

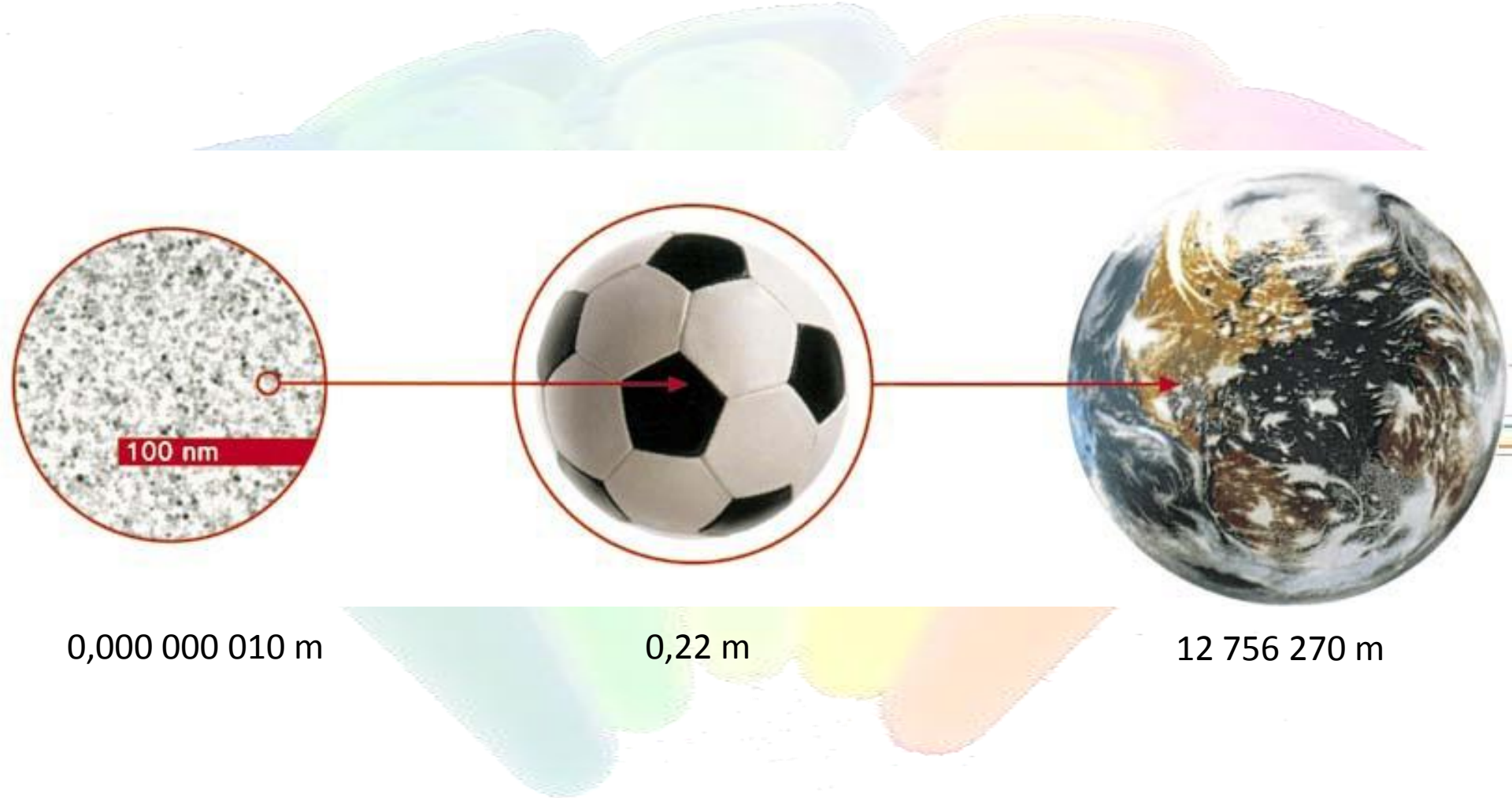


**Nanotechnologie v bioanalýze,
nanočástice vykazující luminiscenci a
jejich využití v analytické chemii**

Ivona Voráčková

Ústav analytické chemie AV ČR, v.v.i., Brno

Nanotechnologie



Nanočástice – včera



Lykurgovy poháry

pocházejí asi ze 4. století n. l., nachází v Britském muzeu v Londýně. Obsahují **nanočástice slitiny na bázi Au - Ag** (v poměru 3:7)

Keramika z italské Umbrie

byla v 15. a 16. století pro své nádherné barvy vysoce ceněna po celé Evropě, **glazury obsahují částice mědi a stříbra o průměru 5 - 100 nm**



Nanočástice vykazující luminiscenci

- polovodičové nanokrystaly – kvantové tečky
- Au nanočástice
- uhlíkové nanokrystaly - C dots
- nanodiamanty
- křemíkové nanokrystaly - Si dots
- křemenné nanočástice
- nanočástice polymeru se zapouzdřeným fluorescenčním činidlem
- světlokonvertující nanočástice
- nanočástice karbidukřemíku
- Ge nanočástice

Nahrazení konvenčních organických fluoroforů

Velké množství reaktivních míst na povrchu z nich dělá ideální základnu pro tvorbu supramolekulárních sestav, zatímco jejich velký poměr povrchu ku objemu dovoluje funkcionalizaci různých částí různými organickými činidly. Platforma pro syntézu a tvorbu nových detekčních schémat.

Nanočástice vykazující luminiscenci

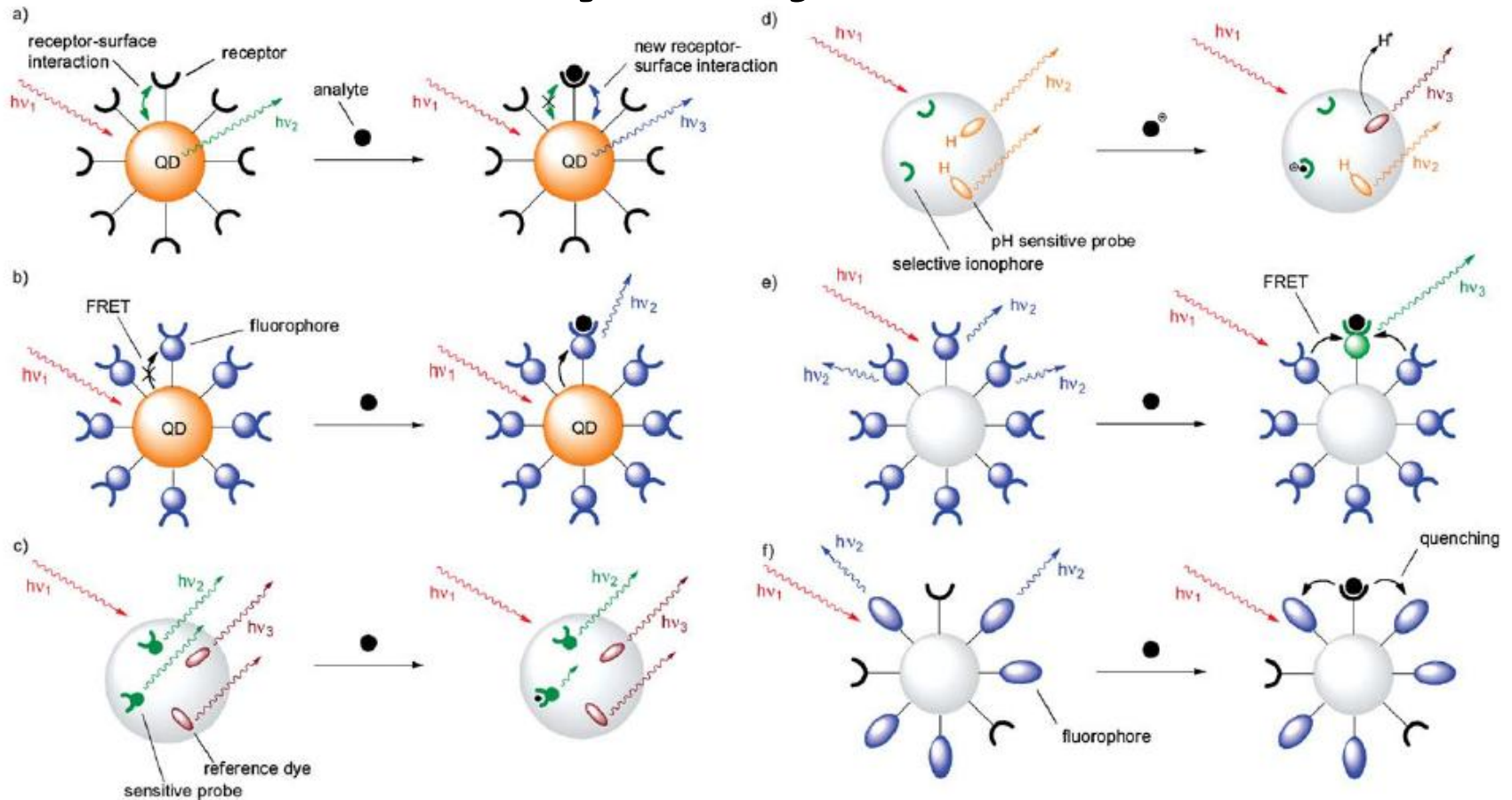
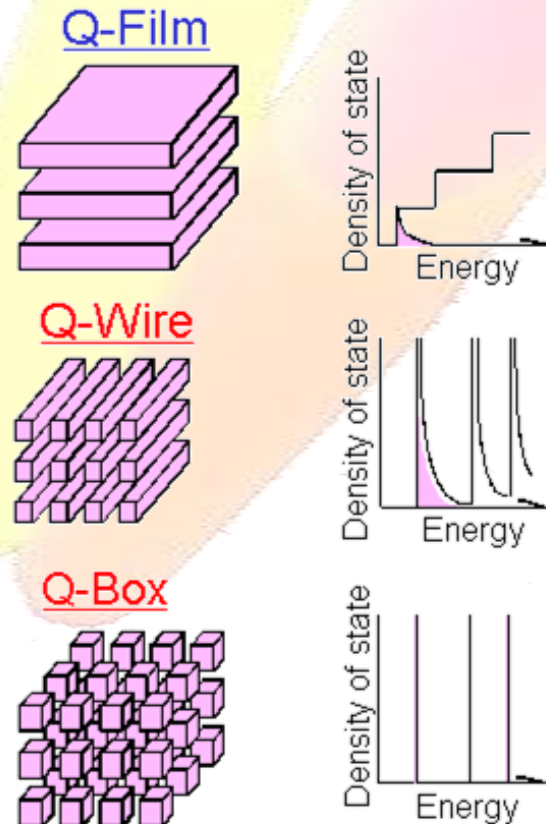


Fig. 1 Representative sensing schemes in fluorescent nanoparticles: (a) Analyte binding to a surface receptor causes spectral changes in a quantum dot by altering its surface electronic structure; (b) analyte binding to a surface receptor affects an energy transfer process from a quantum dot to an organic fluorophore; (c) analyte binding to a nanoparticle embedded chemosensor in the presence of a co-embedded reference dye triggers a ratiometric response in a PEBBLE sensor; (d) ion binding to a nanoparticle embedded ionophore is reported by a co-embedded pH-sensitive dye in a PEBBLE sensor; (e) analyte binding to one surface-grafted chemosensor affects several surrounding units, resulting in signal amplification; (f) receptors and fluorophores are individually grafted to the surface of a nanoparticle in a self-organized sensor.

Polovodičové nanostruktury

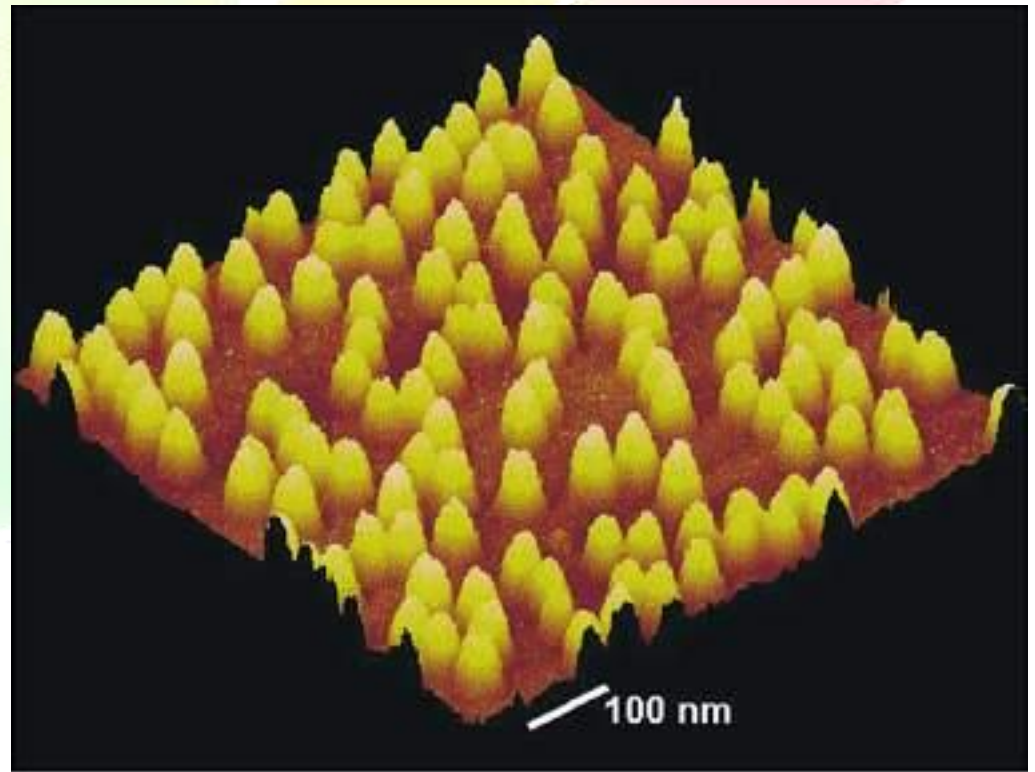
- alespoň jeden z rozměrů je srovnatelný s vlnovou délkou elektronu v polovodičích ~ 10 nm
- pohyb elektronu v krystalu se chová jako vlna a popisuje ho vlnová funkce – kvantově mechanický přístup
- kvantové jámy – jeden rozměr v řádu nm
- kvantové dráty – dva rozměry v řádu nm
- kvantové tečky – tři rozměry v řádu nm
- deponované na povrchu
- v roztoku



Zdroj:

Polovodičové nanostruktury

- schopné vázat elektrony v důsledku nižší energie ve srovnání s energií vodivostního pásu okolního polovodiče
- elektrony a díry jsou lokalizovány ve velmi malém objemu i při vysokých teplotách
- velký překryv jejich vlnových funkcí vedoucí k velké pravděpodobnosti zářivé rekombinace
 - luminiscence



Polovodičové nanostruktury - vlastnosti

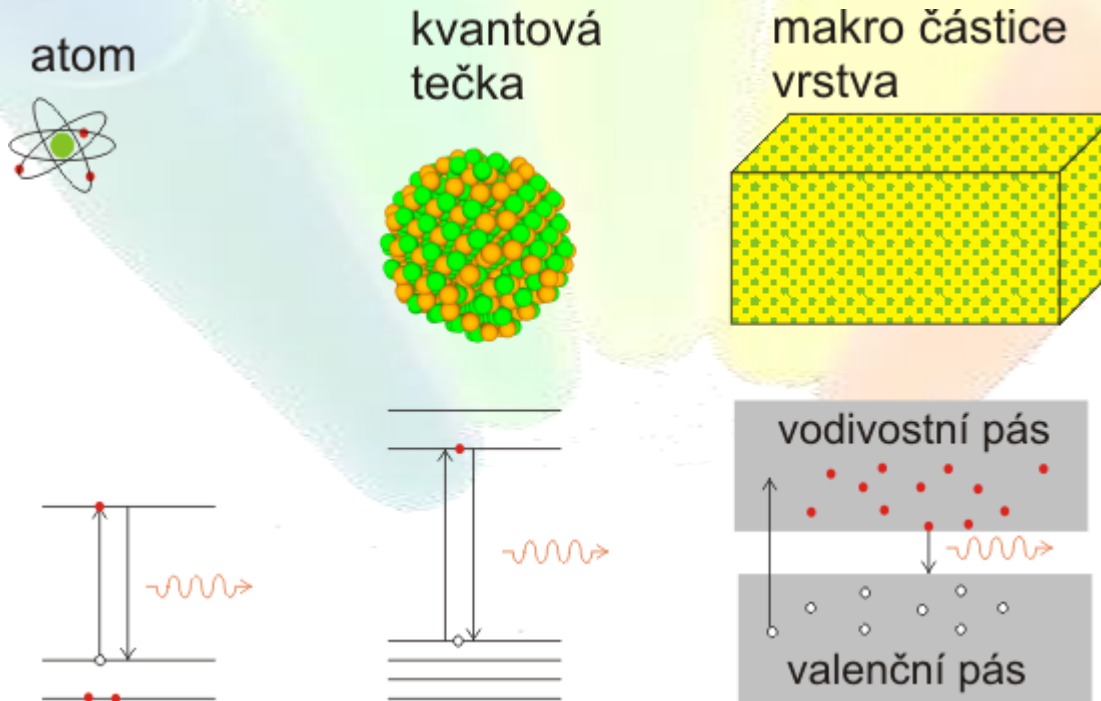
Polovodič – materiál s malým rozdílem energie mezi valenčním a vodivostním pásem, obvykle 1 – 3 eV

- dodáním energie dochází k excitaci elektronu do vodivostního pásu a vzniku kladné díry

Bohrův poloměr - pro polovodiče - vzdálenost mezi elektronem a dírou

QD mají srovnatelnou velikost jako Bohrův poloměr, což způsobuje, že energie není v pásích, ale dělí se na energetické hladiny, jako u atomů.

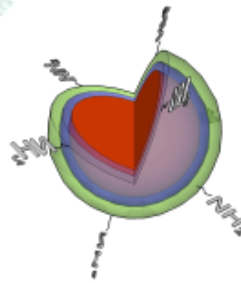
„Artificial atoms“ – vlastnostmi jsou blíže atomům než kompaktnímu materiálu



Polovodičové nanostruktury - vlastnosti

Quantum confinement effect – efekt kvantového uvěznění

- Je popisován 3D modelem částice v krabici – čím nižší je objem, tím vyšší bude energie
- vyskytuje se pokud je průměr částice podobné velikosti jako vlnová funkce elektronu
- energetické spektrum má diskrétní charakter místo pásového
- zakázaný pás je závislý na velikosti částice
- se zmenšováním částice dochází k rozšiřování zakázaného pásu a modrému posunu emitovaných spekter



Kvantové tečky

- anorganické polovodičové krystaly
- velikost v nanometrech (1-10 nm), 10 – 50 atomů na stranu krystalu
- unikátní optické vlastnosti



Kvantové tečky - materiál a příprava

- na povrchu

Materiál: nejčastěji zkoušené – InAs a GaAs

další materiály – TiO_2 , GaSb

Výroba: iontové leptání

samo-organizací hmoty ve strukturách s velkým pnutím InAs na GaAs

litografické techniky

MBE (Molecular Beam Epitaxy) – epitaxe z molekulárních svazků

MOVPE (Metal-Organic Vapor Phase Epitaxy) – plynná epitaxe z organokovových sloučenin

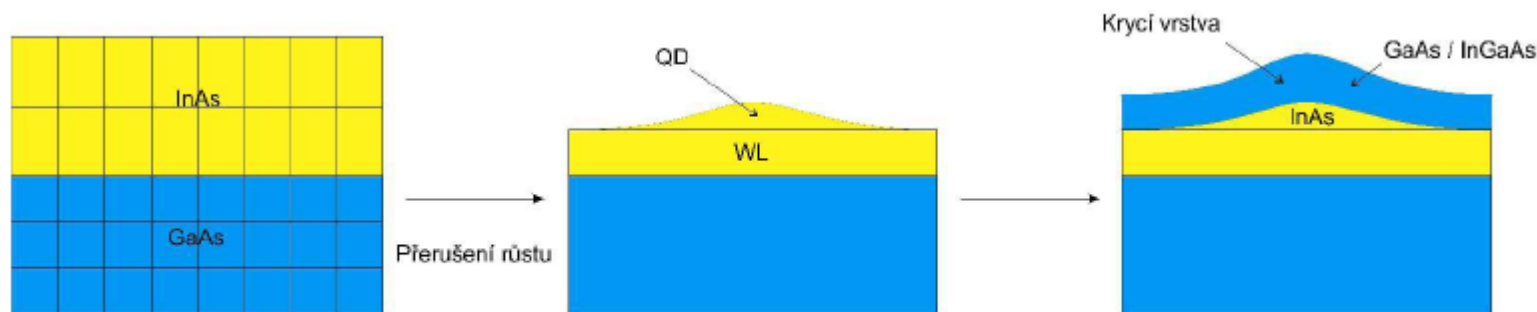
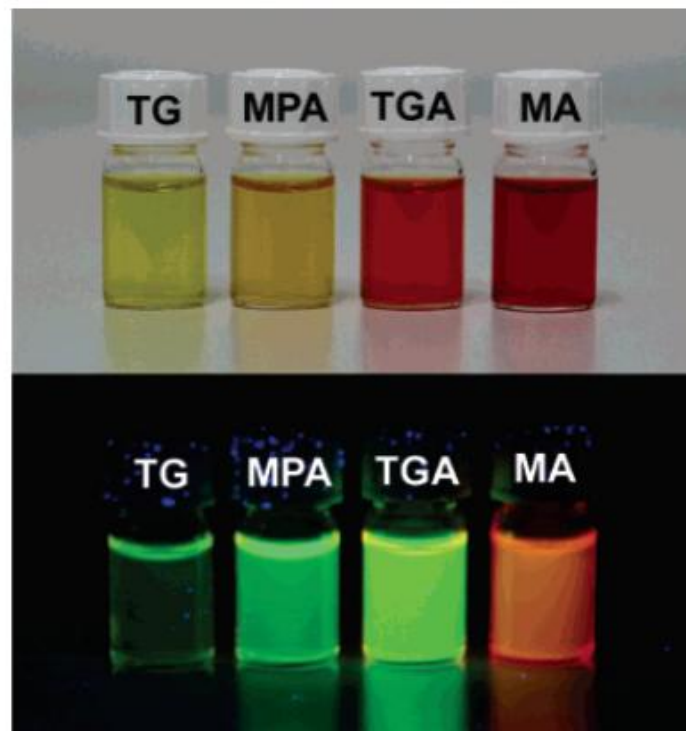


