

# Моделирование широкополосного нанобиосенсора на основе луковичной структуры квантовая точка – квантовая яма\*

Х.Абсалан, А.СалманОгли, Р.Ростами

*Исследован резонансный перенос энергии флуоресценции между модифицированными квантовыми точками, используемыми в качестве донора и акцептора. Из-за уникальных свойств квантовых точек, в том числе биосовместимости, высокого квантового выхода и широкого спектра поглощения, предложено использовать их в качестве нанобиосенсоров и биомаркеров при диагностике рака. Проведено моделирование резонансного переноса энергии флуоресценции системы квантовая точка – квантовая яма, при котором создается возможность передачи энергии от донора к акцептору. Если эта передача может быть разрешена или запрещена некоторым взаимодействием, таким как взаимодействие с красителем, возникновение молекулярной связи или реакция расщепления, то на этой основе может быть создан сенсор (в предположении, что здоровые клетки имеют известное или неизменное влияние на параметры флуоресценции, в то время как раковые клетки из-за их пандемических оптических свойств могут оказывать дополнительное влияние на параметры резонансного переноса энергии флуоресценции). Предлагаемый нанобиосенсор работоспособен в широком диапазоне длин волн (310–760 нм).*

**Ключевые слова:** квантовая точка, квантовая точка – квантовая яма, нанобиосенсор, резонансный перенос энергии флуоресценции.

## 1. Введение

Резонансный перенос энергии флуоресценции (FRET) является безызлучательным процессом, посредством которого донор в возбужденном состоянии передает энергию ближайшему акцептору в основном состоянии за счет дальнедействующих диполь-дипольных взаимодействий [1–3]. Одним из важных параметров, используемых для описания процесса FRET, является скорость передачи энергии, которая сильно зависит от таких факторов, как перекрытие спектров донора и акцептора, относительная ориентация дипольных моментов перехода и расстояние между молекулами донора и акцептора. Процесс FRET очень привлекателен для биоанализа [4–6] из-за присущей ему чувствительности к малым изменениям расстояния  $r$  между донором и акцептором (пропорциональной  $r^6$ ). Если ряд молекулярных маркеров может быть количественно определен и статистически дифференцирован между раковыми и здоровыми клетками, самым важным приложением процесса FRET становятся биомаркеры для диагностики рака. Хорошо известно, что подходящая маркировка биологического материала и подробная визуализация дают мощный инструмент для реконструкции пространственного распределения клеточных структур.

Использование FRET может увеличить пространственное разрешение флуоресцентного микроскопа до 10 нм

и менее. Это свойство используется в методах на основе FRET, таких как анализ *in vitro* взаимодействий антигена с антителом, визуализация *in vivo* сворачивания белков в режиме реального времени и др. [7–9]. В большинстве случаев маркеры заболеваний присутствуют в очень малых концентрациях, следовательно применяемые методы должны иметь высокую чувствительность. Квантовые точки (КТ) [2, 10, 11] представляют собой наночастицы, которые могут прикрепляться к антителам, аптамерам, олигонуклеотидам или пептидам, формируя тем самым перспективные зонды для сверхчувствительного обнаружения биомаркеров рака. Недавние достижения в создании КТ делают их привлекательными из-за малой токсичности, биосовместимости и уникальных оптических свойств, таких как высокий квантовый выход и широкий спектр поглощения. Флуоресцентные свойства КТ позволили использовать их в качестве меток при анализах *in vitro* для обнаружения биомаркеров, кроме того, они были исследованы в качестве агентов *in vivo* [12–15]. Зондирование с использованием КТ с различными длинами волн испускания является перспективным методом для одновременного детектирования нескольких биомаркеров заболевания. Процесс FRET также обеспечивает измерение расстояний на наномасштабах: когда донор и акцептор прикрепляются к биомолекуле, скорость FRET является индикатором донорно-акцепторного расстояния. В последнее время возродился интерес к FRET в связи с исследованиями конформационных изменений биомолекул [15–17].

