходы к насосу; 4 — вход для инертного газа; 5 — шприц, содержащий металлоорганические соединения

Схема химического процесса получения сухих образцов CdSe в защитной транспортировочной оболочке из триоктилфосфина изображена на рис. 2.

Рентгеноспектральный анализ наночастиц CdSe проводился с применением растрового электронного микроскопа Stereoscan-360 фирмы "Cambridge Instruments" (Англия). Спектр наблюдался при энергии возбуждения в диапазоне от 0 до 14 кэВ. Образцы наночастиц в защитной транспортировочной оболочке из триоктилфосфина к проведению рентгеноспектрального анализа готовились следующим образом. Около 2 мг сухих образцов в триоктилфосфине растворялись

в 3 мл хлороформа $CHCl_3$. Затем в емкость добавлялось 3,6 мл метанола CH_3OH . После выдерживания 20 мин образцы центрифугировались 15 мин при скорости 3000 об/мин. Осадок (образцы наночастиц) растворялся в хлороформе. После повторного добавления метанола, центрифугирования и растворения осадка в хлороформе получали коллоидный раствор. Раствор имел оранжевую окраску. Исследуемые наночастицы были нанесены из коллоидного раствора на подложку-носитель в виде тонкой пленки. В качестве подложки-носителя использовалась полированная с двух сторон кремниевая пластина, легированная фосфором. Коллоидная капля высыхивалась, а затем проводились рентгеноспектральные исследования образцов.

Для получения микроизображений наноразмерных образцов применялся просвечивающий электронный микроскоп Н800 фирмы "Hitachi" (Япония) с увеличением до 500 000 крат. Коллоидный раствор образцов был подготовлен к исследованиям на электронном микроскопе с использованием стандартной угольно-желатиновой методики препарирования образцов.

Результаты и их обсуждение

Для проведения рентгеноспектрального анализа использовались конгломераты (скопления) наночастиц. Фотография скоплений наночастиц, полученная на электронном микроскопе при увеличении 100 000 крат, представлена на рис. 3. Электронная микроскопия отдельных частиц не проводилась. Для этого необходимы так называемые водорастворимые образцы, т.е. образцы наночастиц, покрытые полимерной оболочкой [9]. Подобные наночастицы имеют размер от 2 до 6 нм (рис. 4, 5) [11, 12]. При этом покрытие не влияет на люминесцентные свойства наночастиц (рис. 6) [13].