Schéma růstu kvantových teček Stranského-Krastanovým růstem

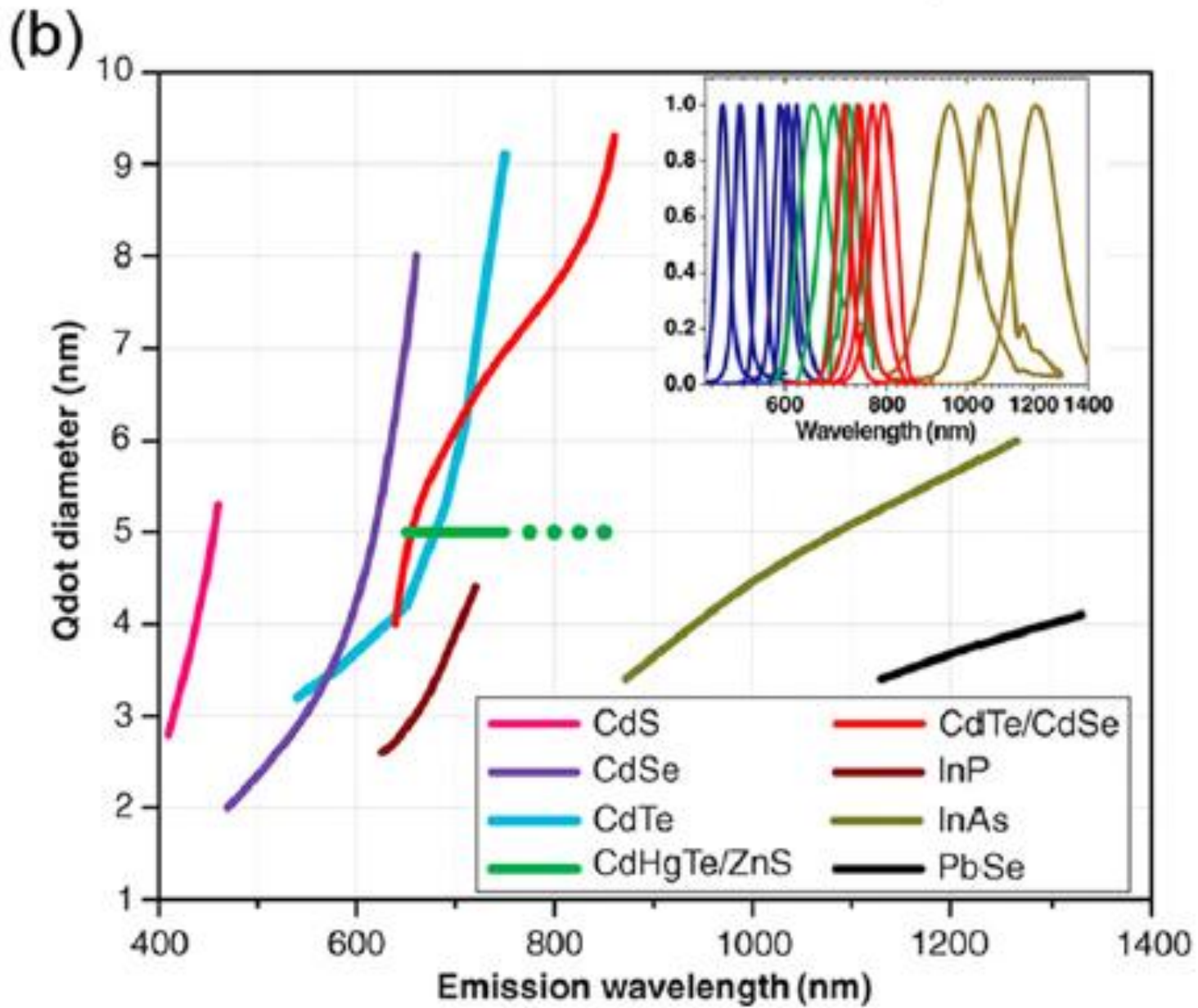
Kvantové tečky - materiál a modifikace

- v roztoku

- různé materiály (ZnS; ZnSe; PbS; CdS; CdSe; CdTe, Si, TiO₂)
- povrchové pokrytí (CdSe/ZnS, polymery)
- silanizace
- ligandy (TOP/TOPO, kyselina olejová, dithiotreitol, thioglycerol)



Zdroj: J. AM. CHEM. SOC. 2006, 128, 10171-10180 9
10171, Hao Zhang, Dayang Wang, Bai Yang



Kvantové tečky - příprava



Za vysoké teploty v organických rozpouštědlech

Ve vodě

1) příprava hydrogen teluridu sodného

2) vznik kvantových teček $\text{CdCl}_2 + \text{NaHTe} + \text{ligand} + \text{zahřívání}$

Ligandy:

MPA 3-merkaptopropionová kyselina: $\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$

MA 2-merkptoethylamin: $\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$

TGA thioglykolová kyselina: $\text{HS-CH}_2\text{-COOH}$

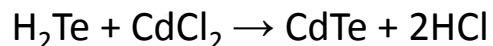
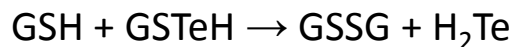
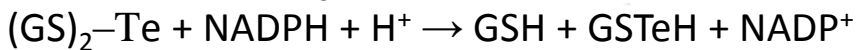
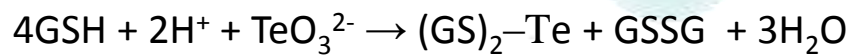
Merkaptoundekánová kyselina: $\text{HS-(CH}_2\text{)}_{10}\text{-COOH}$

Cystein : $\text{HS-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$

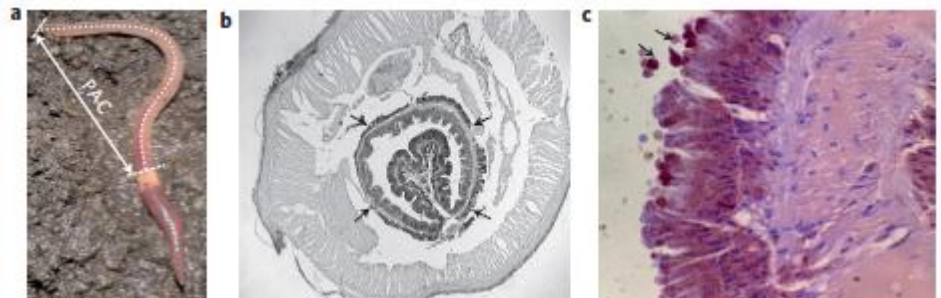


Biologické

v tkáni okolo střev žížal po požití půdy kontainované CdCl_2 a Na_2TeO_3



GSH glutathion



Kvantové tečky - pokrytí



CdTe/CdS

$\text{CdTe} + \text{CdCl}_2 + \text{Na}_2\text{S}$
+ ligand + zahřívání

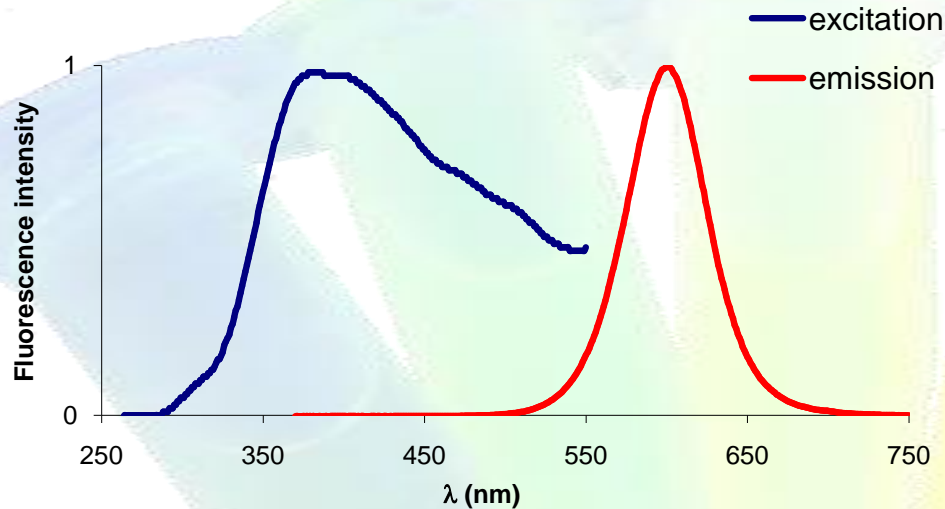


CdTe/CdS/ZnS

$\text{CdTe/CdS} + \text{ZnCl}_2 + \text{Na}_2\text{S}$
+ ligand + zahřívání

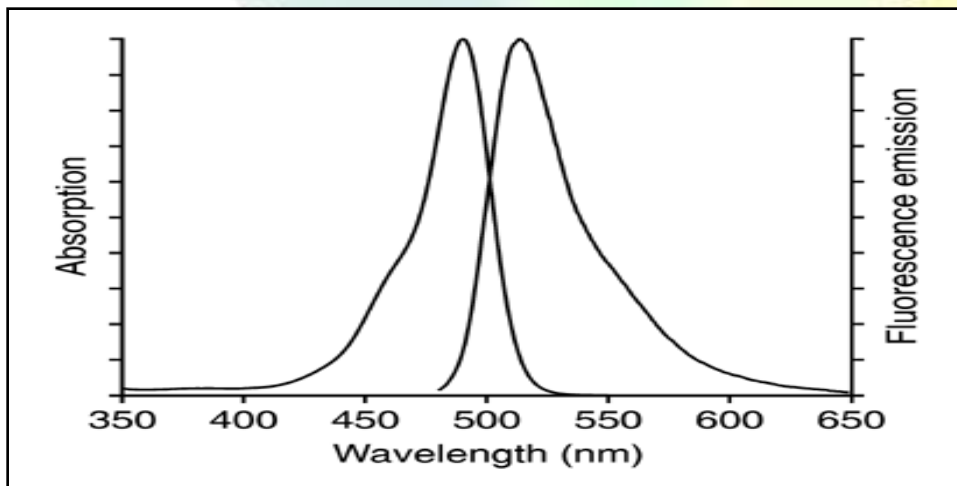
Kvantové tečky – optické vlastnosti

Excitační a emisní spektra luminiscence



Kvantové tečky 600 nm

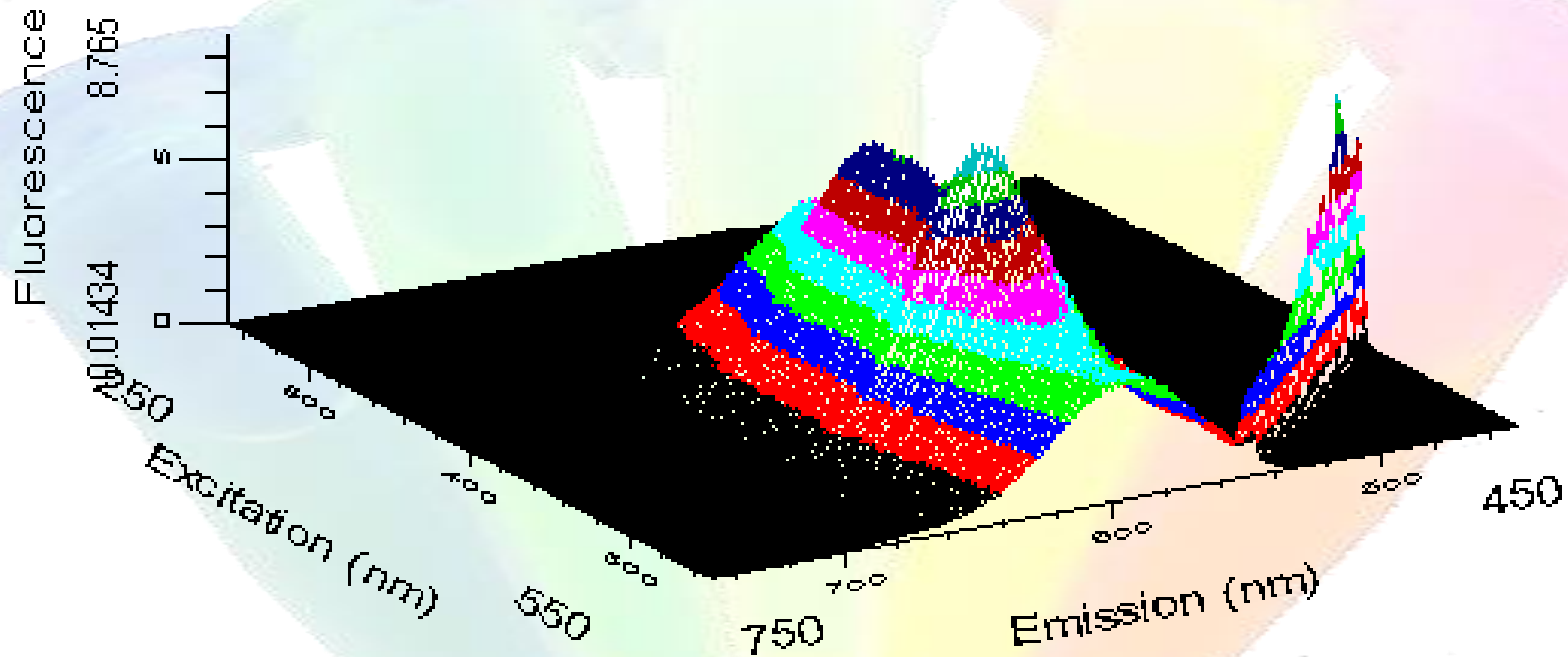
- široké excitační spektrum s maximem v 469 nm
- úzké emisní spektrum s maximem v 600 nm



Fluorescein

- excitační maximum 494 nm
- emisní maximum 521 nm

Kvantové tečky – optické vlastnosti



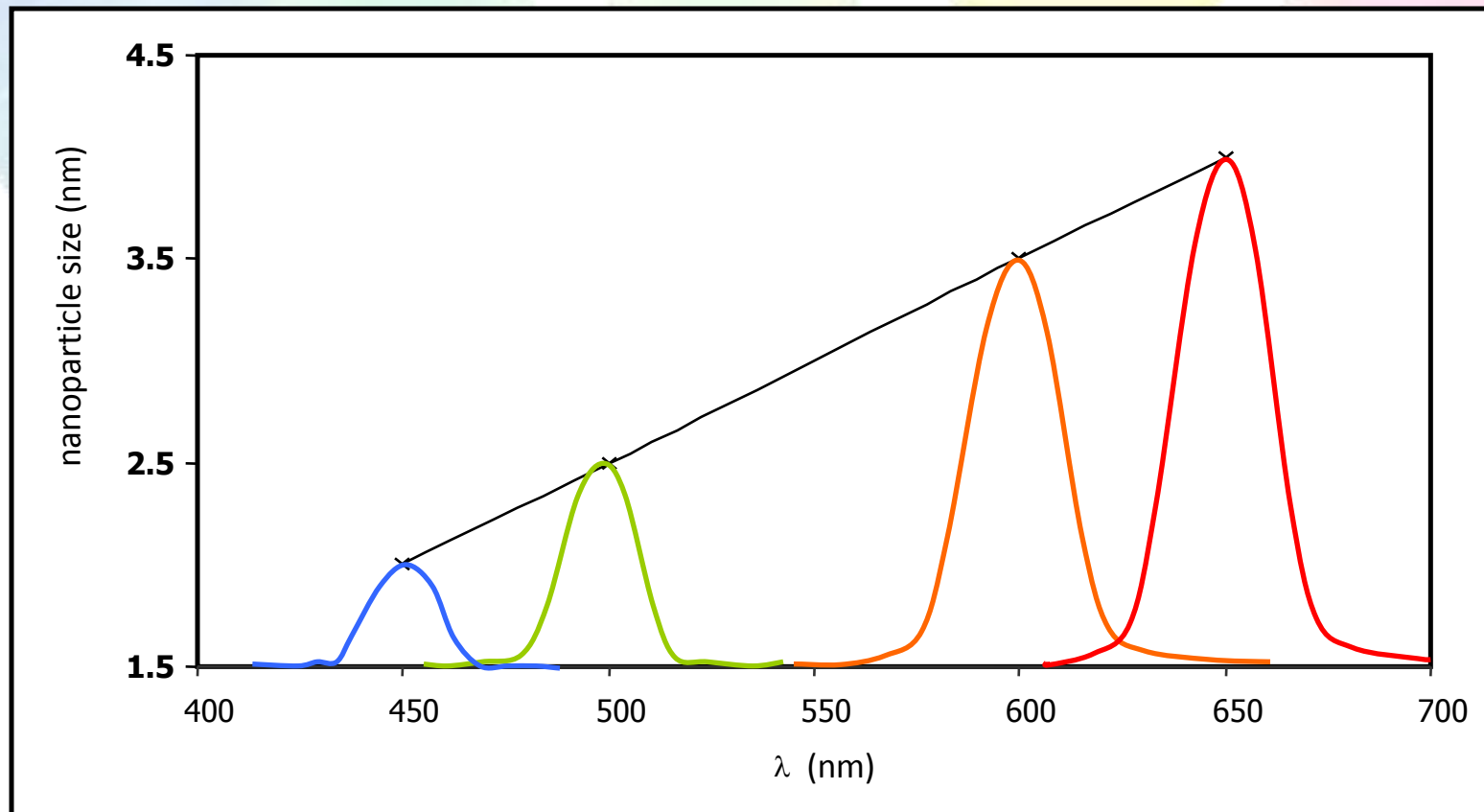
- široké excitační spektrum s maximem v 469 nm

- úzké emisní spektrum s maximem v 600 nm
- pološířka spektra 58 nm

Kvantové tečky – optické vlastnosti

Závislost emisního maxima na velikosti nanočástic

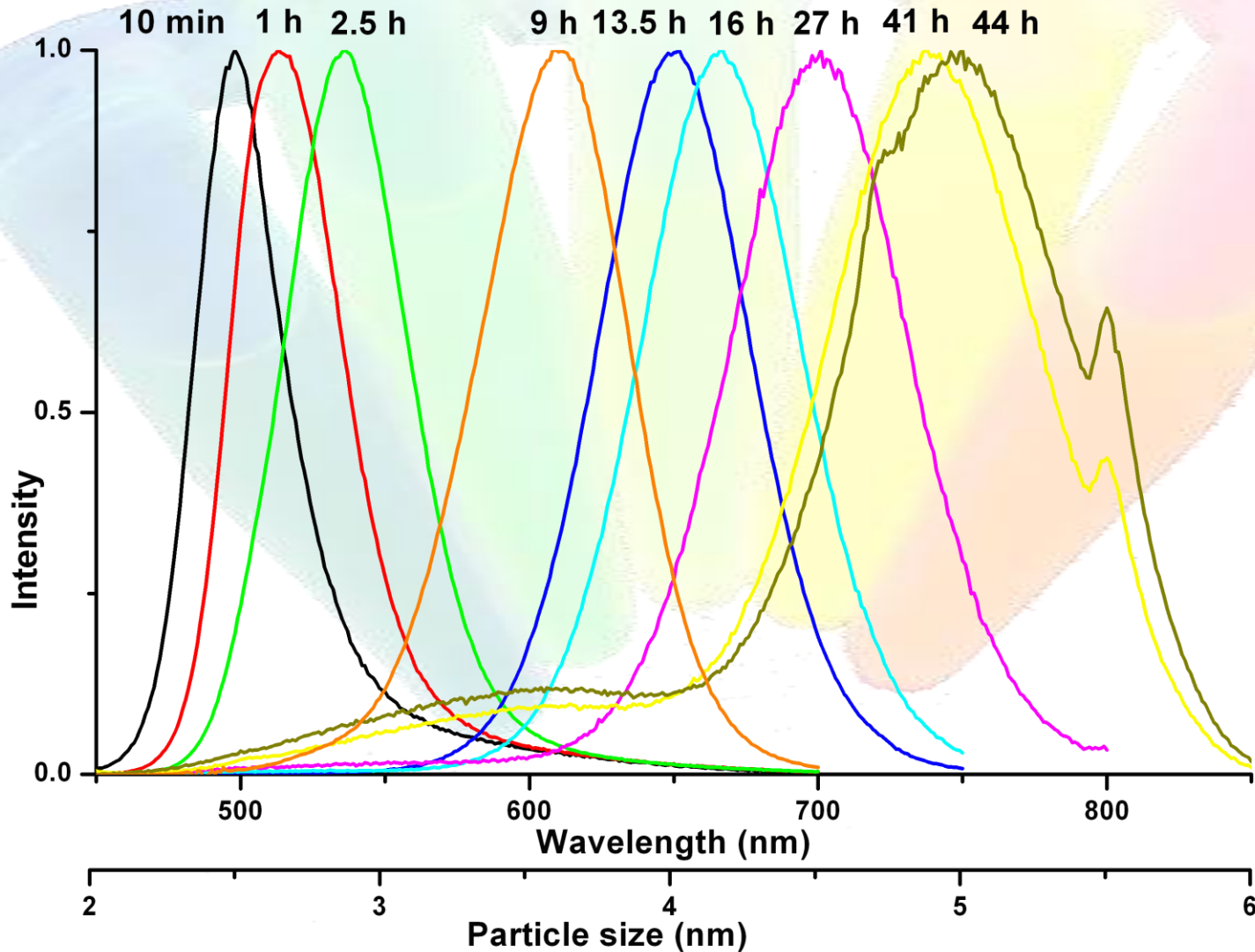
- maximální emisní vlnová délka roste s průměrem nanočástice



Eychmuller, A.; Rogach, A. L. Chemistry and photophysics of thiol-stabilized II-VI semiconductor nanocrystals *Pure and Applied Chemistry* **2000**, 72, 179-188.