В настоящей работе показано, что нанобиосенсор [18–21] в виде системы квантовая точка – квантовая яма (КТКЯ; гетеронанокристалл луковичной структуры) [22, 23], которая является и донором и акцептором, может быть основан на создании энергетического пути с последующим его иницированием либо разрушением событием специфического связывания.

\* Перевод с англ. В.В.Шувалова.

**H.Absalan, R.Rostami.** Department of Physics, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran; e-mail: h-absalan@iau-ahar.ac.ir, r-rostami@iau-ahr.ac.ir

**A.SalmanOgli.** Photonics and Nanocrystal Research Laboratory, University of Tabriz, Tabriz, Iran; e-mail: araz.nano@gmail.com

## 2. Теоретическая часть

Процесс FRET обычно происходит, когда перекрытие спектров испускания донора и поглощения акцептора превышает 30%. Обычно расстояние, на котором наблюдается FRET, лежит между 1 и 10 нм. Эффективность переноса энергии  $\mathcal{E}$ , скорость переноса энергии  $K_r$ , фёрстеровский радиус  $R_0$  (расстояние между донором и акцептором, при котором энергия возбуждения донора с вероятностью 50% уходит за счет переноса энергии и с той же вероятностью растрачивается через другие излучательные или безызлучательные каналы, такие как передача тепла) и степень донорно-акцепторного перекрытия спектров  $J(\lambda)$  вычисляются по формулам [24–28]

$$\mathcal{E} = R_0^6 / (R_0^6 + r^6) = 1 - \tau_{da} / \tau_d, \quad (1)$$

$$K_r = (1/\tau_d)(R_0/r)^6, \quad (2)$$

$$R_0 = 0.21[\kappa^2 n^{-4} Q_d J(\lambda)]^{1/6}, \quad (3)$$

$$J(\lambda) = \int_0^\infty f_d(\lambda) \varepsilon_a(\lambda) \lambda^4 d\lambda \left( \int_0^\infty f_d(\lambda) d\lambda \right)^{-1}, \quad (4)$$

где  $r$  – расстояние между донором и акцептором;  $\tau_d$  и  $\tau_{da}$  – времена жизни донора без учета и с учетом присутствия акцептора;  $\kappa$  – ориентационный фактор ( $0 < \kappa^2 < 4$ );  $\varepsilon_a$  – коэффициент экстинкции акцептора (в  $\text{см}^{-1} \cdot \text{М}^{-1}$ );  $f_d$  – интенсивность флуоресценции в присутствии донора;  $\lambda$  – длина волны;  $n$  – средний показатель преломления. Для биомолекул в водном растворе показатель преломления  $n = 1.4$ . Параметр  $J(\lambda)$  отражает степень перекрытия спектров испускания донора и поглощения акцептора. Величины  $J(\lambda)$  и  $R_0$  растут при более высоких коэффициентах экстинкции акцептора и большем перекрытии спектров испускания донора и поглощения акцептора.

Анализ структуры КТКЯ был выполнен с помощью точной восьмизонной теории К.Р [29–31] (приближение К.Р применяется для получения соотношений между полупроводниковыми связями, исследования свойств энергетических зон и связанных с ними волновых функций вблизи точки  $\Gamma$  зоны Бриллюэна) и метода конечных элементов. В настоящей работе мы предполагали, что проведены модификация и функционализация [32–34] поверхности КТ и что уже подготовленная поверхность используется при моделировании.

Приближение К.Р находит широкое применение в теории полупроводников и обеспечивает метод для расчета амплитуды  $u$  волновой функции Блоха  $\exp(i\mathbf{k}\mathbf{r})u_n(\mathbf{r}, \mathbf{k})$ . Теория К.Р позволяет рассчитать зонную структуру  $E_n(k)$  вблизи края зоны (точка  $\Gamma$ ). Эта теория может быть применена к одиночным или многократно вырожденным зонам для привязки кривой материальной дисперсии.