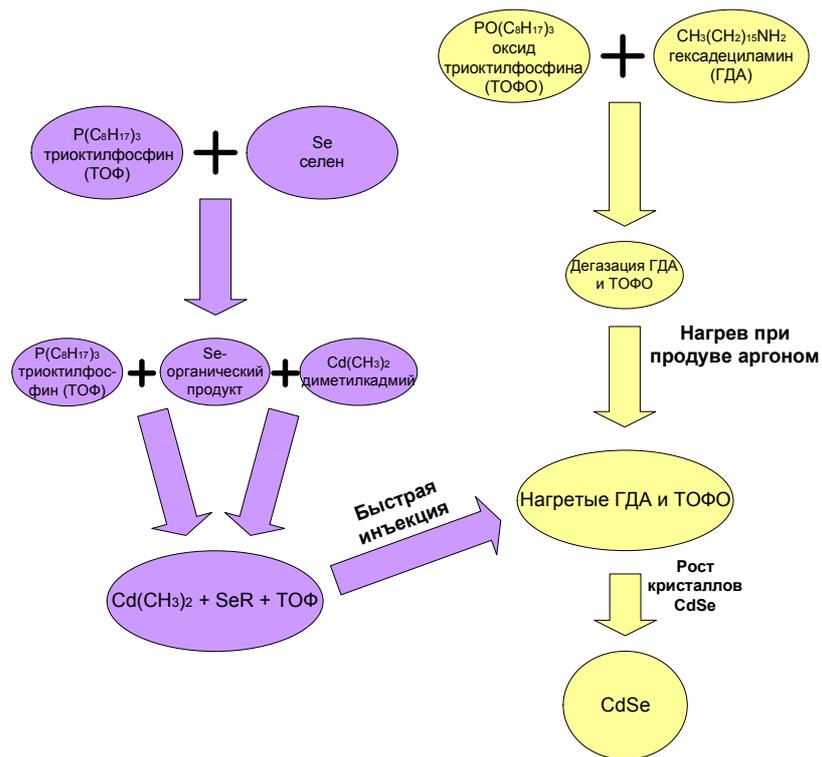


Рис. 2. Структурная схема получения наночастиц CdSe

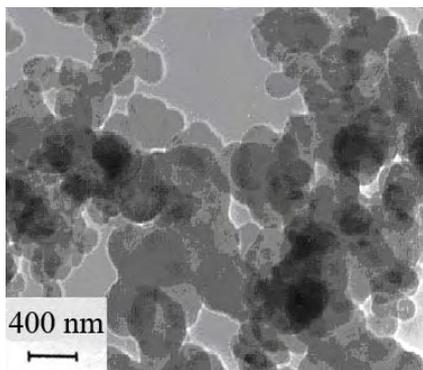


Рис. 3. Фотография конгломератов (скоплений) наночастиц CdSe

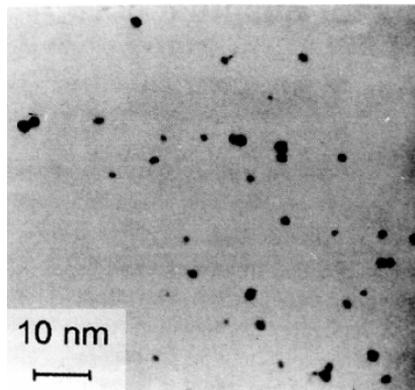


Рис. 4. Фотография нанокристаллов CdS в полимерной матрице [11]

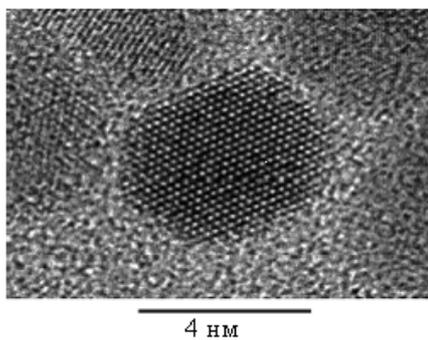


Рис. 5. Фотография нанокристаллов CdSe в полимерной матрице [12]

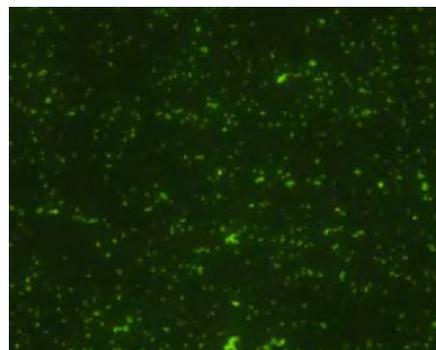


Рис. 6. Люминесценция нанокристаллов CdSe в полимерной матрице (нанокристаллы в виде отдельных светящихся точек) [13]

Наличие селективных дифракционных максимумов на картинах электронной дифракции подтверждает кристаллическую структуру исследуемых образцов. Качественный анализ полученного рентгеноструктурного спектра (рис. 7) показывает, что отдельные наночастицы состоят из атомов селена Se и кадмия Cd. Исследуемые образцы содержат некоторое количество таких элементов, как углерод, кислород, фосфор и хлор. Появление в спектрах углерода и кислорода объясняется взаимодействием наночастиц с воздухом. Энергии углеродных и кислородных пиков соответствуют стандартным значениям для адсорбированных (фоновых) атомов. Это свидетельствует об отсутствии существенного количества зарядовых состояний на поверхности наночастиц, т.е. говорит об отсутствии значительной поляризации в CdSe образцах. Наличие же относительно большого количества кремния, хлора и фосфора в образцах объясняется тем, что использовалась кремниевая подложка, легированная фосфором, а коллоидный раствор образцов наночастиц находился в хлороформе. Отдельно был получен фоновый спектр для капли раствора триоктилфосфина в хлороформе на кремниевой подложке. После вычитания из исходного спектра фонового получили итоговый спектр, отраженный на рис. 8. В итоговом спектре уничтожились углеродный, кислородный, кремниевый, фосфорный, хлорный пики. Количественный анализ показывает, что образцы состоят на 46% из атомов селена Se и на 54% из атомов кадмия Cd и не имеют атомов примесей. Процентное соотношение атомов селена и кадмия в соединении определили по отношению интенсивностей основных пиков.