Kvantové tečky – optické vlastnosti

Emisní maxima kvantových teček odebraných v různých časech reakce



Kvantové tečky – optické vlastnosti

Závislosti velikosti částice na refluxním čase

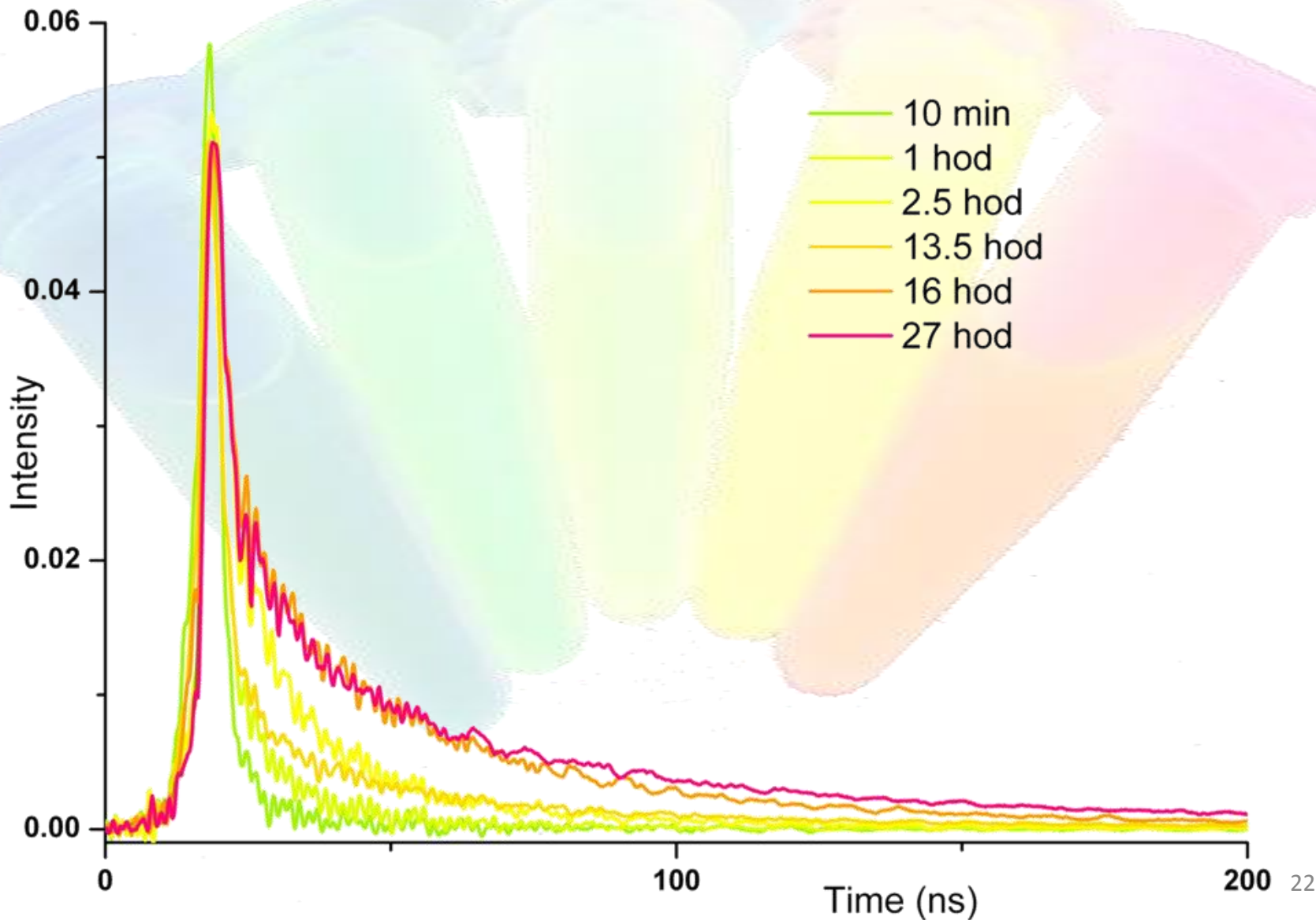
- různé refluxní časy ve druhém kroku reakce
- se vzrůstajícím refluxním časem stoupají emisní vlnové délky i průměr nanočástic



Doba varu	10 min	1 h	2.5 h	13.5 h	16.5 h	27 h	41 h	44 h
Maximum emise (nm)	498	517	536	652	667	701	737	750
Velikost částice (nm)	1.99	2.67	2.86	4.02	4.17	4.80	4.87	5

Kvantové tečky – optické vlastnosti

Doby života luminescence



Kvantové tečky – kvantový výtěžek

	MPA	MA
reakční směs	8,12	21,8
přesráženo	1,75	15,84
CdS	6,39	25,54
CdS přesráženo	13,37	8,47
CdS/ZnS	5,44	27,96
CdS/ZnS přesráženo	5,69	0,4
CdS/Si	9,21	

$$QY_{QD} = QY_S \frac{A_S I_{QD}}{I_S A_{QD}}$$

S – standard

(fluorescein QY = 0.90*)

* Demas J.N, Crosby G.A., J Phys. Chem., 75, 991 (1971)

	530 nm	600 nm	650 nm
cystein	-	3,28	3,63
merkaptoethanol	1,67	-	-
merkaptoundecanová kyselina	2,98	-	-
hydrazide	-	7,02	-
TGA		2,29	
jednokroková syntéza	4,57	11,17	-

Kvantové tečky – optické vlastnosti

Dobrá chemická stabilita a fotostabilita

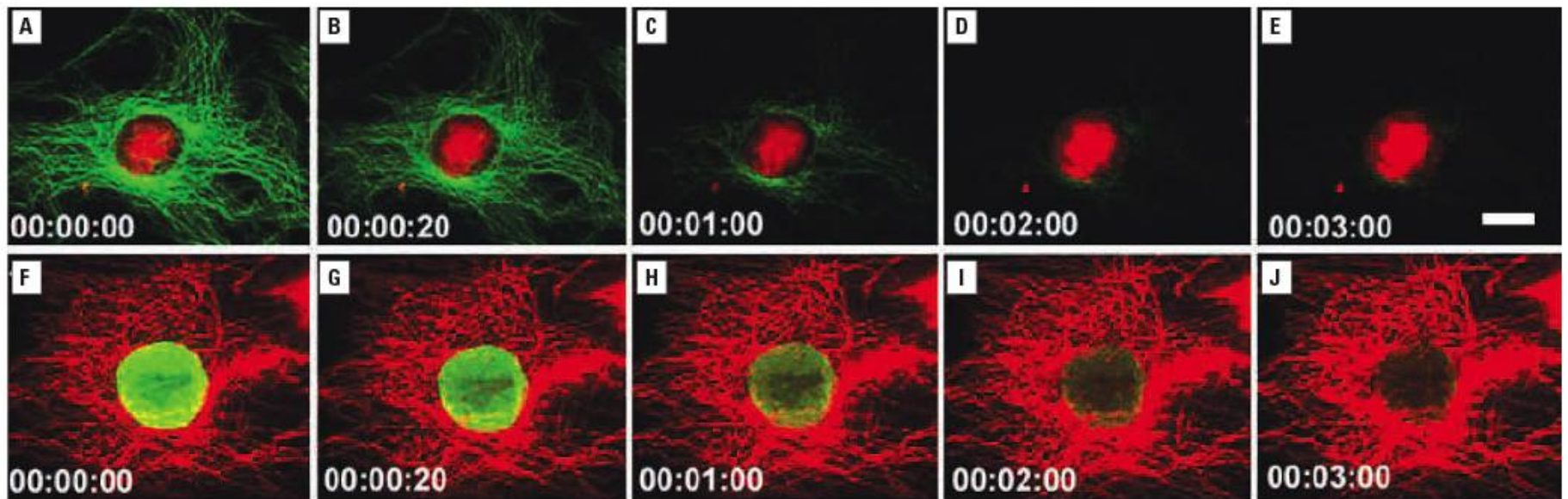
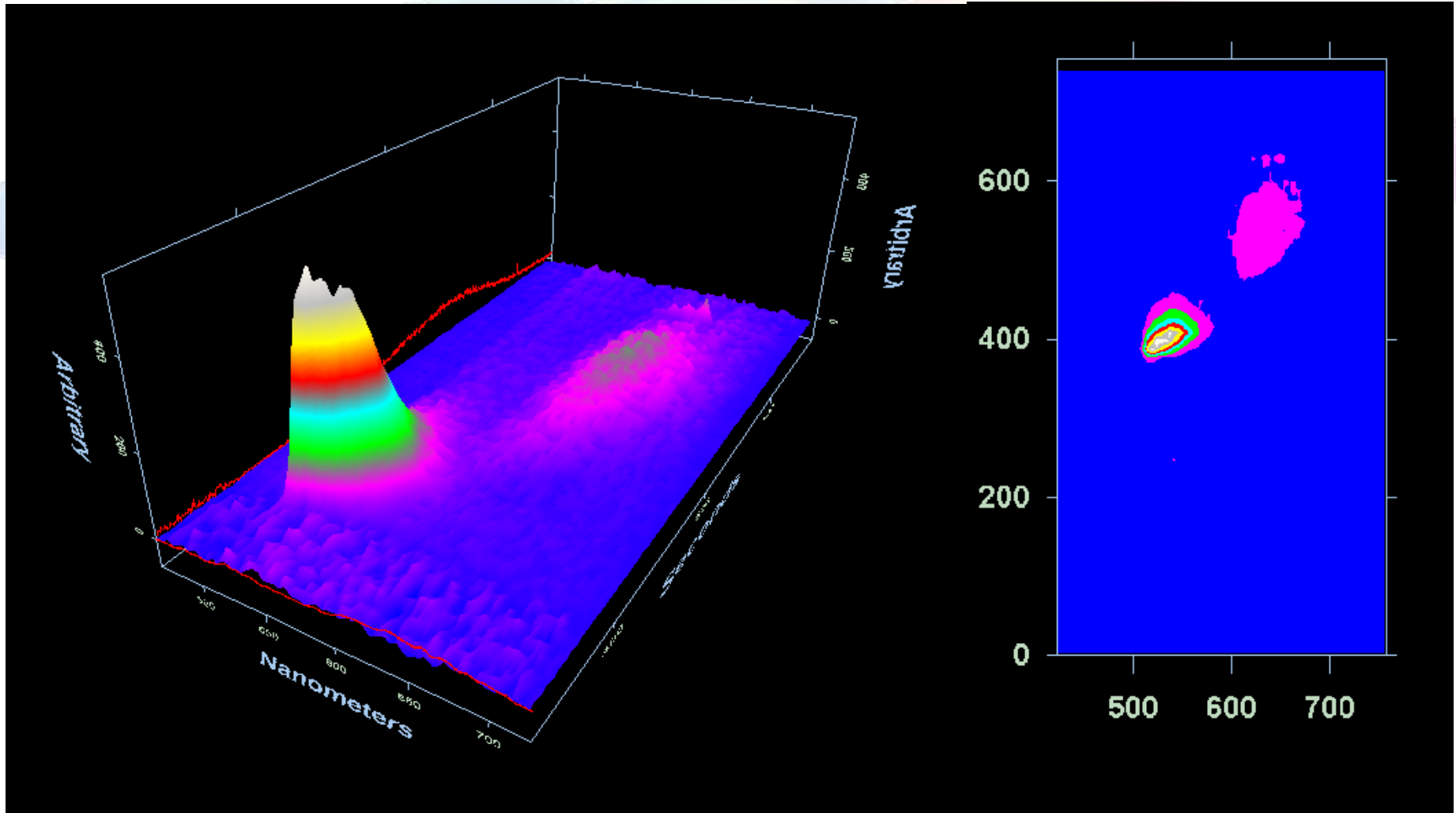


Figure 1. Fluorescent photostability and fluorescence intensity of quantum dots (QD 630) compared with organic dye Alexa 488. (A–E) Nuclei are labeled bright red with QD 630–streptavidin; actin fibers are stained green with Alexa 488. (F–I) Images of actin fibers are labeled red with QD 630–streptavidin; nuclei are labeled green with Alexa 488. Numbers in the bottom left corner indicate elapsed time. Scale bar, 10 μm . From Wu et al. (2003) and reproduced with permission from Quantum Dot Corp. (Hayward, CA).

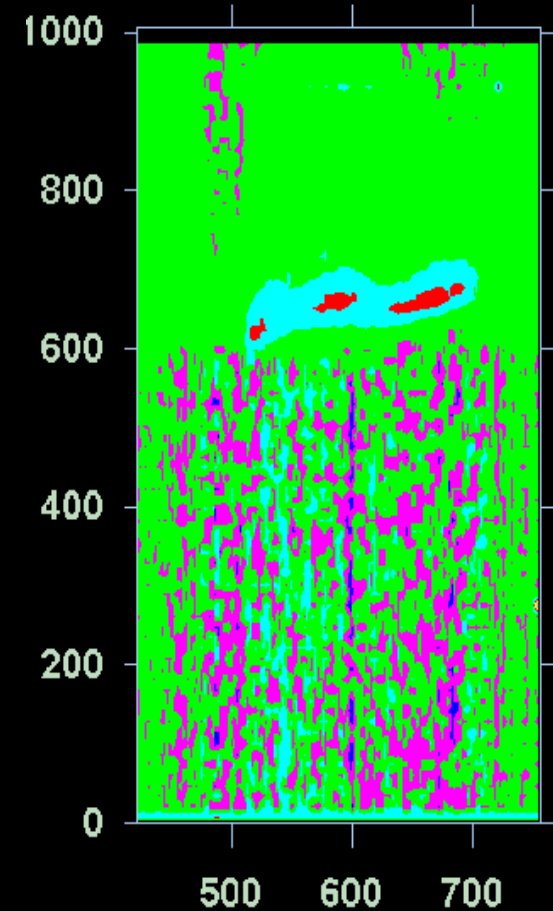
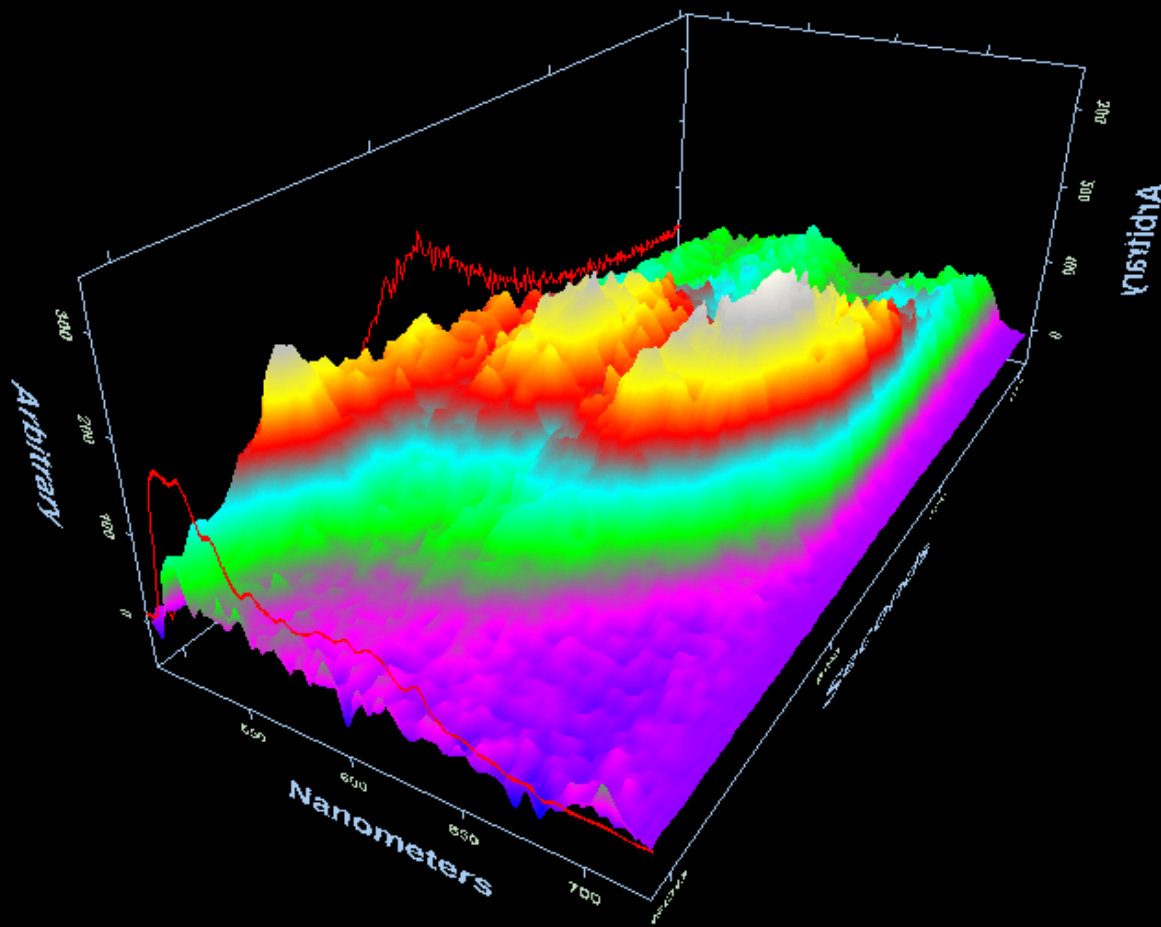
Kvantové tečky - separace

CE-LIF



PVA coated capillary 20/30 cm, i.d. 75 μ m, gel 3% LPA 10MDa in 50mM TRIS/TAPS buffer, pH = 9
QD 2,8 + 3,7 nm (525 + 610 nm 1:1), injection 10s, separation voltage 3 kV

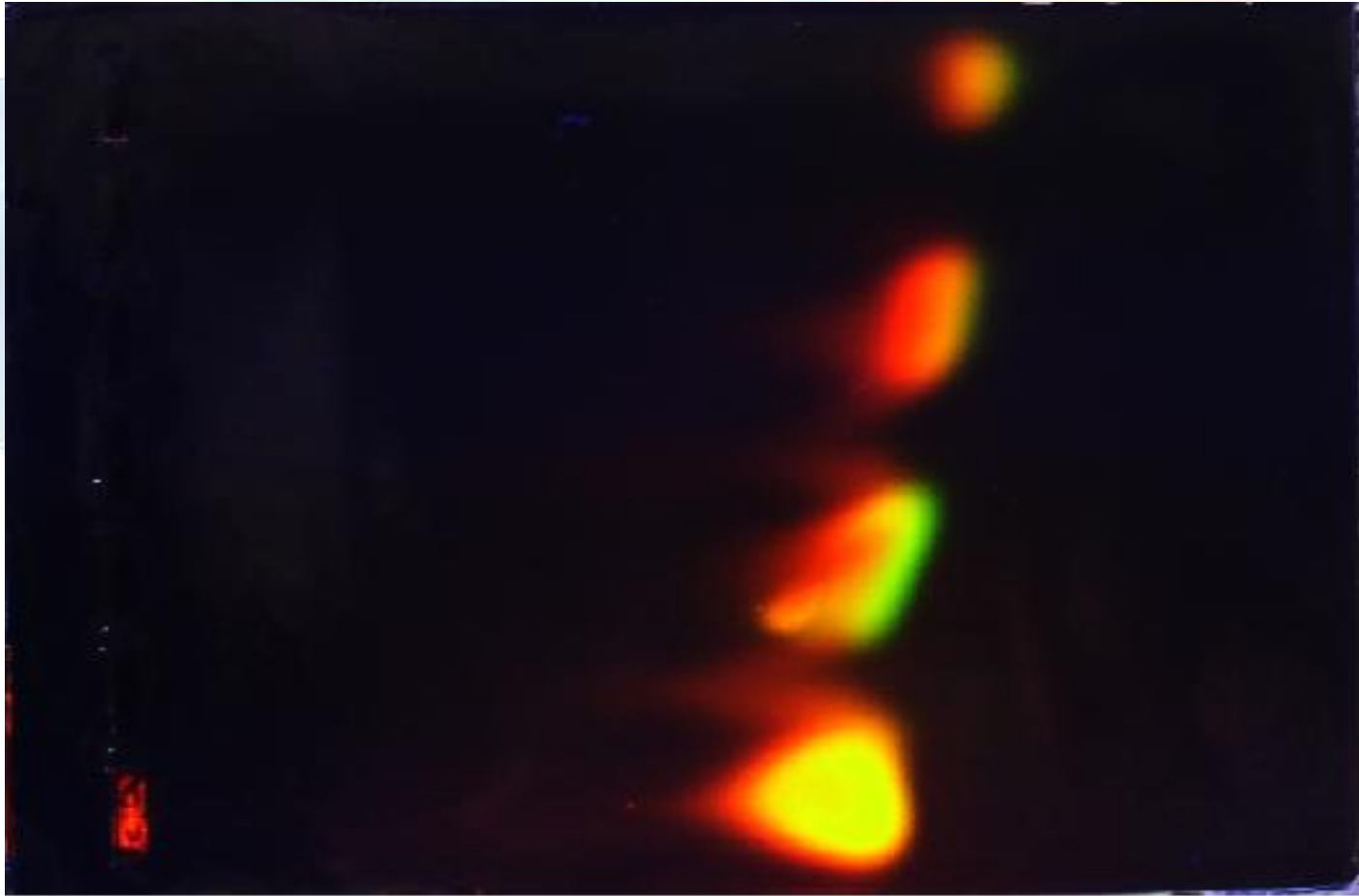
Kvantové tečky - separace CE-LIF



Coated capillary Dolnik 15/25 cm, i.d. 50 μ m, gel 3% LPA 10MDa in 50mM TRIS/TAPS buffer, pH = 9
QD 2,8 + 3,5 + 4,3 nm (525 + 595 + 675 nm 5:3:1), injection 10s, separation voltage 3 kV

Kvantové tečky - separace

Gelová electroforéza

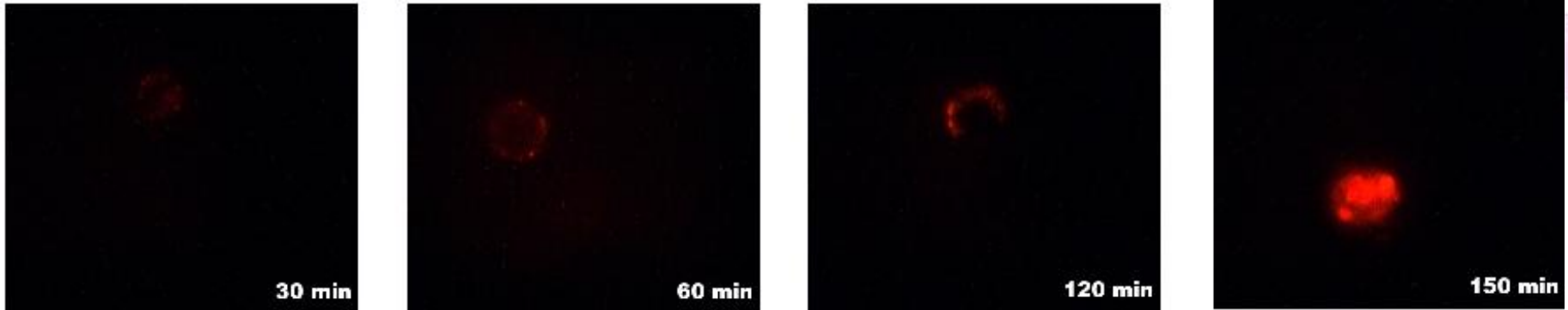


Separation conditions: 1% agarose in 90 mM TRIS/borate buffer pH = 8.5, separation voltage 70 V