Стационарное уравнение Шредингера для электронов имеет вид [29–32]

$$H\psi = E\psi, \quad (5)$$

$$H = -\frac{\hbar^2}{2m^*} \nabla^2 + \frac{\hbar}{4m^{*2}c^2} (\nabla V \times \mathbf{p}) \sigma + V(\mathbf{r}) - \frac{e^2 r}{\varepsilon_r} + l(l+1) \frac{\hbar^2}{2m^*}, \quad (6)$$

где  $H$  – гамильтониан;  $E$  – собственное значение энергии;  $\psi$  – электронные волновые функции;  $V(\mathbf{r})$  – кристаллический потенциал;  $m^*$  – эффективная масса электрона и дырки;  $\sigma$  – спиновая матрица Паули;  $l$  – орбитальное квантовое число;  $\varepsilon_r$  – диэлектрическая проницаемость материалов;  $\mathbf{p}$  – оператор импульса. Если искомую волновую функцию представить в виде волны Блоха:

$$\psi(\mathbf{r}) = \exp(i\mathbf{k}\mathbf{r})u_n(\mathbf{r}, \mathbf{k}), \quad (7)$$

то после подстановки (7) в (6) имеем

$$H = -\frac{\hbar^2}{2m^*} \nabla^2 + \frac{\hbar}{m^*} (\mathbf{k}\mathbf{p}) + H_{\text{per1}} + H_{\text{per2}} + \frac{\hbar^2 k^2}{2m^*} + V(\mathbf{r}) - \frac{e^2 r}{e} + l(l+1) \frac{\hbar^2}{2m^*}. \quad (8)$$

Здесь  $H_{\text{per1}}$  и  $H_{\text{per2}}$  – операторы спин-орбитального взаимодействия зависящих и не зависящих от волнового вектора  $\mathbf{k}$  факторов соответственно:

$$H_{\text{per1}} = \frac{\hbar}{4m^{*2}c^2} (\nabla V \times \mathbf{p}) \sigma, \quad (9)$$

$$H_{\text{per2}} = \frac{\hbar}{4m^{*2}c^2} (\nabla V \times \mathbf{k}) \sigma. \quad (10)$$

С учетом свойств периодической структуры и выделения  $u_n(\mathbf{r}, 0)$  мы можем расширить базис периодической структуры:

$$u_n(\mathbf{r}, \mathbf{k}) = \sum_{m=1}^{N_{\text{max}}} C_m u_n(\mathbf{r}, 0), \quad (11)$$

где  $N_{\text{max}}$  – число зон, которое использовалось для аппроксимации зонной структуры полупроводника вблизи точки  $\Gamma$ . Путем подстановки уравнения (11) в (10) решаются задачи для  $N_{\text{max}}$  дискриминированных и вырожденных зон рассматриваемой структуры. В уравнении (10) выделяется новый гамильтониан, в котором  $u_n$  заменяется состоянием с той же энергией и другими волновыми функциями. Мы рассматривали ячейку кристалла (8 электронов), а не весь кристалл ( $\sim 1023$  электрона). Поскольку для базиса решения используется  $u_n(\mathbf{r}, 0)$ , зависящая от  $\mathbf{k}$  часть возмущения слабо связана с выходными характеристиками, и мы можем ею пренебречь при решении исходного уравнения. Этот момент крайне важен. Мы также использовали традиционное восьмизонное приближение К.Р (построение матрицы  $N_{\text{max}} \times N_{\text{max}}$ ) и метод конечных элементов для решения  $N_{\text{max}}$  уравнений с новыми гамильтонианами (модифицированными возмущением). Окончательное уравнение, применяемое для решения методом конечных элементов, имеет вид

$$\sum_{m=1}^{N_{\text{max}}} \left[ -\frac{\hbar^2}{2m^*} \nabla^2 + \frac{\hbar}{m^*} (\mathbf{k}\mathbf{p}) + \frac{\hbar}{4m^{*2}c^2} (\nabla V \times \mathbf{p}) \sigma + \frac{\hbar^2 k^2}{2m^*} + V(\mathbf{r}) - E(n, l) - \frac{e^2 r}{e} + l(l+1) \frac{\hbar^2}{2m^*} \right] u_n(\mathbf{r}, \mathbf{k}) C_m = 0. \quad (12)$$