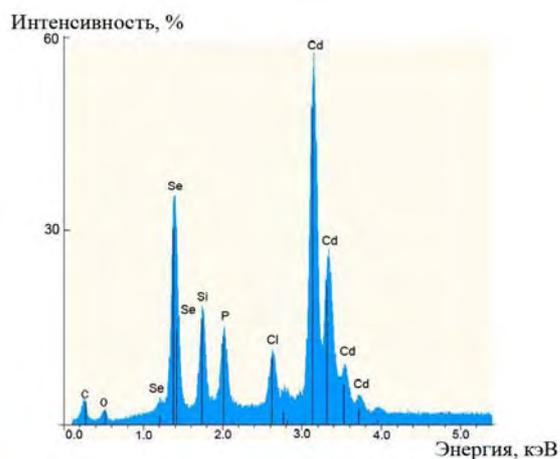


Рис. 7. Рентгеноструктурный спектр нанокристаллов CdSe

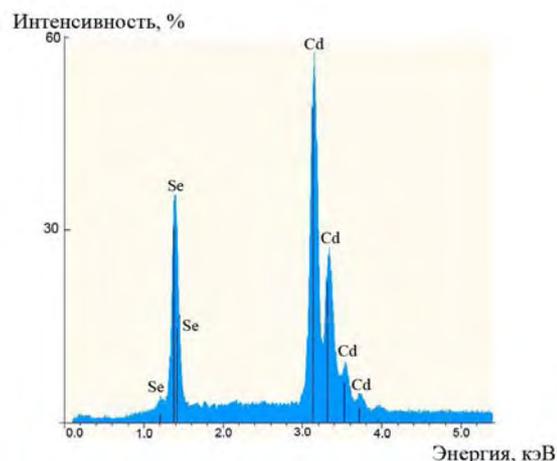


Рис. 8. Итоговый рентгеноструктурный спектр нанокристаллов CdSe

Анализ возможного пути применения нанокристаллов

Применением нанокристаллов селенида кадмия может быть использование их в качестве меток в иммуноферментном анализе для определения уровня тестостерона в крови человека. Иммуноферментные наборы создаются не только на основе химических флюорохромов и радиоактивных изотопов, но и на основе люминесцентных нанокристаллов. Методы биоспецифического связывания, основанные на определенном "узнавании" возбудителя, его антигенов и (или) продуктов метаболизма, используют антитела, меченные специальными химическими веществами. Полупроводниковые нанокристаллы обладают широким спектром поглощения и ярко выраженным узким пиком люминесценции в видимой части спектра и служат заменой химическим флюорохромам. Они улучшают качество медицинской диагностики. Использование полупроводниковых люминесцентных нанокристаллов позволяет уменьшить количество реагентов, используемых в иммуноферментном анализе, а также сократить количество операций по подготовке образцов к анализу. Изменение уровня тестостерона в крови человека приводит к различным заболеваниям и отклонениям в развитии организма человека. Избыток тес-

тестостерона вызывает у мальчиков симптом "младенца-Геракла". Повышенная концентрация тестостерона служит определяющим фактором маскулинизации у женщин. У девочек избыток тестостерона в организме всегда является следствием нарушения функции надпочечников, а у женщин может быть связан также с заболеваниями яичников. При этом может проявиться типичное для мужчин строение тела. Недостаток тестостерона у мужчин ведет к развитию женского типа телосложения. Для внедрения нанокристаллов в медицинскую диагностику необходимо решить следующие задачи:

- разработать микроконструкцию кристаллических носителей моноклональных антител, предположительно содержащую полупроводниковое ядро, полимерное покрытие и биологическую оболочку;

- разработать критерии оптимизации конструкции носителей моноклональных антител;

- выбрать и оптимизировать конструкции кристаллических носителей моноклональных антител;

- организовать проведение экспериментальных исследований, разработанных конструкций, а также провести анализ результатов экспериментальных исследований конструкций кристаллических носителей моноклональных антител;