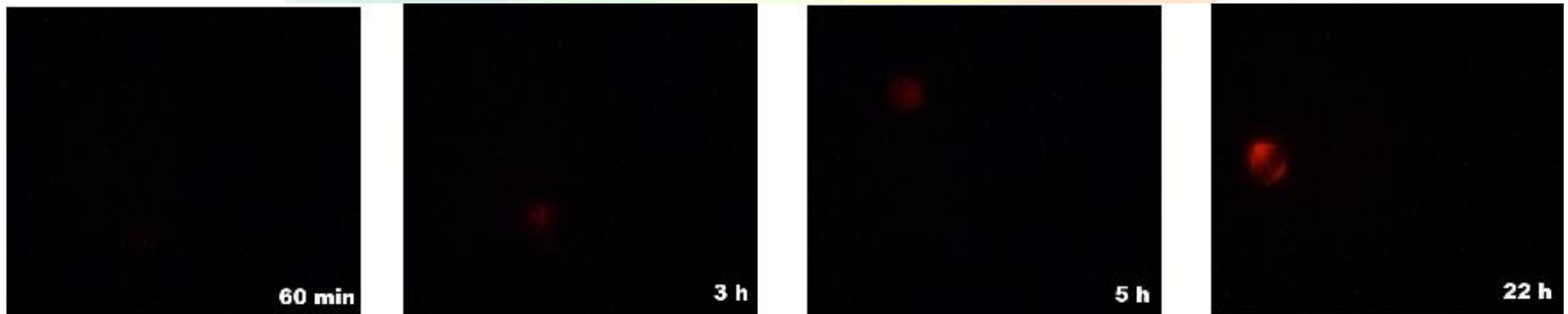
Kvantové tečky – použití

Neselektivní luminiscenční značení

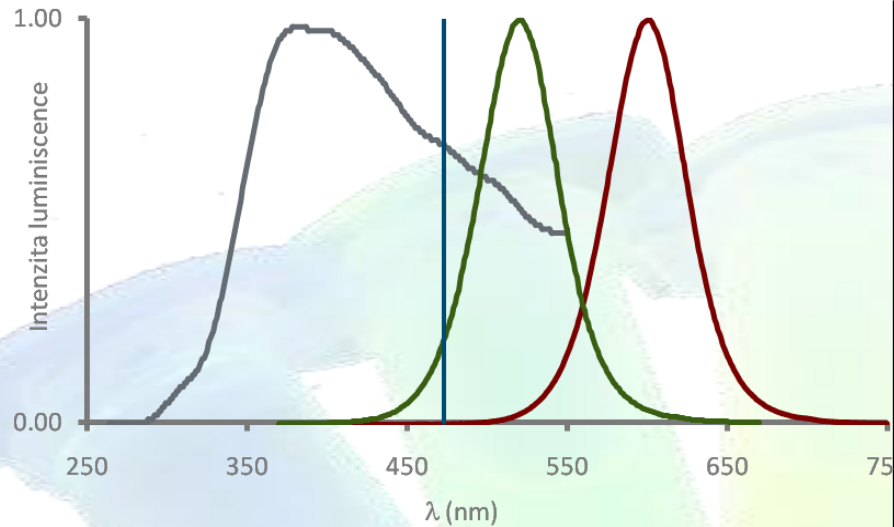
Human lymphocytes



Saccharomyces cerevisiae



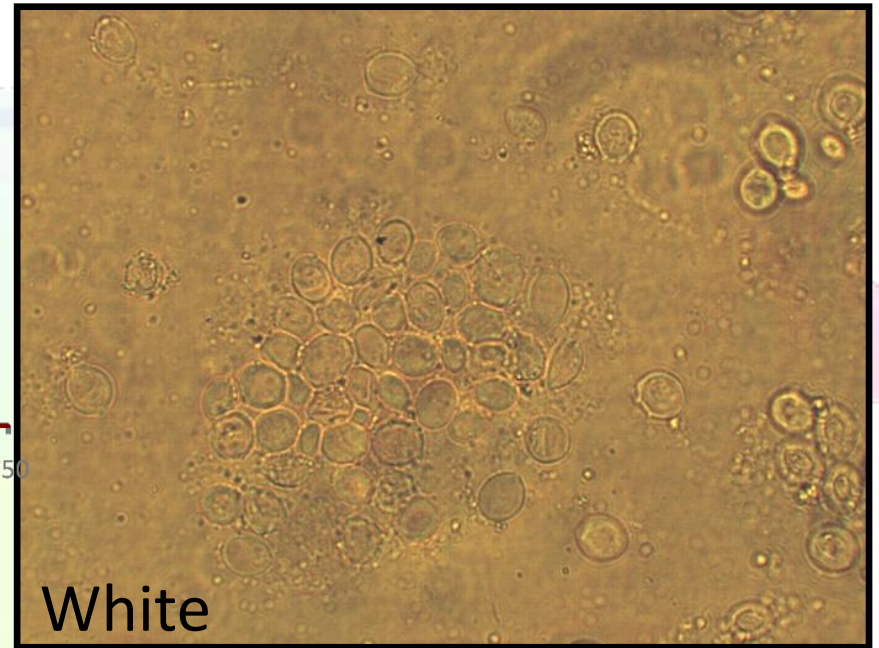
Neselektivní luminiscenční značení



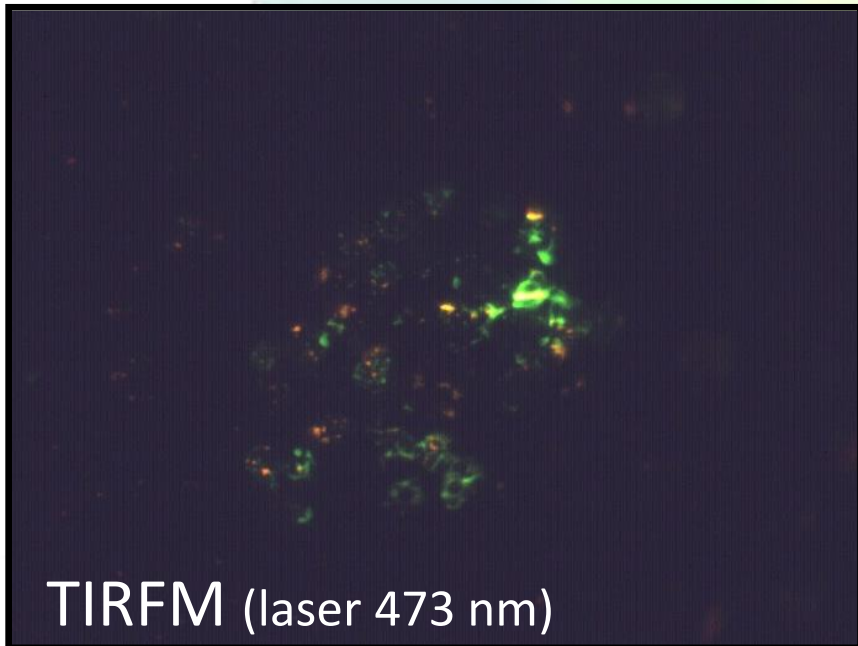
excitační spektrum, excitační laser 473 nm

emisní spektrum, $\lambda_{em} = 522$ nm

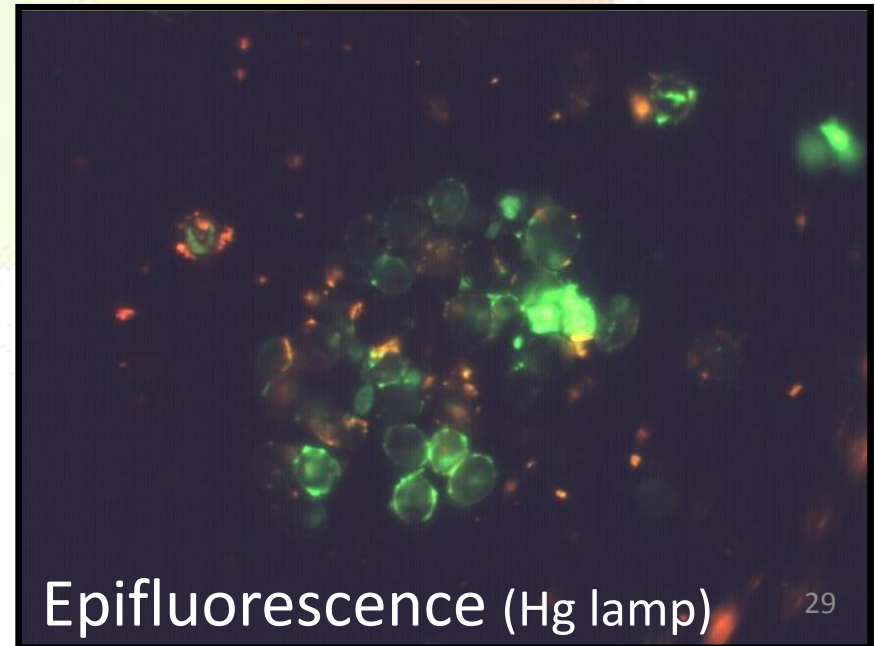
emisní spektrum, $\lambda_{em} = 610$ nm



White



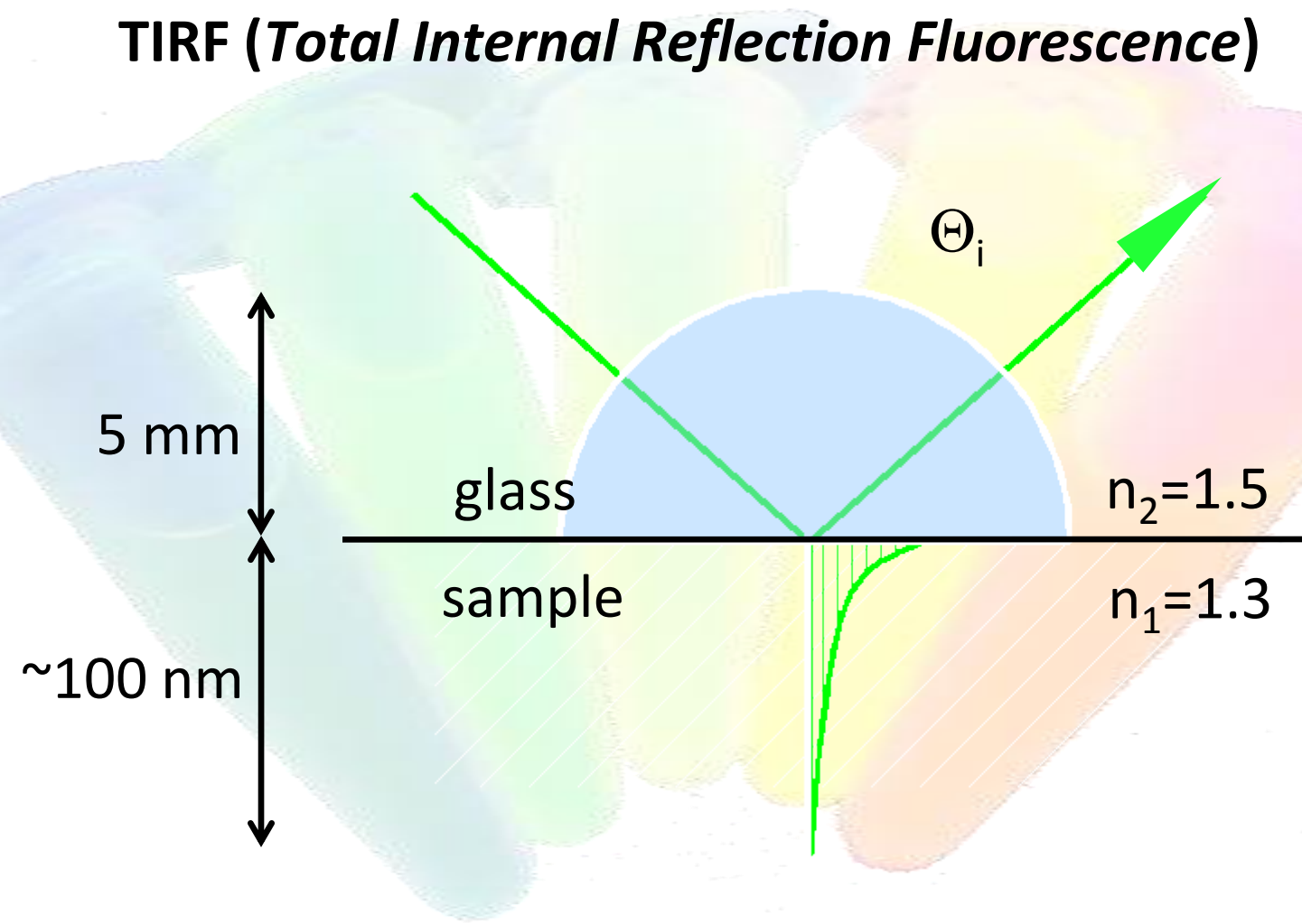
TIRFM (laser 473 nm)



Epifluorescence (Hg lamp)

Neselektivní luminiscenční značení

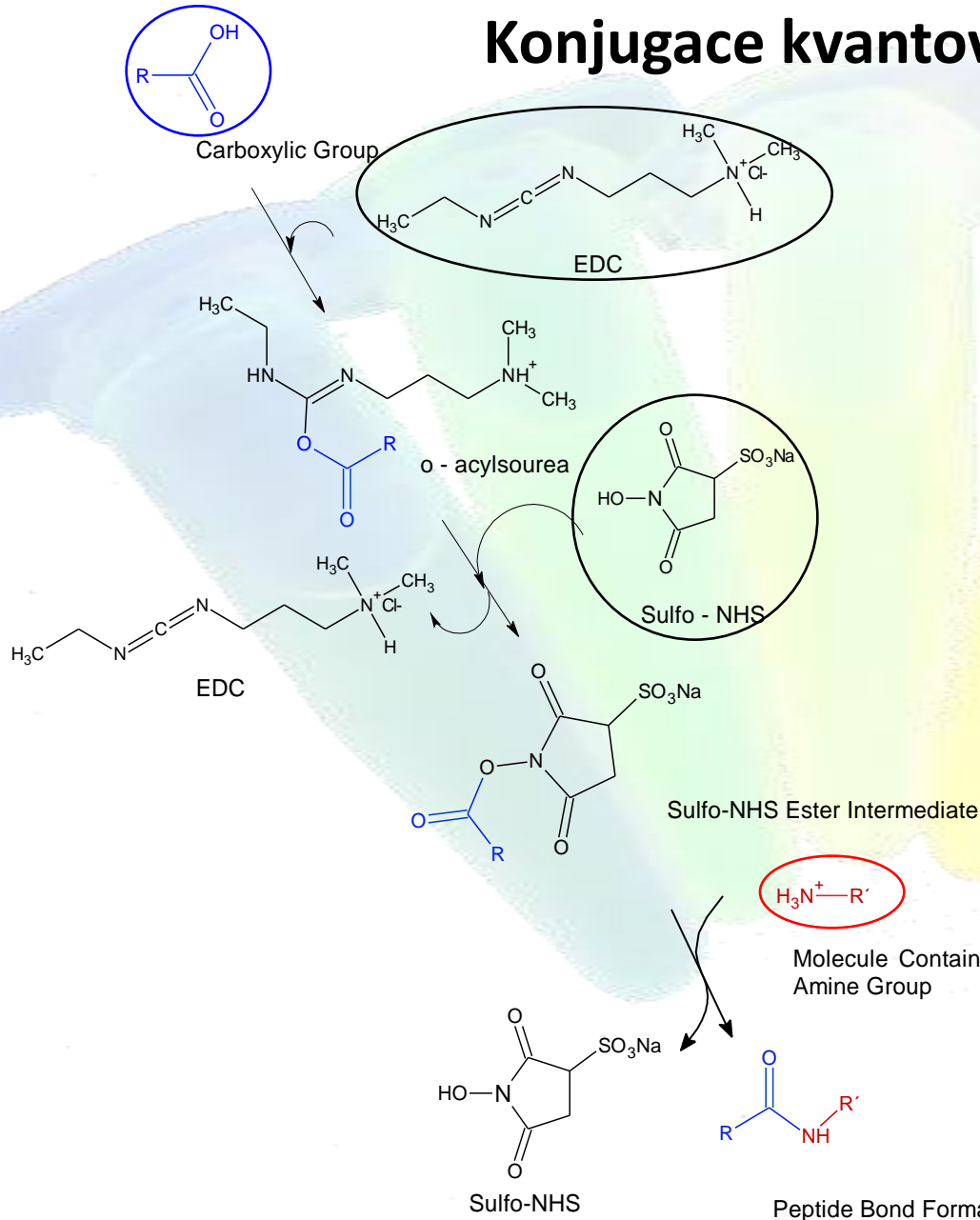
TIRF (*Total Internal Reflection Fluorescence*)



TIRF instrumental, Nd:YAG laser (2x) 532 nm, inverted microscope Intraco Micro objective 100x/1,25GLYC

Kvantové tečky - použití

Konjugace kvantové tečky s protilátkou



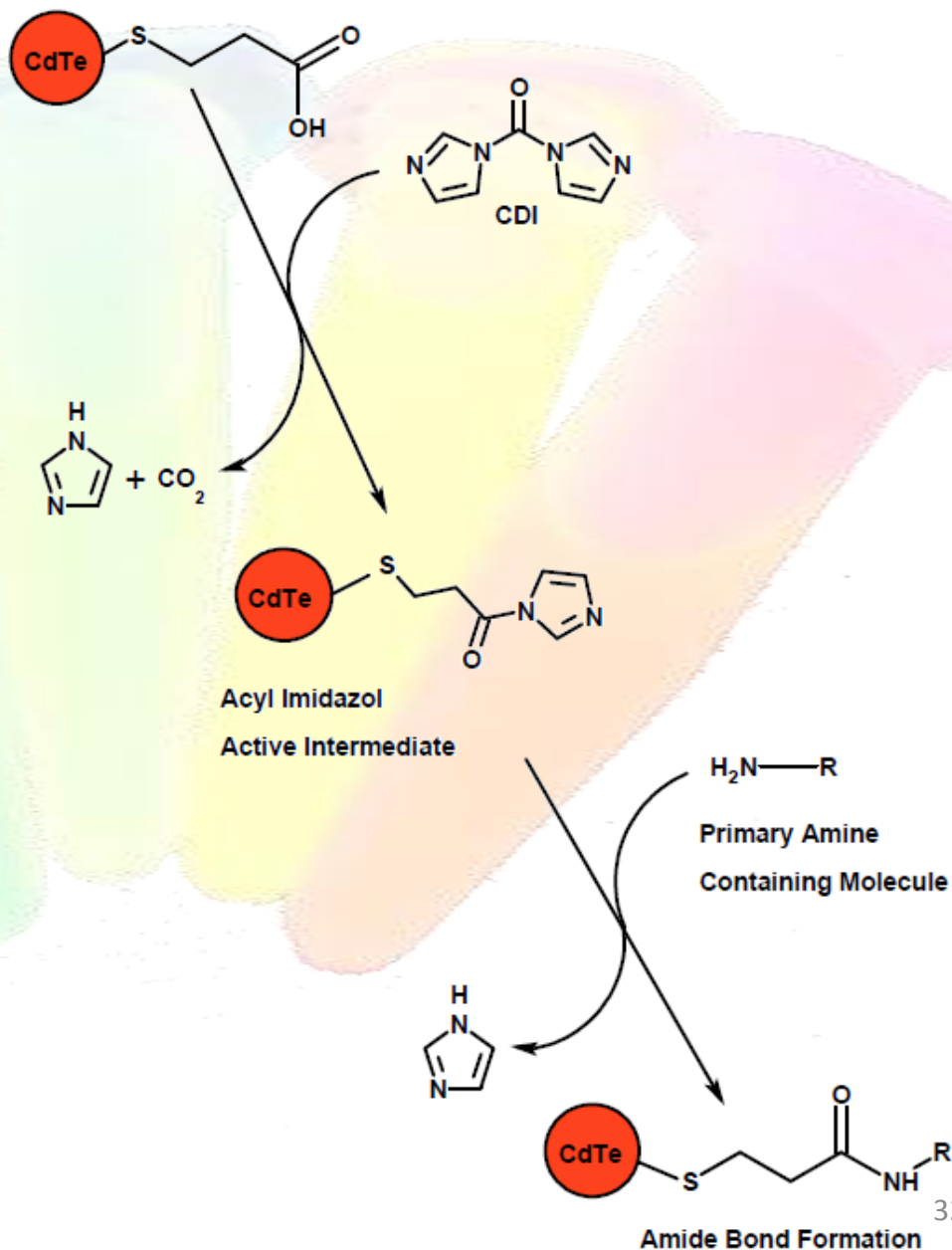
1-ethyl-3-(3-dimethyl-3-aminopropylcarbodiimide hydrochloride (EDC) and *N*-hydroxysulfosuccinimide (Sulfo-NHS):

- vznik peptidické vazby
- karboxylová skupina MPA na povrchu tečky
- aminoskupina protilátky
- katalyzátory: EDC
Sulfo-NHS

Konjugace kvantové tečky s protilátkou

N, N'-carbonyldiimidazol (CDI):

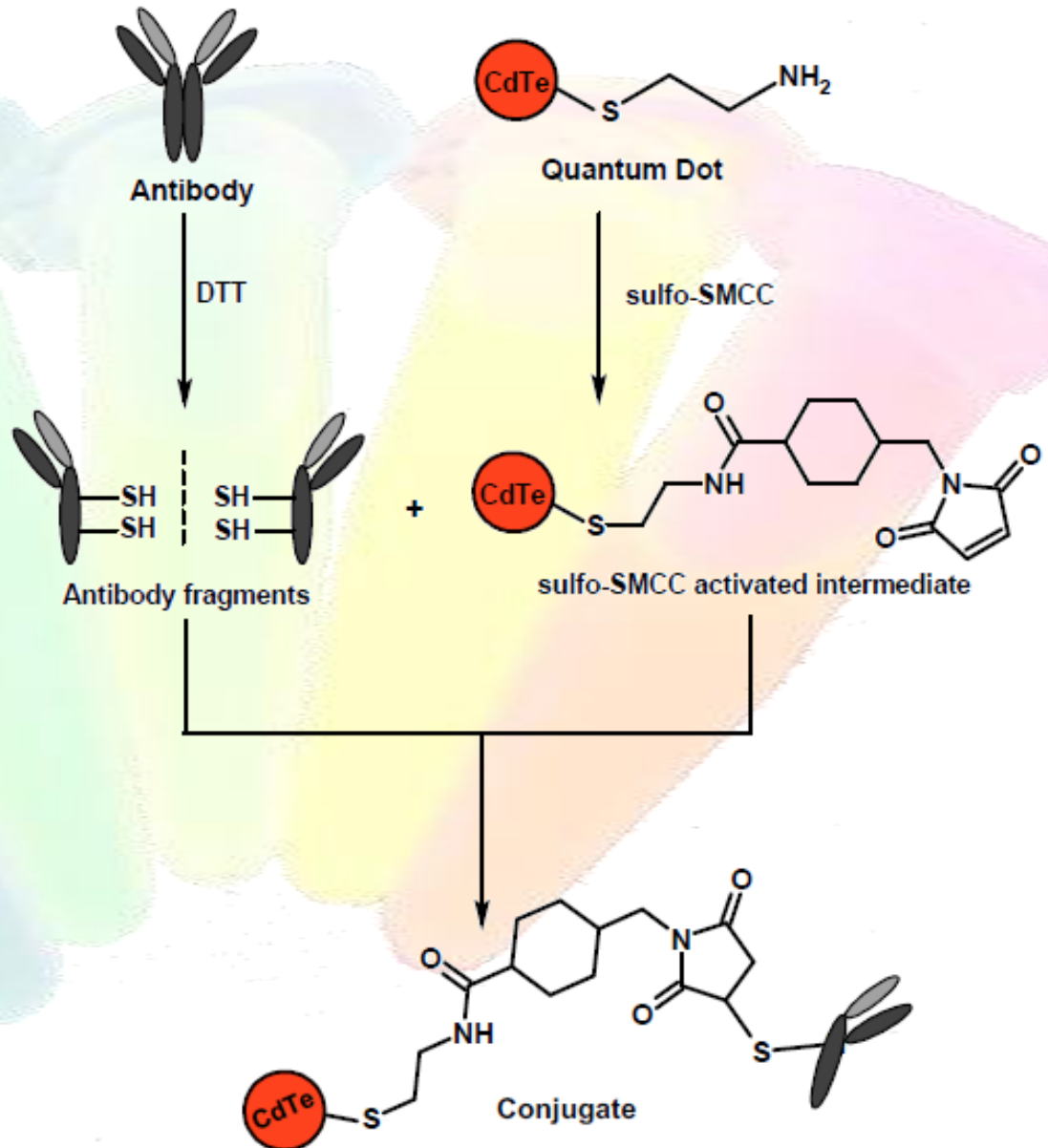
- karboxylová skupina MPA vázané na povrchu QD
- katalyzátor: CDI
- amino skupina konjugované látky
- tvoří se peptidická vazba



Konjugace kvantové tečky s protilátkou

Sulfosuccinimidyl
-4-(N-maleinimidomethyl)
-cyklohexane-1-carboxylate
(**Sulfo-SMCC**):

- amino skupina MA vázané na povrchu QD
- katalyzátor: Sulfo-SMCC
- thiolová skupina protilátky
- tvorba thioetherové vazby



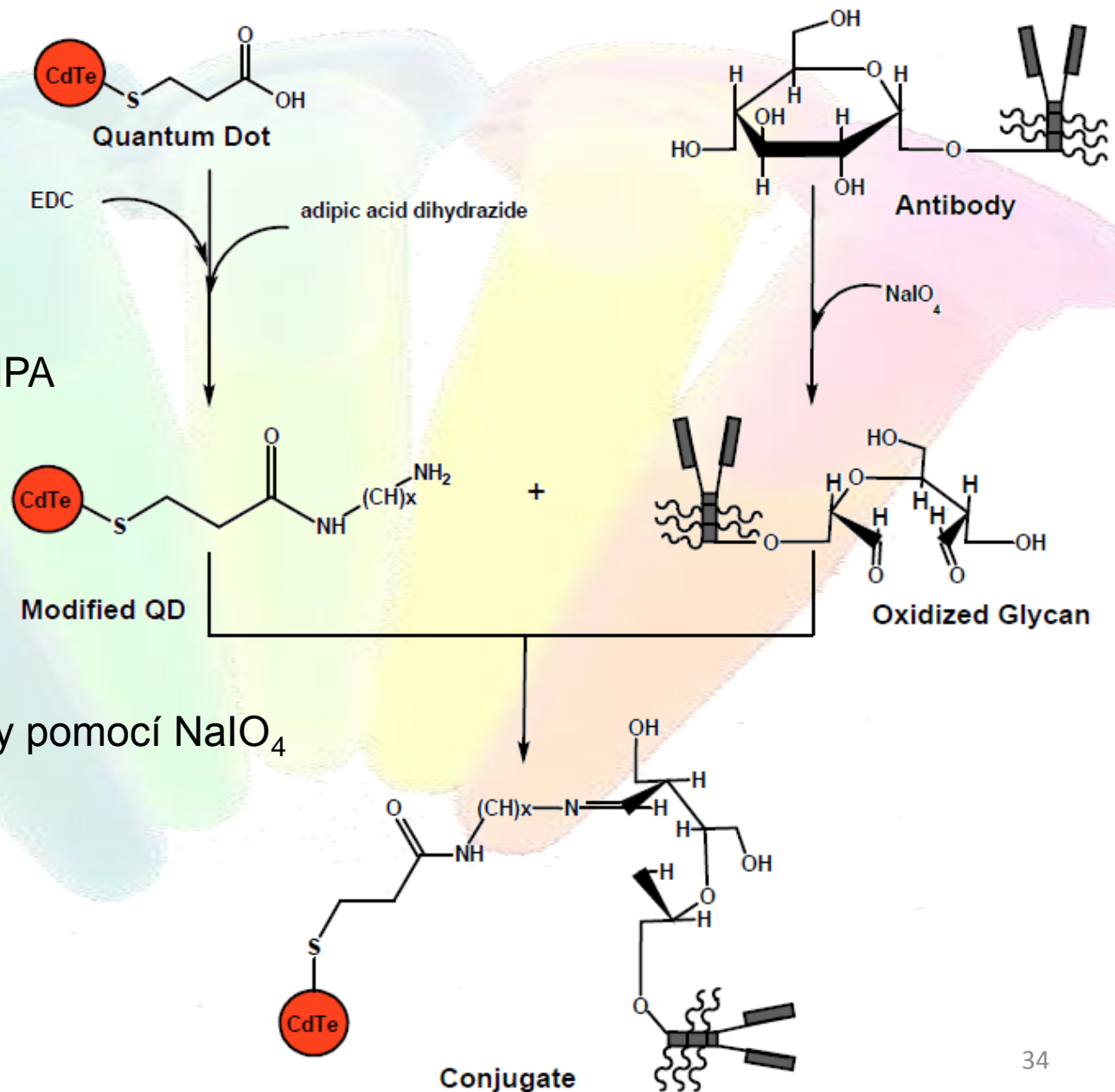
Konjugace kvantové tečky s protilátkou

Přes oxidované cukry na protilátce:

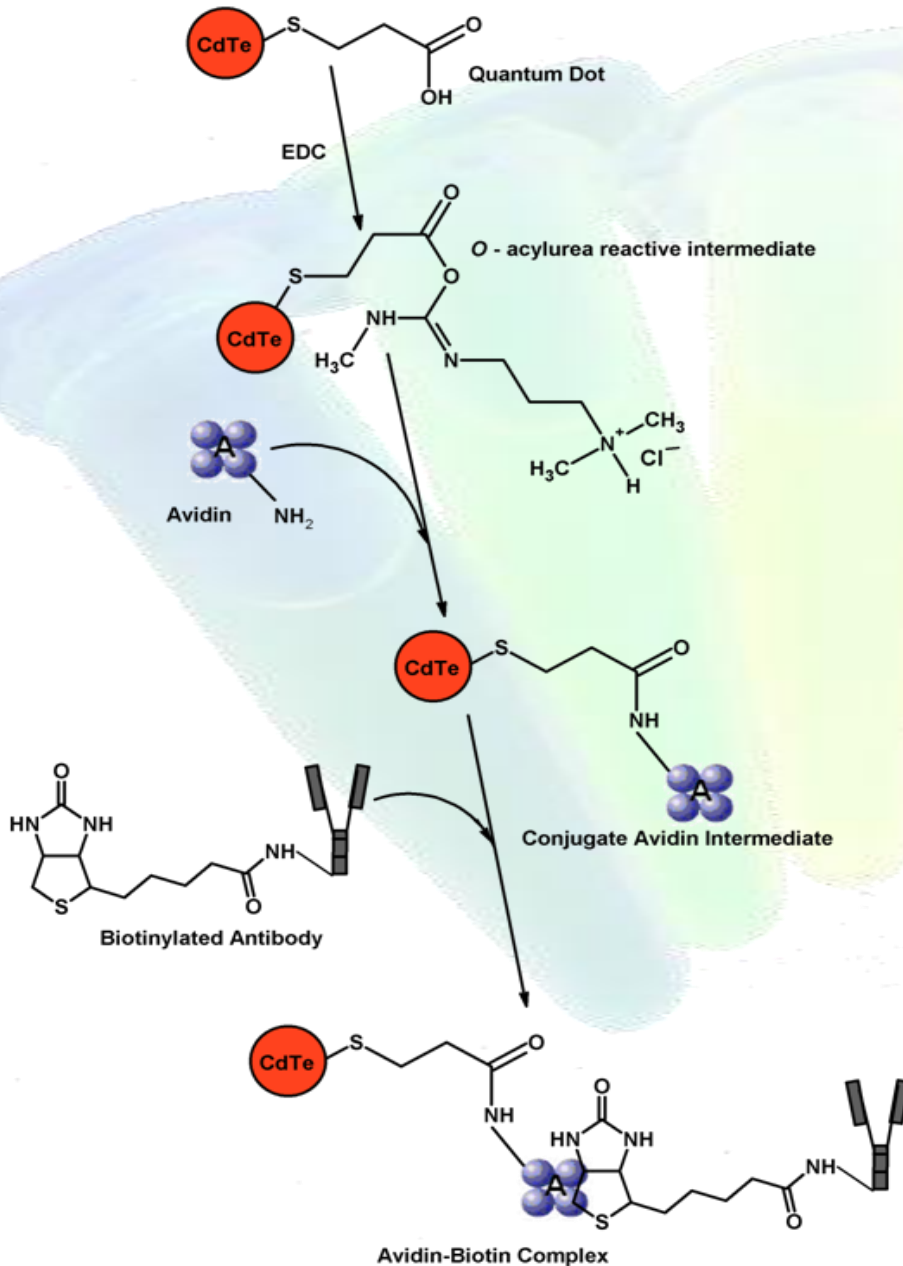
- karboxylová skupina MPA vázané na povrchu QD modifikovaná dihydrazidem adipové kyseliny

- oxidace cukrů protilátky pomocí NaIO_4

- tvorba etherové vazby



Konjugace kvantové tečky s protilátkou



Avidin-biotin interakce:

- karboxylová skupina MPA vázané na povrchu QD
- katalyzátor: EDC (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)bodyimide hydrochloride)
- amino skupina avidinu
- tvoří se peptidická vazba
- afinitní interakce avidin-biotinylovaná protilátka

Kvantové tečky - použití

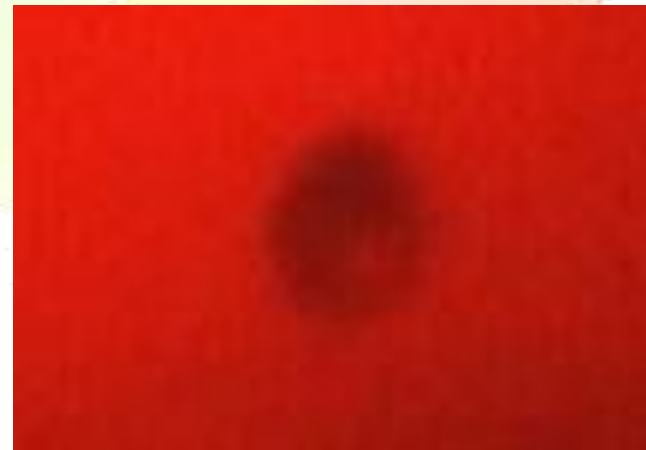
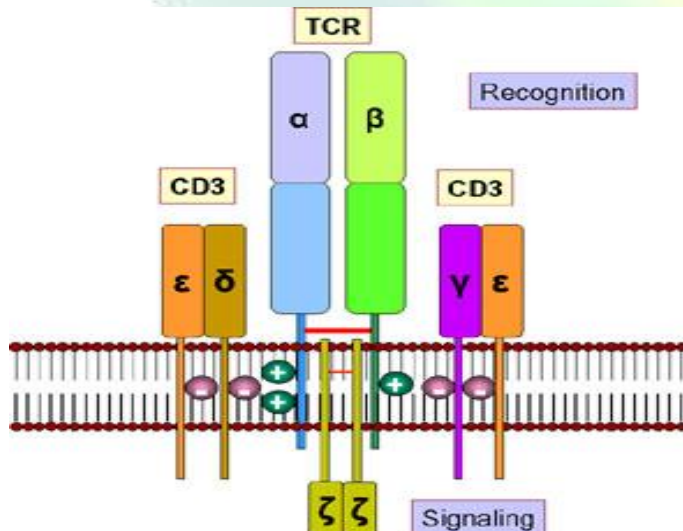
Zobrazování lymfocytů značenou protilátkou na CD3 protein



T-lymfocyt značený fluoresceinem



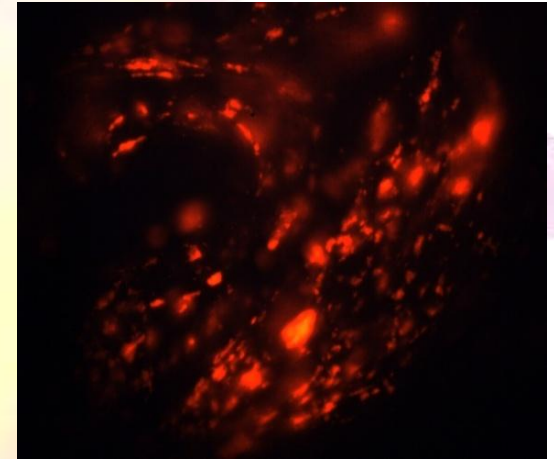
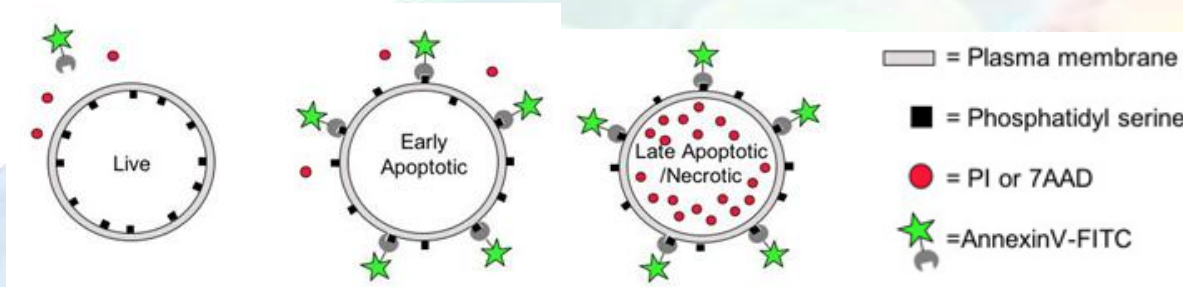
T-lymfocyt



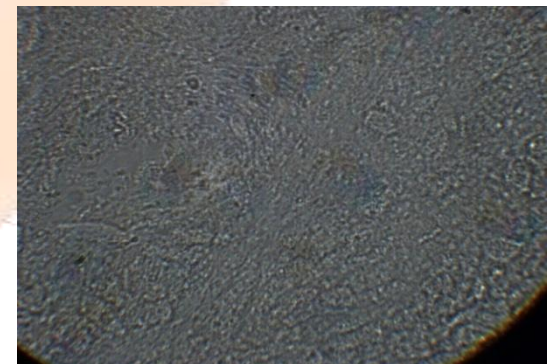
B-lymfocyt

Kapilární elektroforéza konjugátů QD

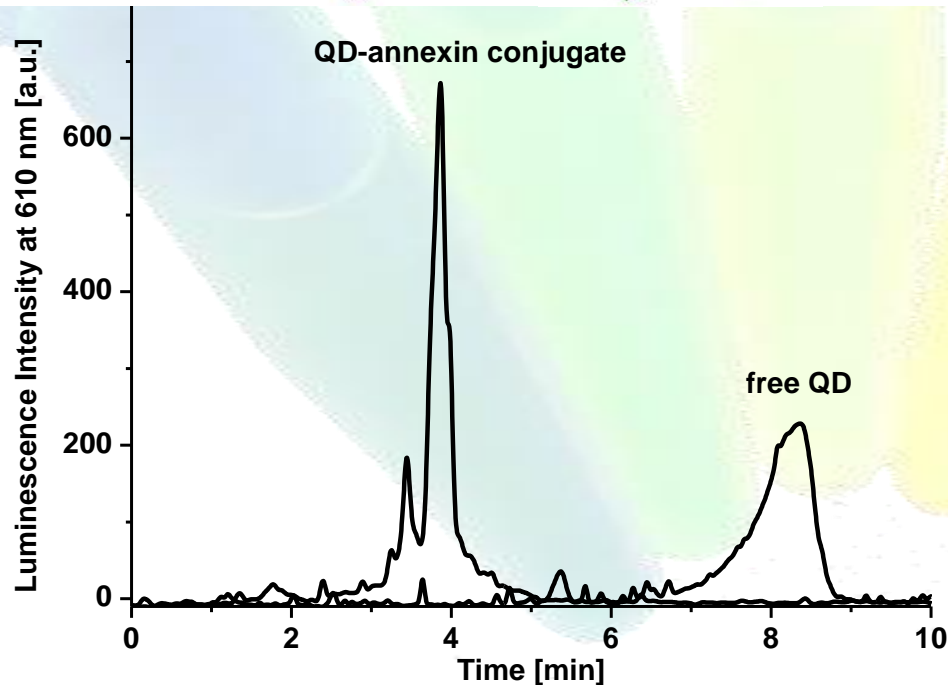
Apoptotické buňky myšního duodena značené konjugátem QD-annexin



luminescence při 590 – 650 nm

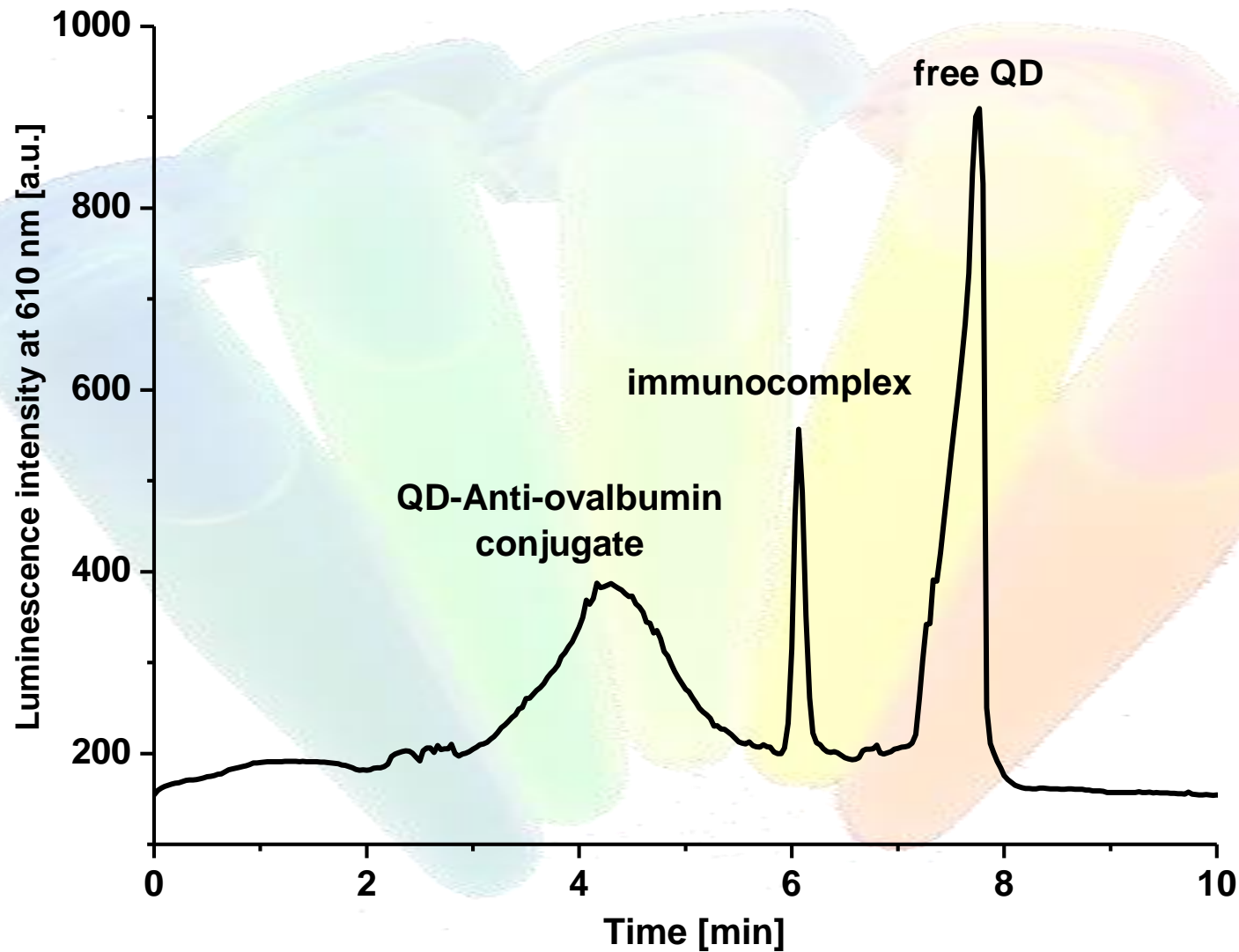


Viditelné světlo



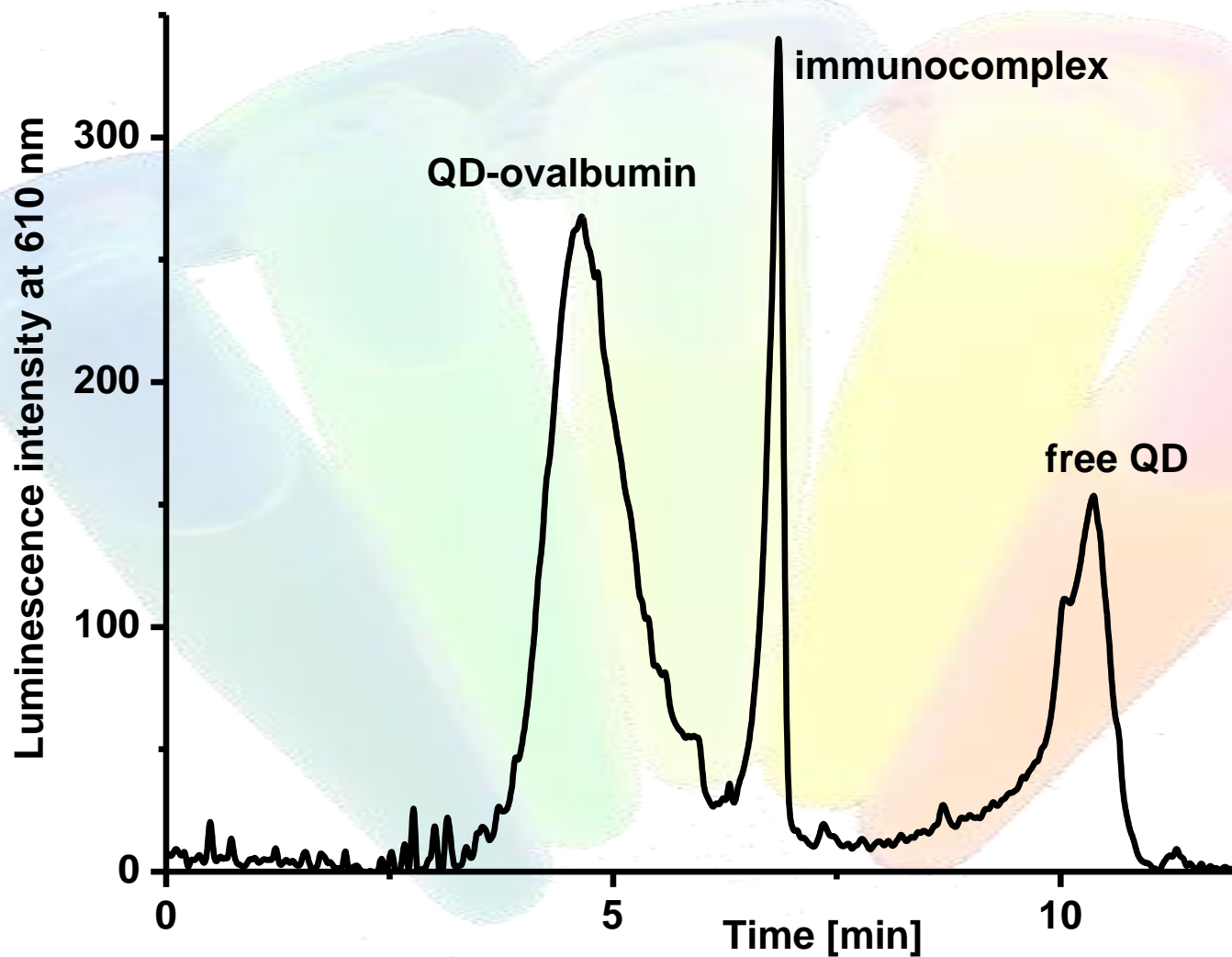
Podmínky separace: nepokrytá křemíková kapilára 15/25 cm, separační napětí 6 kV, čávkovací čas 15 s, separační pufr 100 mM TRIS/TAPS, pH = 8.3