- выбрать способ нанесения защитного полимерного покрытия на кристаллические носители (метод дисперсионной полимеризации, послойной самоорганизации слоев напылением в "кипящем слое" и др.), мономеры для полимеризации и подобрать условия для проведения процесса (температура, растворитель, инициатор, эмульгатор, стабилизатор, исходный мономер и их соотношения);

- исследовать физико-химические свойства полимерной составляющей, биологической составляющей и кристаллической основы для создания иммуноферментных наборов для определения тестостерона;

- исследовать качественные и количественные показатели связывания белковых молекул с полимерной поверхностью;

- исследовать эффективности конъюгации моноклональных антител с поверхностью кристаллических носителей;

- изучить возможность определения тестостерона с применением полученных кристаллических носителей;

- провести первичные клинико-лабораторные испытания иммуноферментного набора на основе люминесцентных нанокристаллов;

- проработать вопрос перенесения основ технологии получения иммуноферментных наборов для определения стероидного гормона (тестостерона) на основы технологии анализа биологически активных веществ.

Заключение

В работе приведены результаты исследования структуры и состава образцов наночастиц CdSe. Показано, что образцы селенида кадмия, полученные методами коллоидной химии, имеют кристаллическую структуру. Качественный и количественный рентгеноспектральный анализ позволил определить состав нанокристаллов: они состоят на 46% из атомов селена Se и на 54% из атомов кадмия Cd. В работе проведен анализ возможного применения нанокристаллов селенида кадмия в медицинской диагностике тестостерона.

Авторы выражают благодарность Л.Д. Буйко (государственный центр "Белмикрoанализ" НПО "Интеграл") за помощь в реализации экспериментов.

STRUCTURE OF CDSE NANOCRYSTALS PRODUCED BY THE METHODS OF COLLOID CHEMISTRY FOR MEDICAL DIAGNOSTICS APPLICATION

K.D. YASHIN, V.S. OSIPOVICH, S.E. PITSUK

Abstract

Structure and composition of CdSe nanoparticles, which were produced by the methods of colloid chemistry are considered. X-ray analysis recognized the crystal structure of the particles. Qualitative and quantitative compositions of nanoparticles are determined. They consist of Se atoms (46 percent) and of Cd atoms (54 percent).

Литература

1. Han M., Gao X., Su J.Z., Nie S. // Nature Biotechnology. 2001. Vol. 19 (7). P. 631–635.
2. Bruchez M., Alivisatos A.P., Moronne M. et al // Science. 1998. Vol. 281. P. 2013–2015 .
3. Dahan M., Alivisatos A.P., Pinaud F., et al // Opt. Lett. 2001. Vol. 26 (11). P. 825–827.
4. Goodwin J.W., Buscall R. Quantum dots for medical imaging. Boston, 1995. P. 352.
5. Wu X., Bruchez M.P., Liu H., Liu J. et al // Nature Biotechnology. 2003. Vol. 21(1). P. 41–45.
6. Jovin T.M. // Nature Biotechnology, 2003. Vol. 21. P. 32–36.
7. Gerion D., Alivisatos A.P., Parak W.J. et al // J. Am. Chem. Soc. 2002. Vol. 124. P. 7070–7075.
8. Dubertret B., Skourides P., Norris D.J. et al // Science. 2002. Vol. 298. P. 1759–1762.
9. Sukhanova A., Devy J., Venteo L., et al // Analytical Biochemistry. 2004. Vol. 324. P. 60–67.
10. Talapin D.V., Rogach A.L., Kornowski A., Weller H. et al // Nanoletters, 2001. Vol. 1. P. 207–211.
11. Gaponenko S.V. Optical Properties of Semiconductor Nanocrystals. Cambridge. 1998. P. 215.
12. Erik C., Alivisatos A. // Phil. Trans. R. Lond. A. 2003. Vol. 361. P. 241–246.
13. Яшин К.Д. Разработка физико-химических и технологических основ получения люминесцентных наночастиц из полупроводников (Отчет о НИР № ГР 2005756) [текст] / К.Д. Яшин, В.С. Осипович, С.Е. Пицук / БГУИР. Минск, 2005. Деп. в ГУ "БелИСА" 07.04.06, № Д200617.