Kapilární elektroforéza konjugátů



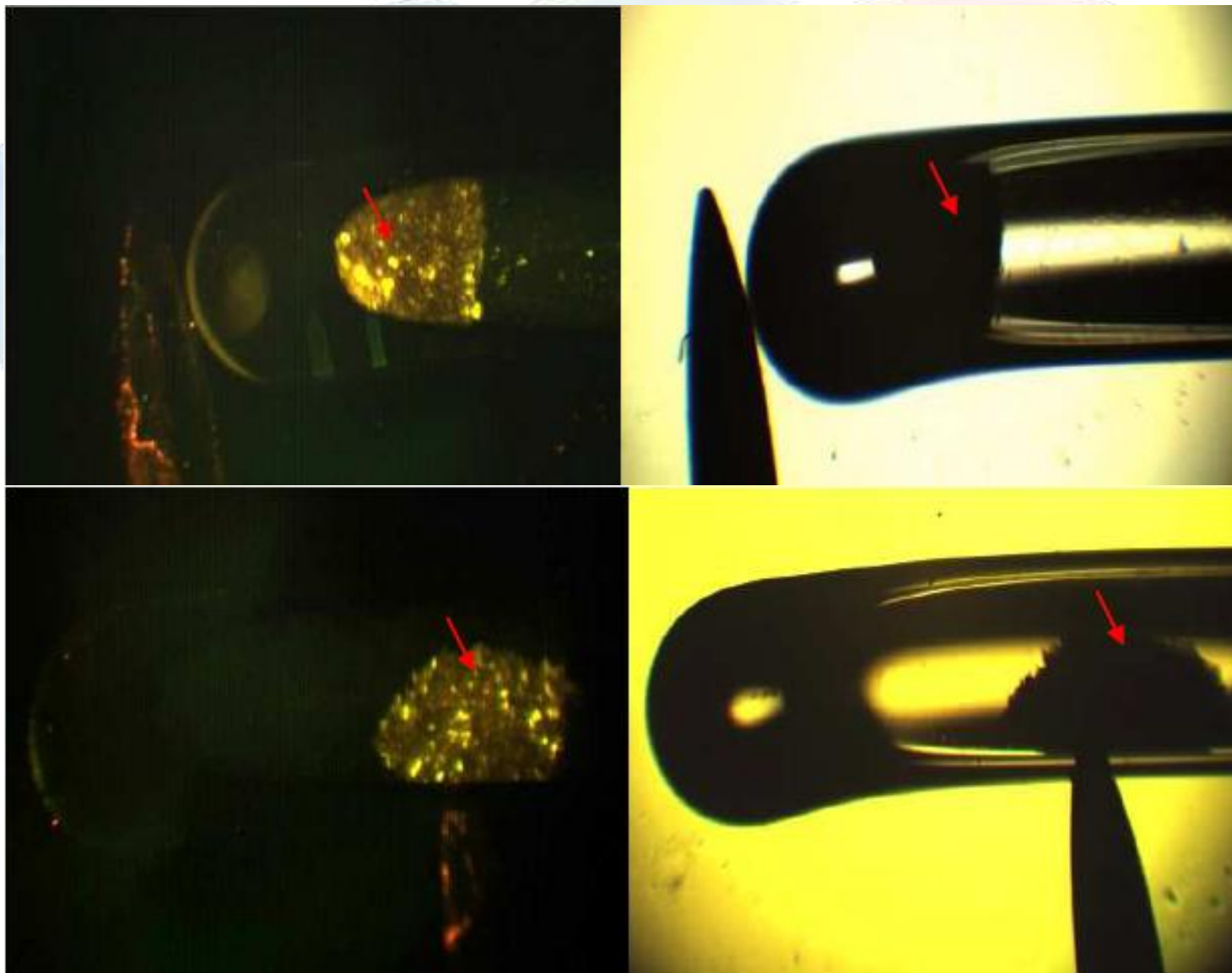
Separation conditions: fused silica capillary 15/25 cm, separation voltage 6 kV, injection time 15 s, separation buffer 100 mM TRIS/TAPS

Kapilární elektroforéza konjugátů



Separation conditions: fused silica capillary 15/25 cm, separation voltage 6 kV, injection time 6 s, separation buffer 100 mM TRIS/TAPS

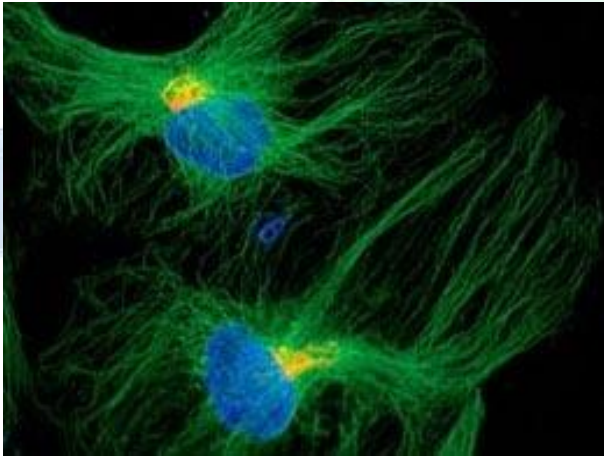
Konjugace magnetických mikročásteček s Anti-ovalbuminem a kvantových teček s ovalbuminem



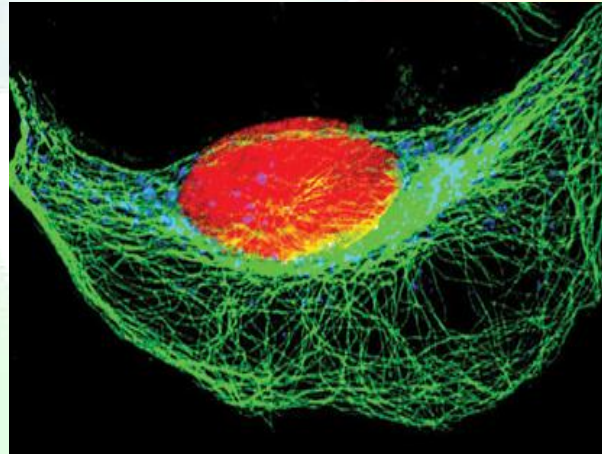
Kvantové tečky - použití

Vizualizace organel v buňkách

- sledování migrace analytů v buňkách, detekce patogenů



HeLa

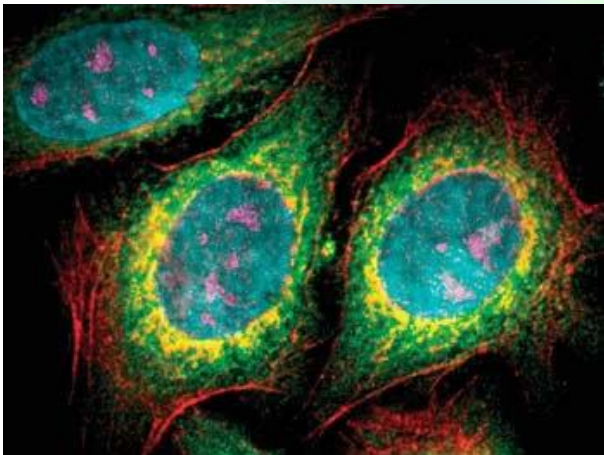


HeLa

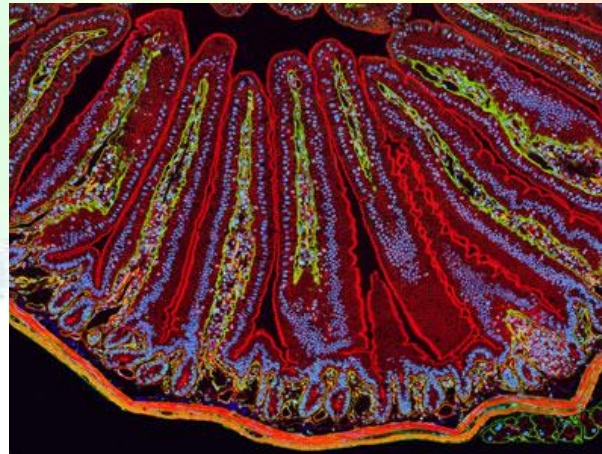
jádro – 655 nm (červeně),

Golgiho aparát – 585 nm (žlutě),

microtubuly – 525 nm (zeleně)



Hep-2 cells



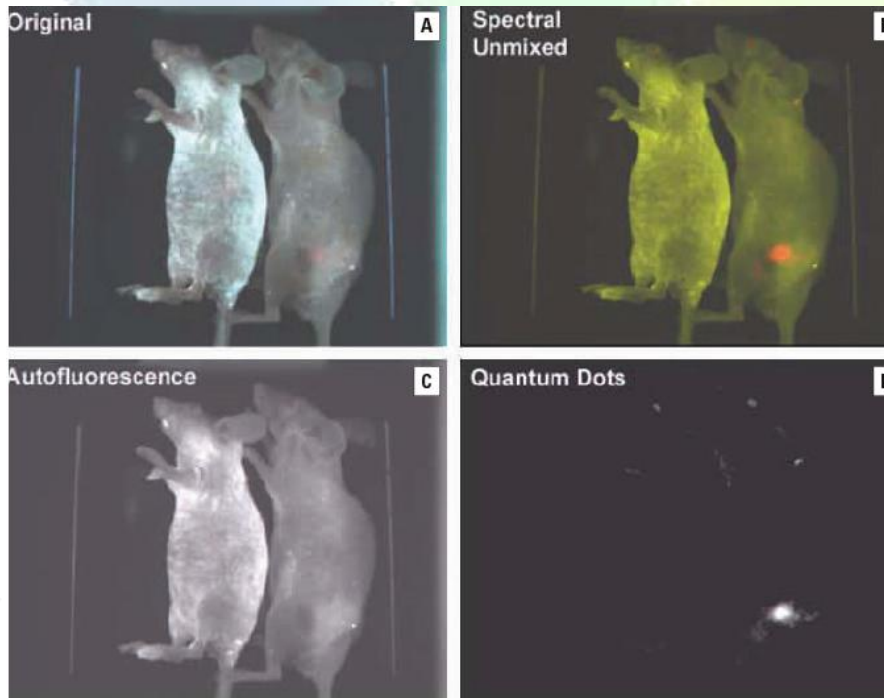
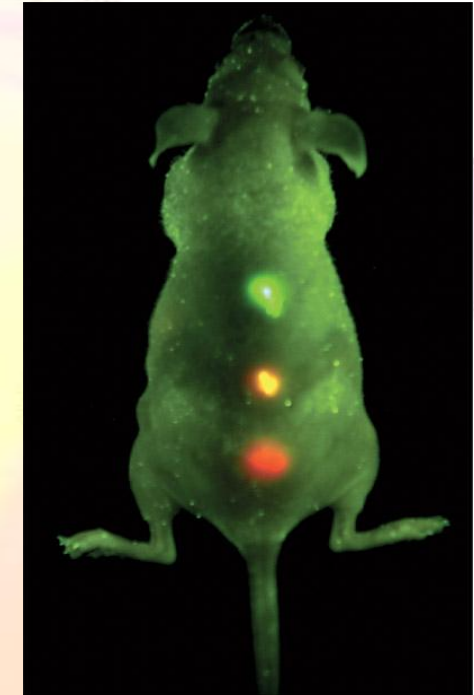
Myší tenké střevo

Zdroj: www.invitrogen.com

Kvantové tečky - použití

Značení nádorů v organismech

- zobrazování a přesná lokalizace nádorů
- pomocí specifických protilátek na rakovinotvorné buňky



- nádor označený kvantovou tečkou lze zničit působením rentgenového záření

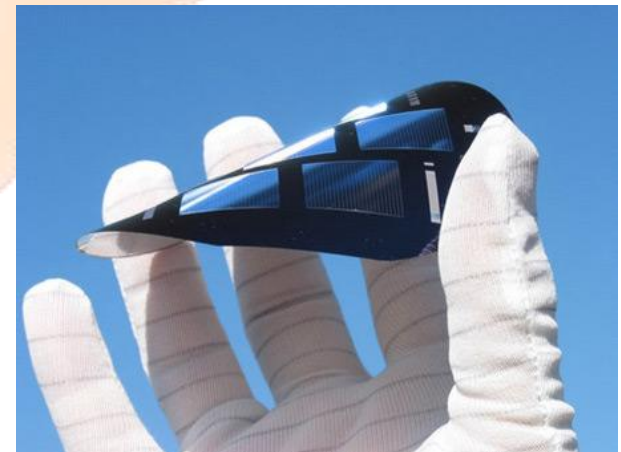
Kvantové tečky - použití

Příprava solárních článků



- solární články z CdSe nanotyčinek
(Prof. A.Paul Alivisatos, Lawrence Berkeley
National Laboratory)

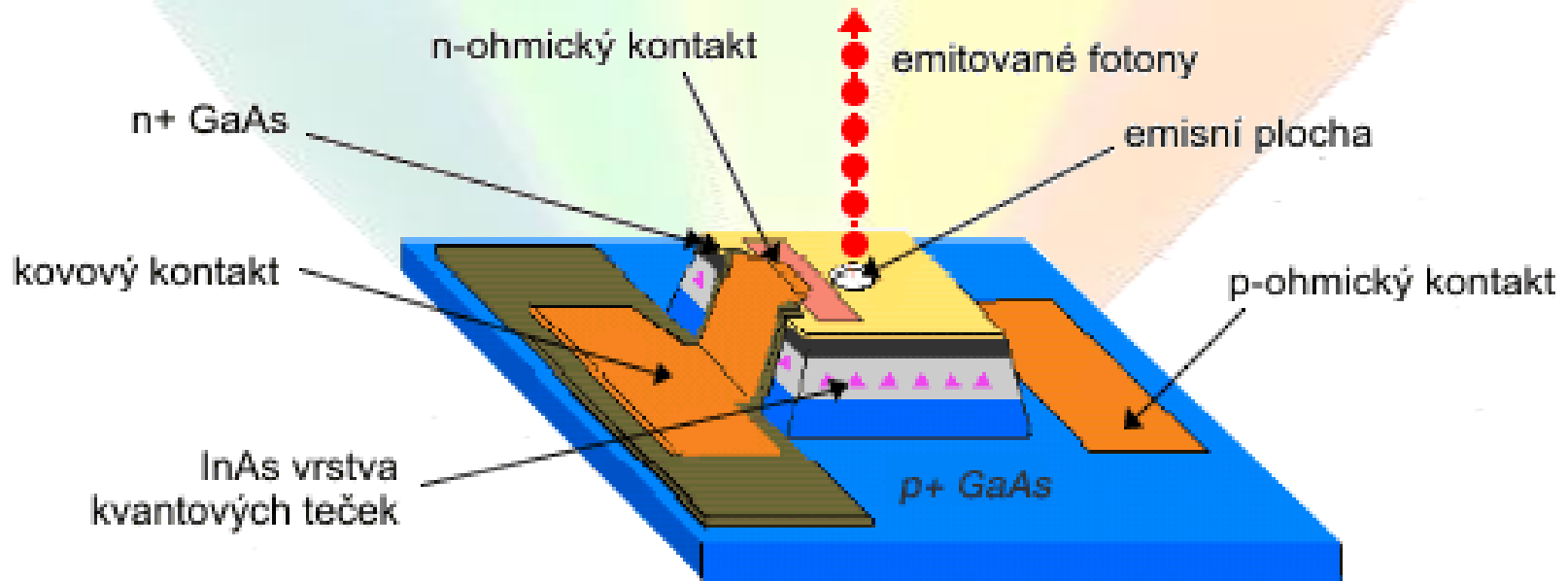
- kvantové tečky absorbují sluneční záření v širším spektru
- kvantové tečky umožňují nanášet fotocitlivou vrstvu na jakýkoliv materiál
- levnější výroba



Kvantové tečky - použití

Jednofotonová, světlo emitující dioda a LASER

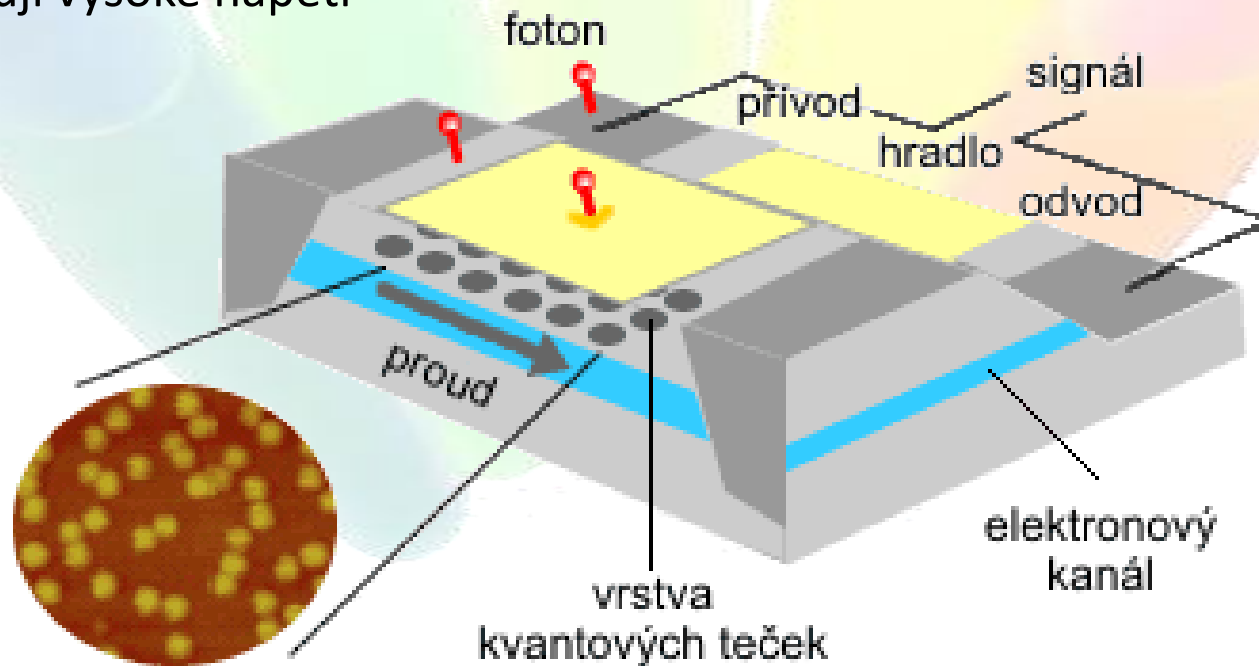
- současná LED modifikovaná vrstvou QDs
- zastíněny neprůhlednou plochou všechny QDs až na jedinou
- emise jednotlivých fotonů
- excitace pomocí proudu
- závislost emisního spektra na procházejícím proudu



Kvantové tečky - použití

Jednofotonový detektor

- modifikovaný tranzistor
- vrstva kvantových teček přidána paralelně k proudovému kanálu
- vyšší dynamický rozsah než klasické detektory
- nevyžadují vysoké napětí

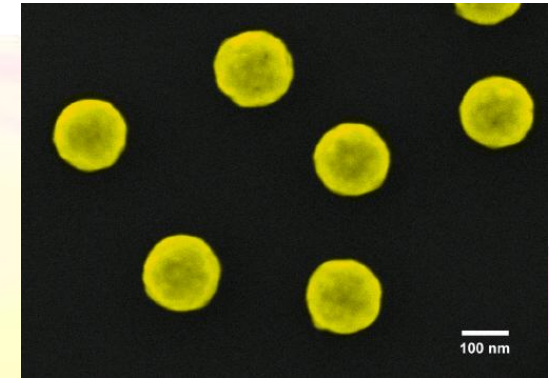


Kvantové tečky - shrnutí

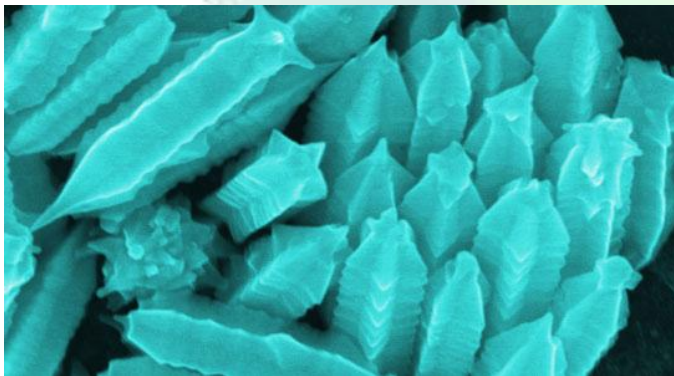
- polovodičové nanokrystaly s rozměry do 50 nm
- diskrétní rozdělení energetických hladin
- unikátní optické vlastnosti
- navázány na povrchu
- koloidní roztok
- použití v optických součástkách –
dioda, laser, detektor
- použití jako luminescenční značky

Au nanočástice

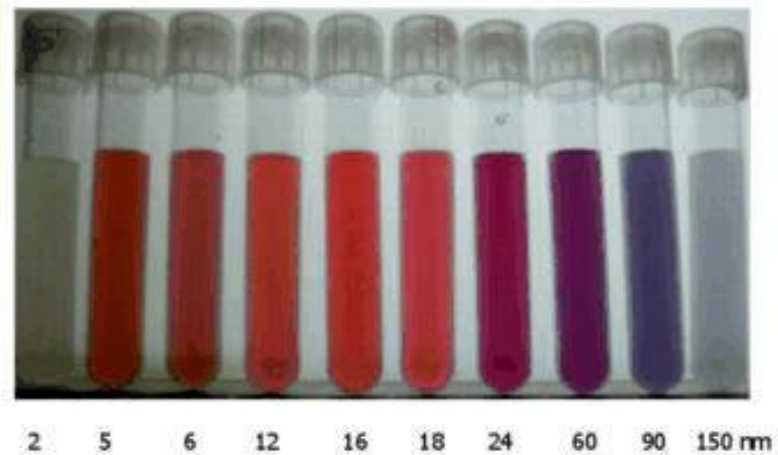
- + lze připravit velký rozsah velikostí i tvarů
- + nepodléhají fotovybělování a neblíkají
- + vysoká stabilita
- + pokrývají celé viditelné spektrum
- + tvorba povrchového plasmonu
- + vysoká účinnost dvoufotonové excitace
- nízký kvantový výtěžek jednofotonové excitace (do 0,1 %)



Zdroj: nanotechweb.org



Zdroj: <http://scitechdaily.com/gold-nanorods-shaped-as-starfruit-deliver-impressive-results/>



Zdroj: http://www.malvern.de/Labger/industry/nanotechnology/gold_silver_nanoparticles.htm ⁴⁷

Použití



Elektronika - jako vodivé inkousty pro tisknutí čipů, vodivé propojení rezistorů a dalších prvků elektronického čipu.

Fotodynamická terapie – v blízkém-IR absorbující zlaté nanočástice při excitaci světlem při vlnové délce 700-800 nm produkují teplo. Je-li světlo aplikováno na nádor obsahující zlaté nanočástice, ty se rychle zahřívají a zabíjejí nádorové buňky - známé jako hypertermická terapie.

Nosiče léčiv- velký poměr povrchu ku objemu zlatých nanočástic umožňuje pokrýt jejich povrch stovkami molekul (včetně léčiv a cílených molekul).

Senzory - kolorimetrické senzory, povrchově zesílená Ramanova spektroskopie pro detekci proteinů, znečišťujících látek, a jiných molekul bez nutnosti značení.

Sondy – barviva pro mikroskopii temného pole a transmisní elektronovou mikroskopii, biologické aplikace.

Diagnostika - pro detekci biomarkerů v diagnostice srdečních chorob, rakoviny a infekčních agens, v diagnostických prouzcích, např. těhotenský test.

Katalýza - povrch zlatých nanočástic může být použit pro selektivní oxidaci, nebo, v některých případech, zpomalení reakce (např. oxidů dusíku). Využívají se například v palivových článcích.

Uhlíkové nanočástice

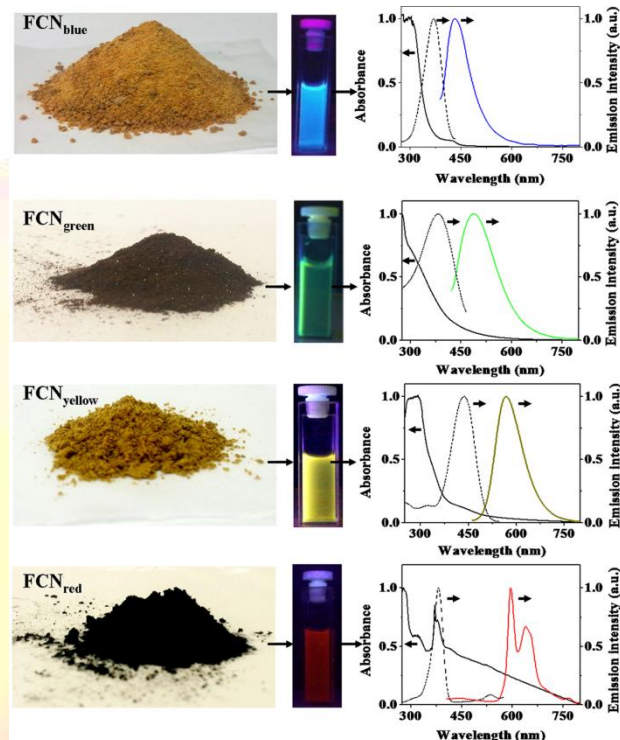
C-dots

Vlastnosti

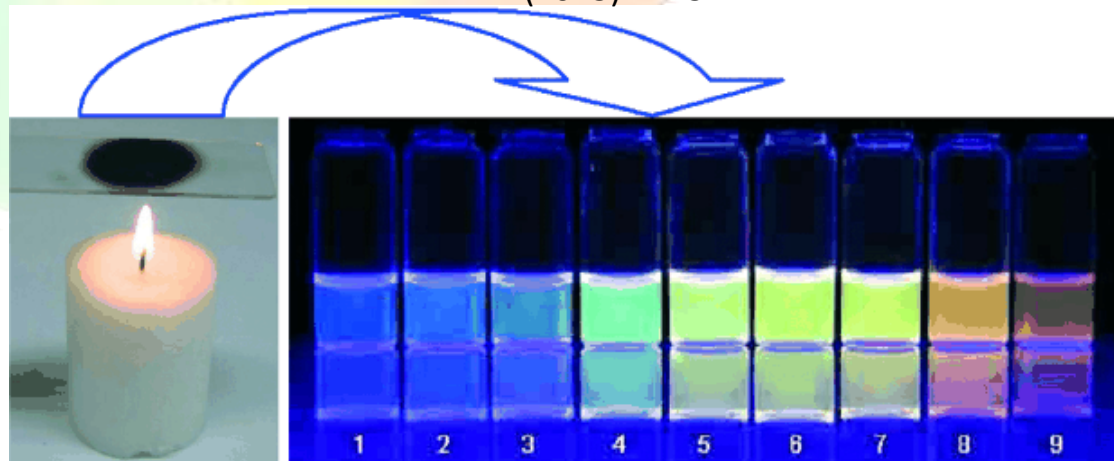
- + vlnová délka emise závislá na velikosti částice
- + odolnost proti fotovybělování
- + snadná vazba na biomolekuly
- + fyzikálně i chemicky stabilní
- + neblíkají

Příprava

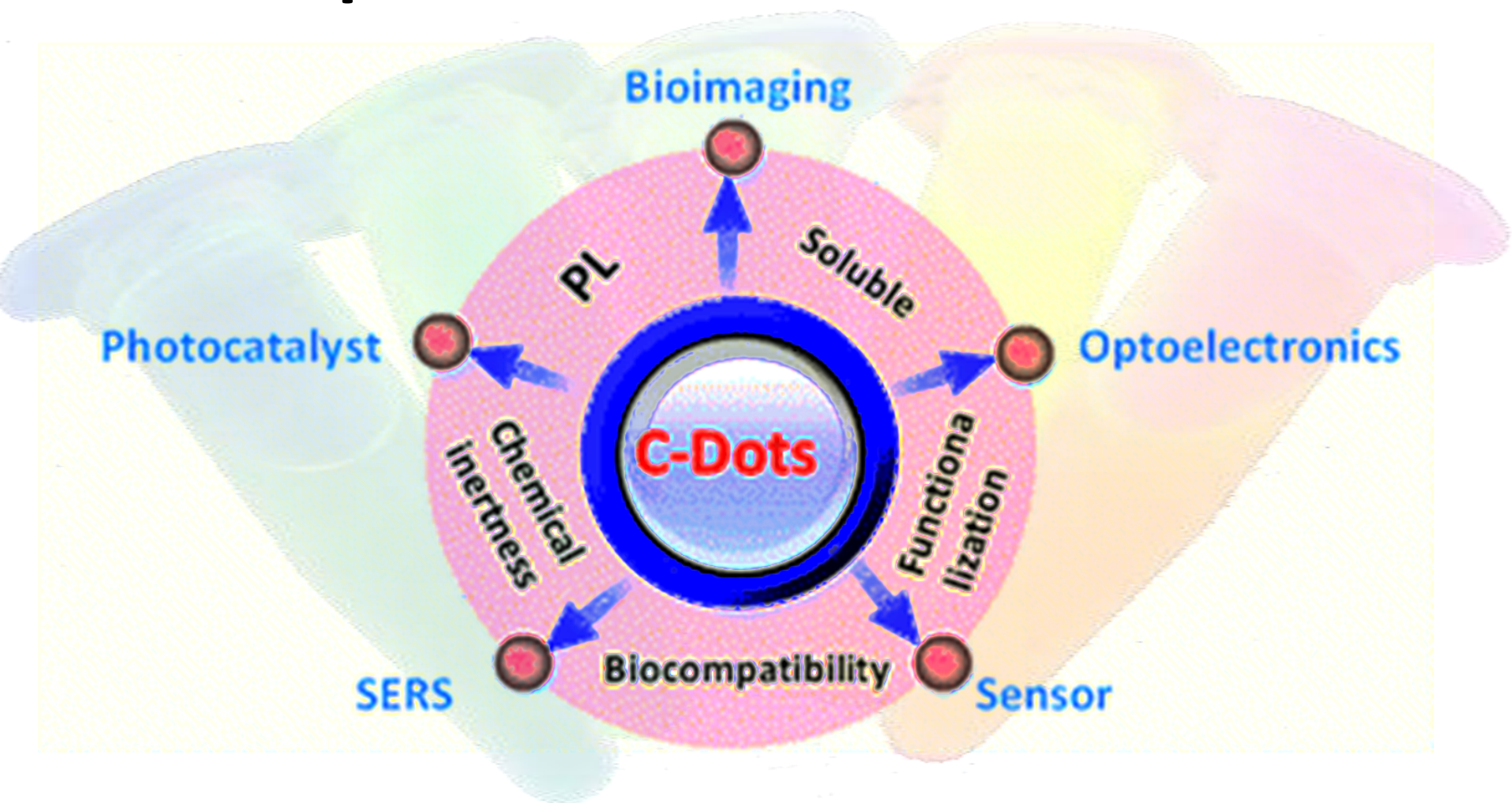
- tvorba defektů v diamantu pomocí vysoceenergetického záření
- v obloukovém výboji
- laserovou ablací grafitu
- chemickou oxidací
- karbonizací cukrů
- pyrolýzou polymerů
- elektrochemickou oxidací
- organická syntéza
- tepelné anebo spalovací metody
- mikrovlnné pyrolýza



S.K. Bhunia, A. Saha, A.R. Maity, S.C. Ray, N.R. Jana, Scientific Reports, 3 (2013) 1473



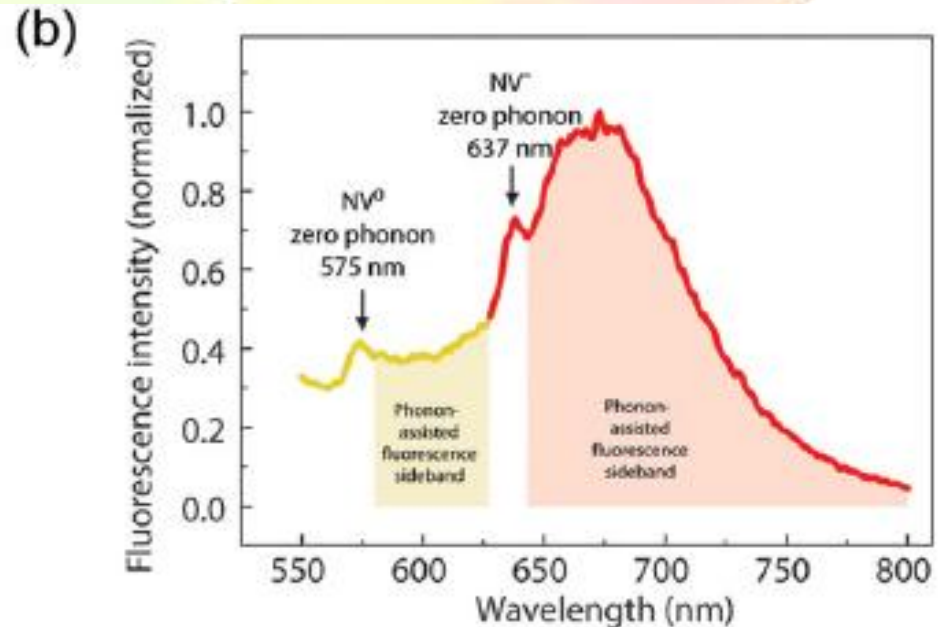
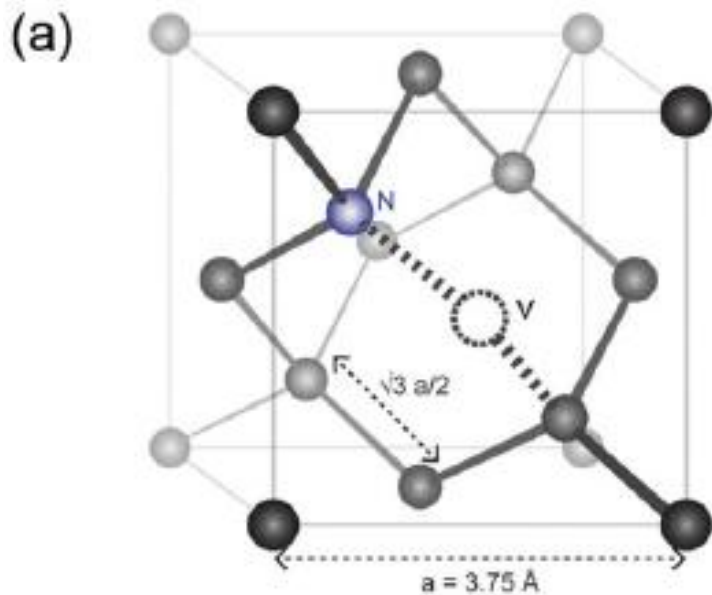
C-dots - použití



H. Li, Z. Kang, Y. Liu, S-T. Lee, J. Mater. Chem. 22 (2012) 24230

Nanodiamanty

- + netoxické
- + stabilní
- + malé (od 5ti nm výše)
- + možnost pokrytí
- drahá a náročná příprava
- excitace viditelným světlem (488- 545 nm) - problémy s autofluorescencí biologických látek
- intenzita fluorescence závislá na počtu defektů
- u malých velikostí je fluorescence ovlivněna prostředím



příprava

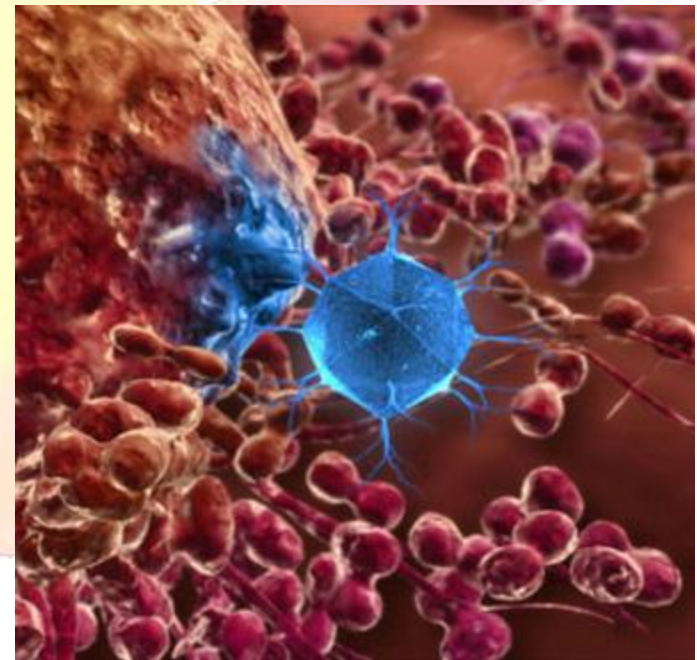
- mletím syntetických diamantů
- výbuchem za inertních podmínek
 - + monodisperzní
 - + obsahují nadbytek dusíku
 - mají vrstvu grafitu na povrchu
 - nevykazují luminiscenci, nutné ozařování
 - nerozpustné ve vodě

biofunktionalizace

- adsorpcí (van der Waalsovy, hydrofilní, elektrostatické síly)
- pokrytí polymerem nebo uzavření do micely
- kovalentní pokrytí

použití

- luminescenční značky
- senzory
- transport léčiv
- antibakteriální povrchy - kloubní náhrady



Zdroj: <http://drugdeliverysystems.webs.com/nanocrystals.htm>

Křemíkové nanočástice – Si Dots

Vlastnosti

vlňová délka emise závislá na velikosti částice

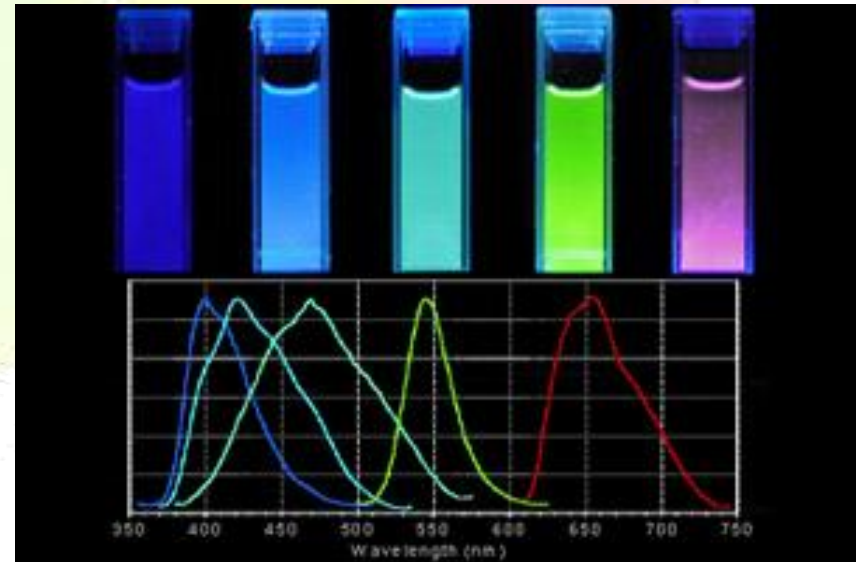
až 60 %-tní kvantový výtěžek

syntetizované částice mají často vodík jako koncovou skupinu

nutné modifikovat povrch hydrofilními nebi amfifilními skupinami a zabránit oxidaci

Příprava

- leptání Si
- rozklad silanu v plazmatu
- rozklad silanu laserem
- mikrovlnný rozklad silanu
- depozice chemických par v plazmatu
- vysokofrekvenční jiskrový výboj
- v koloidním roztoku
- redukce chemickými činidly
- kulový mlýn



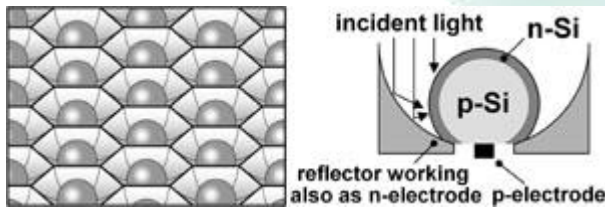
Full-color PL of Si-QDs by PE-CVD

Zdroj: <http://ymfs.t.u-tokyo.ac.jp/research10.html>

Použití

- + snadno modifikovatelný povrch
- + biologicky kompatibilní materiál/netoxický
- + porézní Si je vhodný pro přenos a distribuci léčiv
- + snadná integrace do mikroelektroniky na bázi křemíku
- + možnost kontrolovat intenzitu luminiscence a vlnovou délku maxima emise

- velká distribuce velikostí
v základním materiálu
- defekty v základním materiálu
- destrukce povrchu QDs



Spherical Silicon solar cells

Zdroj: <http://ymfs.t.u-tokyo.ac.jp/research10.html>

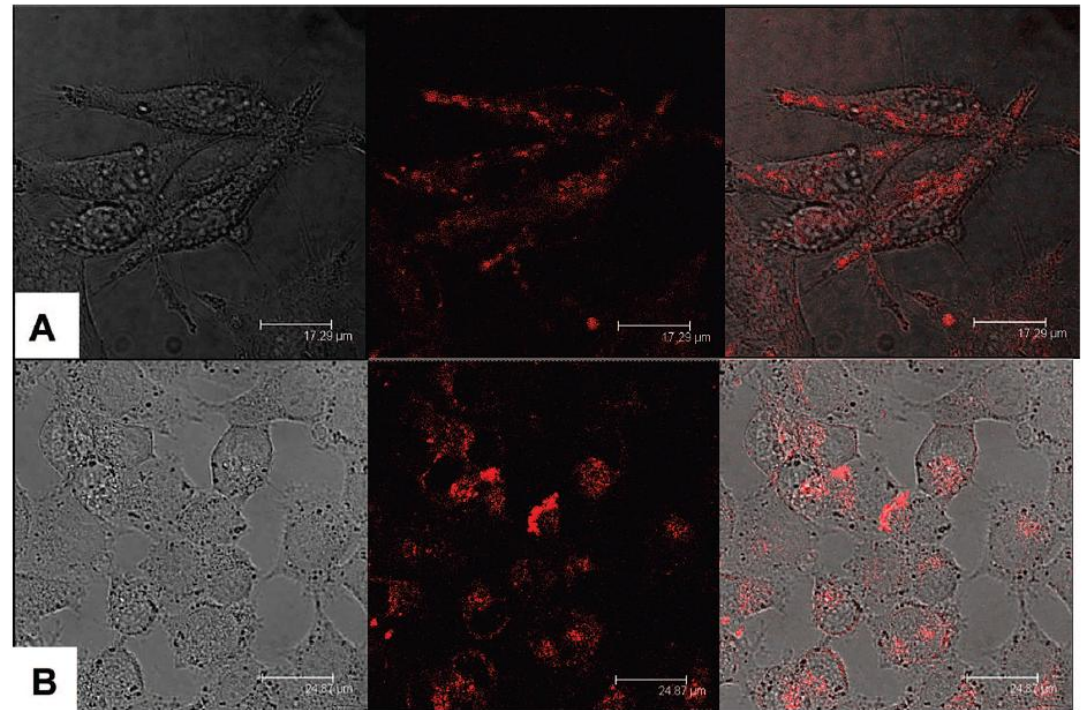


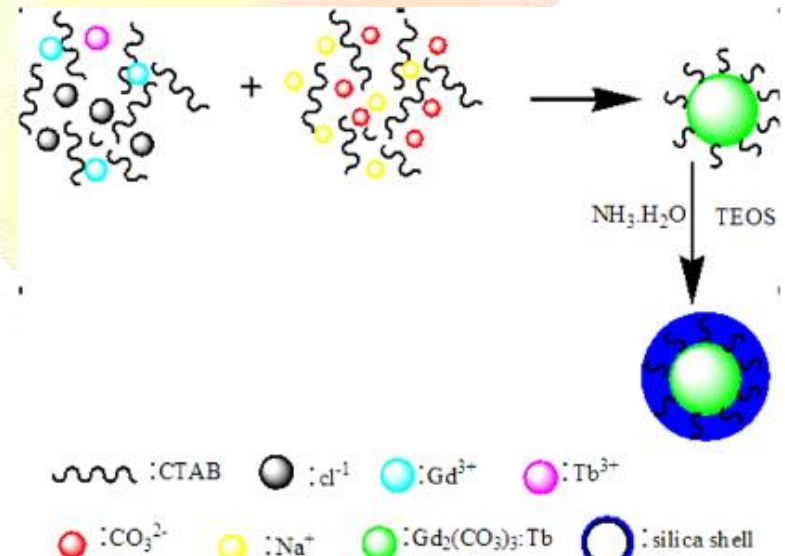
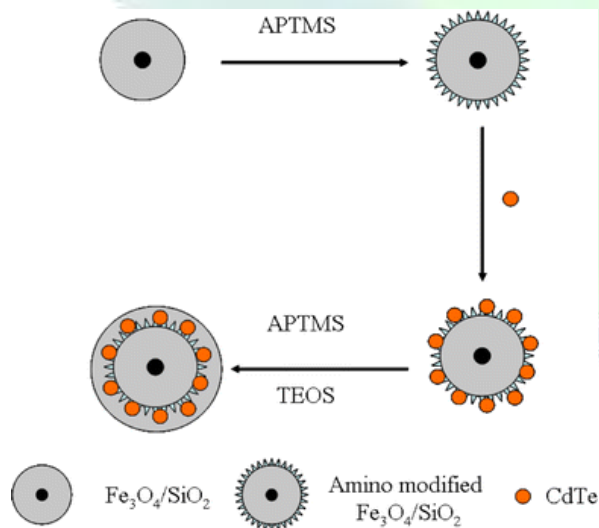
Figure 5. Confocal microscopic visualization of live pancreatic cancer cells treated with (A) amine-terminated micelle-encapsulated Si QDs, (B) Tf-conjugated micelle-encapsulated Si QDs. From left to right, the panels show the transmission image, luminescence image, and an overlay of the two. The scale bars are 17.29 and 24.87 μm in A and B, respectively.

F. Erogbogbo, K.T. Yong, I. Roy, G. Xu, P.N. Prasad, M.T. Swihart, ACS Nano 2 (2008) 873 54

Křemenné nanočástice

organické i anorganické fluorofory uzavřené v křemenné nanočástici

- + robustní a mechanicky stabilní
- + transparentní
- + vyšší fluorescence díky spojení několika organických fluoroforů v jedné částici
- + netoxické
- + snadné navázání dalších molekul na povrch částice
- + možnost spojení např. fluoroforu a magnetické částice do jedné částice
- + možnost zvýšení fluorescence spojením fluoroforu a kovové částice do jedné nanočástice (metal enhanced fluorescence)



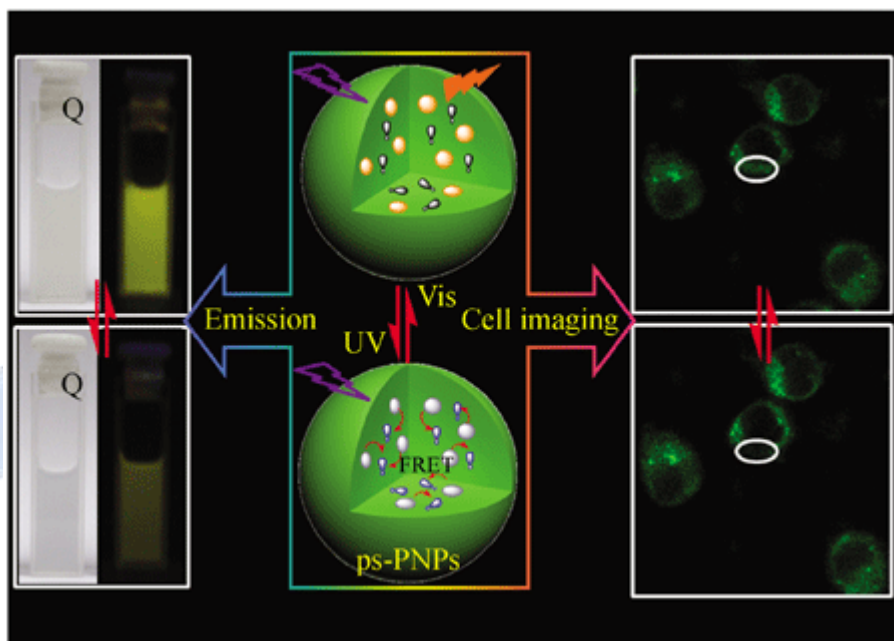
Zdroj: <http://www.nanoscalereslett.com/content/4/7/640>

Zdroj: <http://iopscience.iop.org/0957-4484/23/20/205103/article>

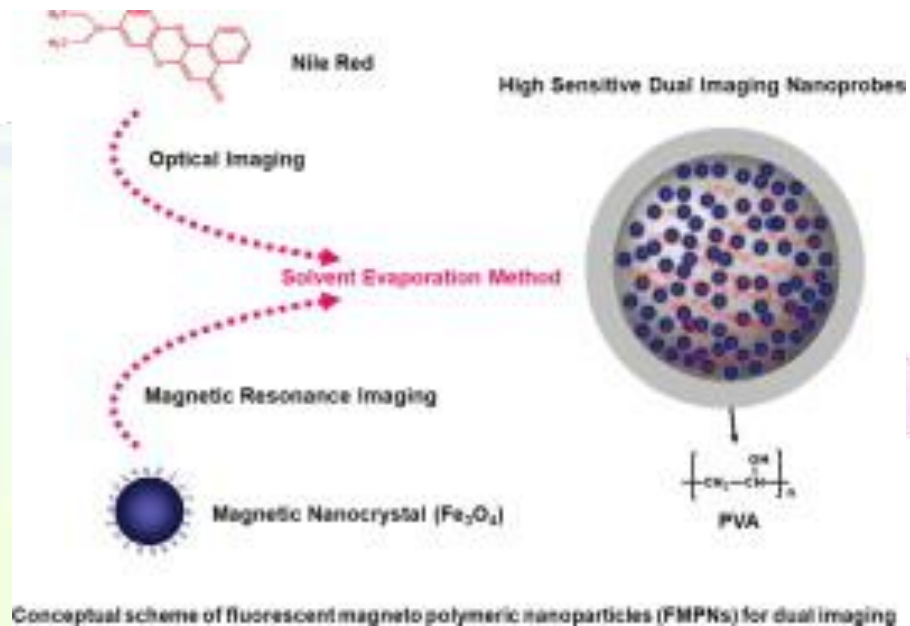
Polymerní nanočástice

- organické i anorganické fluorofory uzavřeny ve hydrofilním polymeru
- polopropustná a transparentní matrice umožňuje interkci analytu s barviem, která se projeví změnou emise
- minimalizace interakcí fluoroforů s buněčnými strukturami
- vyšší emise a fotostabilita díky zamezení kontaktu s roztokem
- možnost inkorporace několika barviv do jedné nanočástice a poměrové měření, detekce několika různých analytů jednou nanočásticí
- lze použít komplexnější detekční schéma díky vysokému množství vazných míst na povrchu, podstatné pro spuštění kolektivních a spolupracujících procesů
- koncentrace barviva v malém objemu může vést ke spuštění kolektivního jevu – zesílení fluorescence nebo zhášení -delokalizovaný exciton nebo interakce 1 zhášeče s několika fluorofory

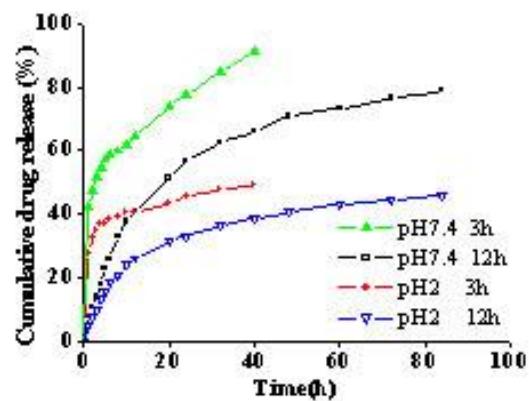
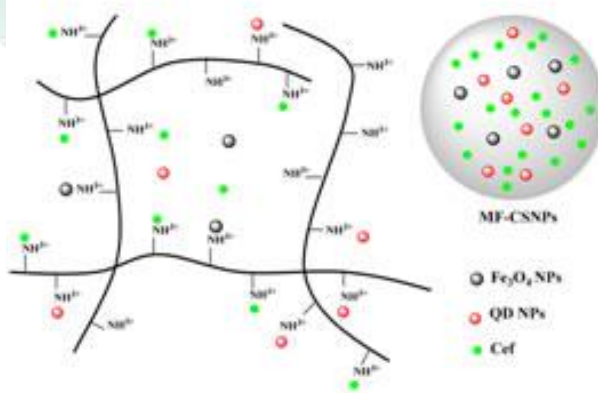
Použití



Zdroj: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12274-012-0235-0>



Zdroj: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979709010522>



Zdroj: http://nanocontrol.ipc.ac.cn/research/nanobiomed/MFcomposites_en.htm

Upconversion nanoparticles

– světlokonvertující nanočástice

$\text{NaYF}_4:\text{Yb}:\text{Er}$, $\text{NaYF}_4:\text{Y}:\text{Yb}:\text{Er}$, $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Yb}:\text{Er}$, $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Eu}^{3+}$, $\text{NaPrF}_4:\text{Yb}:\text{Tm}$, $\text{Cs}_3\text{Lu}_2\text{Br}_9:\text{Er}^{3+}$
10 až 300 nm

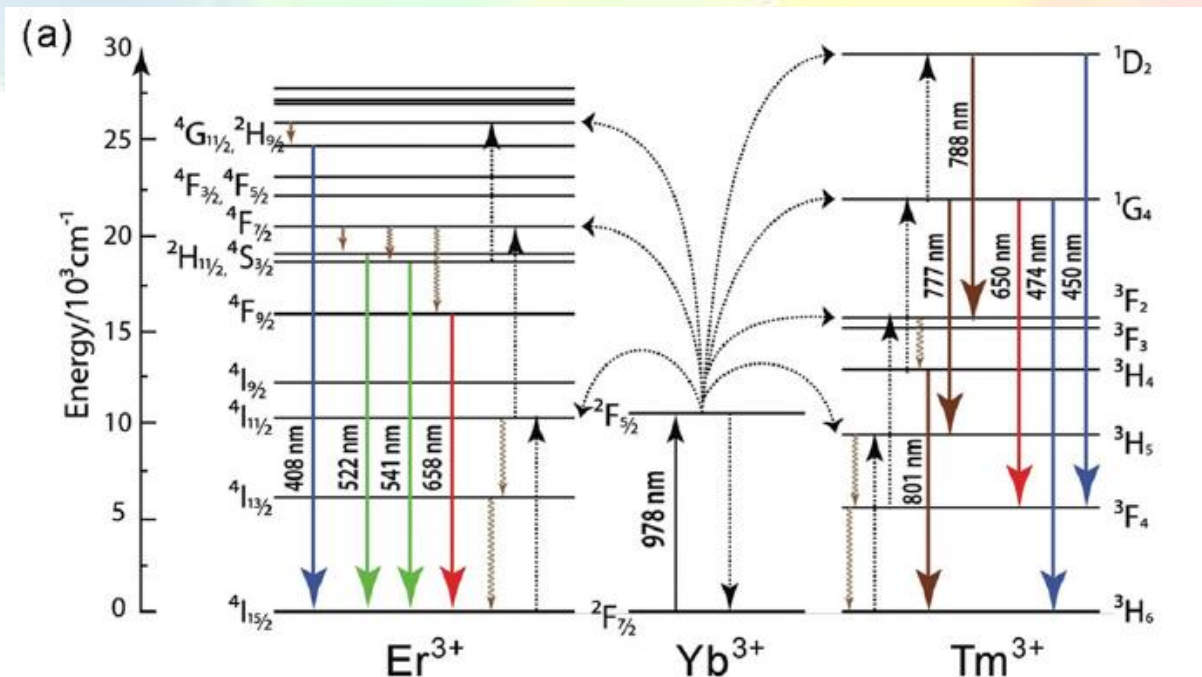
hydrofilicita se zajišťuje pokrytím SiO_2 , amfifilními polymery nebo tenzidy – micelami

+ antistokesův posun – potlačení autofluorescence biologického materiálu

+ vlnová délka excitace i emise v tzv. optickém okně biologických tkání

+ doba života luminescence v řádech milisekund

- účinnost konverze 0,3 – 2 %



Použití

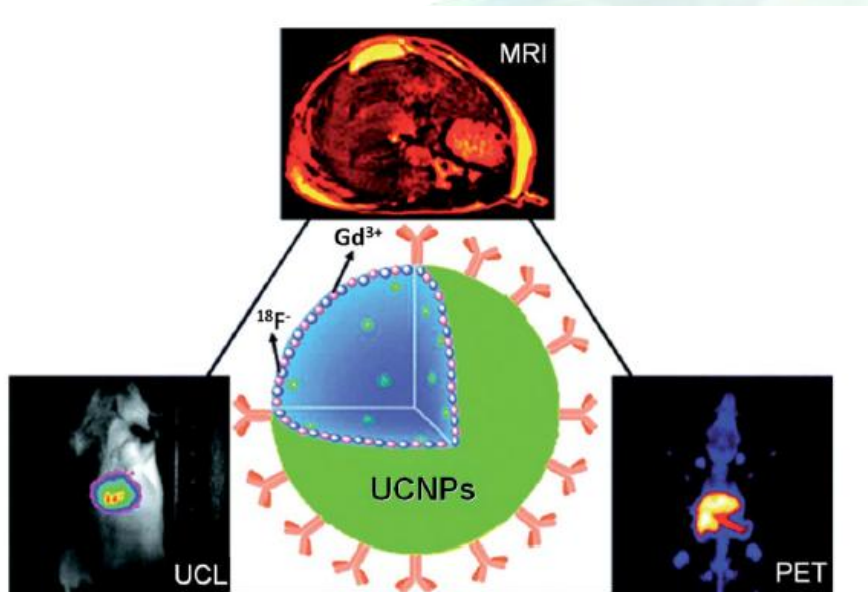


Fig. 4 A scheme showing the use of ^{18}F -labeled Gd-containing UCNP for *in vivo* multimodal UCL, PET and MR imaging. Copyright 2011, American Chemical Society.³⁰

L. Cheng, Ch. Wang, Z. Liu, *Nanoscale* 5 (2013) 23

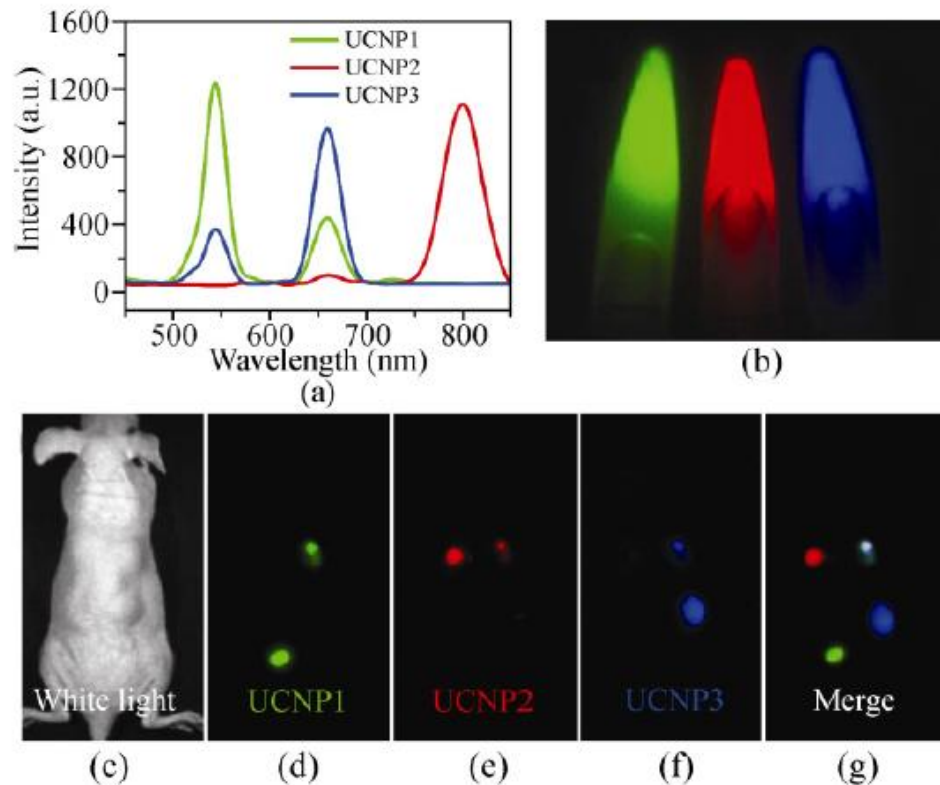


Figure 2 Multicolor UCL imaging: (a) UCL emission spectra of three UCNP solutions under 980 nm NIR laser excitation; (b) a multicolor fluorescence image of three UCNP solutions obtained by the Maestro *in vivo* imaging system (CRi, Inc.); (c) a white light image of a mouse subcutaneously injected with UCNP; (d)–(f) *in vivo* multicolor images of a nude mouse subcutaneously injected with different UCNP solutions; (g) three colors of UCNP were clearly differentiated after spectral unmixing

L. Cheng, K. Yang, S. Zhang, M. Shao, S. Lee, Z. Liu, *Nano Res.* 3 (2010) 722 59

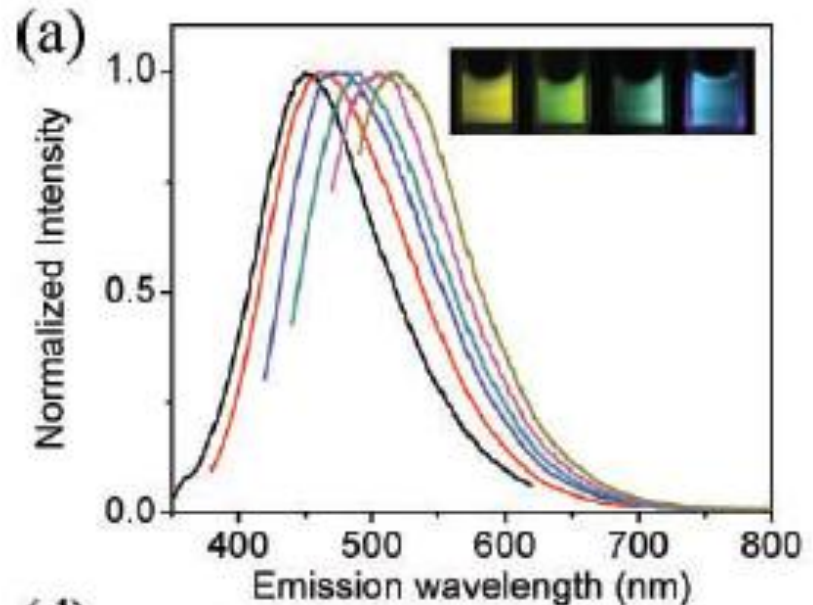
Karbid křemíku

Vlastnosti

- částice 1 až 25 nm
- fyzikálně i chemicky stabilní
- biokompaktibilní
- vodě rozpustné s kvantovým výtěžkem až 17 % pro dlouhodobé zobrazování biologických materiálů
- odolné proti fotovybělování

Příprava

- v plynné fázi
- pyrolýza plynného silanu a acetyleny laserem
- hypersonic plasma deposition
- helicon wave plasma enhanced chemical vapor deposition
- pyrolýza di-, tri-, tetra- a hexamethyl silanu
- reakce Na s methylchloro silanem při 1273 K v roztoku
- rychlá tepelná redukce – karbonizace
- elektrochickým leptáním – nejčastější
- leptání polykrystalického 3C-SiC následované ultrazvukem



J.Y. Fan, P.K. Chu, Small, 6 (2010) 2080

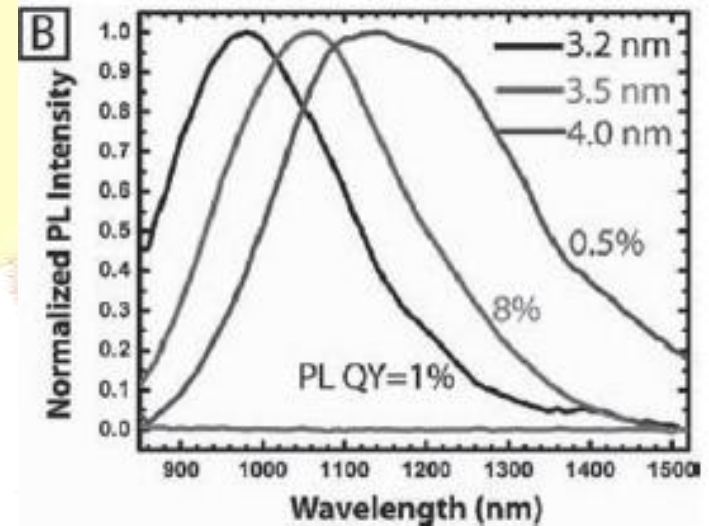
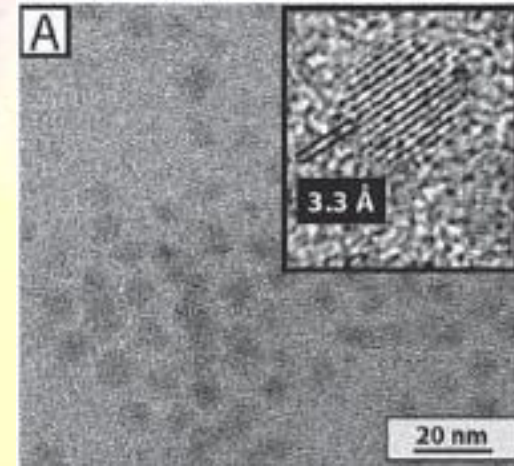
Ge nanočástice

Vlastnosti

3 až 50 nm v závislosti na způsobu přípravy
modifikace povrchu alkany nebo SiO_2
emise přes celé viditelné spektrum
emise závislá na velikosti a pokrytí
nízká toxicita

Příprava

- disociace plazmatem GeCl_4 ve směsi s H_2 a Ar
- ultrazvuková pyrolýza tetrapropyl germanu
- reakce NaGe s GeCl_4
- reakce Mg_2Ge s SiCl_4
- reakce NaGe s NH_4Br
- redukce GeCl_4 v inverzních micelách
- tepelný rozklad organokovových sloučenin Ge
- sol-gel syntéza



Poděkování

Foret František, Klepárník Karel, Hezinová Věra, Lišková Marcela, Příkryl Jan – Institute of Analytical Chemistry AS CR

HRTEM

Dr. Mariana Klementová – Institute of Inorganic Chemistry AS CR

Měření luminiscence a doby života luminiscence

Mgr. Petru Tábořskému, Ph.D., doc. Janu Preislerovi, Ph.D. and doc. Přemysl Lubal, Ph.D.

– Department of Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University

Granty

GAČR 206/11/2377

Výzkumný změr RVO:68081715



**Děkuji Vám za
pozornost**