### 3. Моделирование, результаты и обсуждение

Различные варианты физической структуры CdSe/ZnS/CdSe/ZnS и профили их потенциальной энергии показаны на рис.1. Для перекрытия широкого диапазона длин волн (310–760 нм) необходимо изменение профилей потенциальной энергии КТ. Также могут применяться другие методы, приводящие к перекрытию электромагнитного спектра, такие как вариации размеров КТ и композиции их материалов, но они не позволяют охватить весь диапазон (450 нм). Композиция из CdSe/ZnS/CdSe/ZnS используется во всех структурах на рис.1. Подобные струк-

туры находят применение в разнообразных приложениях [22, 35, 36]. Спектры испускания для них приведены на рис.2. Видно, что спектр люминесценции сконструированных структур перекрывает широкий диапазон.

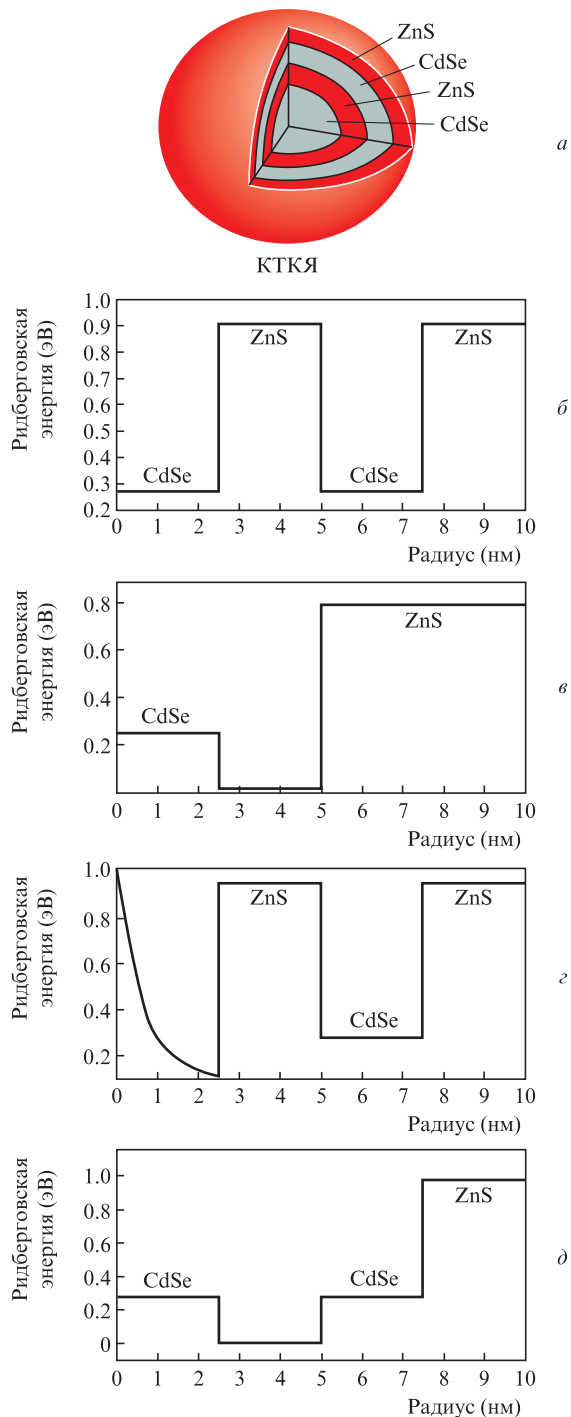


Рис.1. Схема системы КТКЯ (а) и потенциалы внутри гетеронанокристалла луковичной структуры CdSe/ZnS/CdSe/ZnS, использованные при моделировании структур St1 (б), St2 (в), St3 (з) и St4 (д).

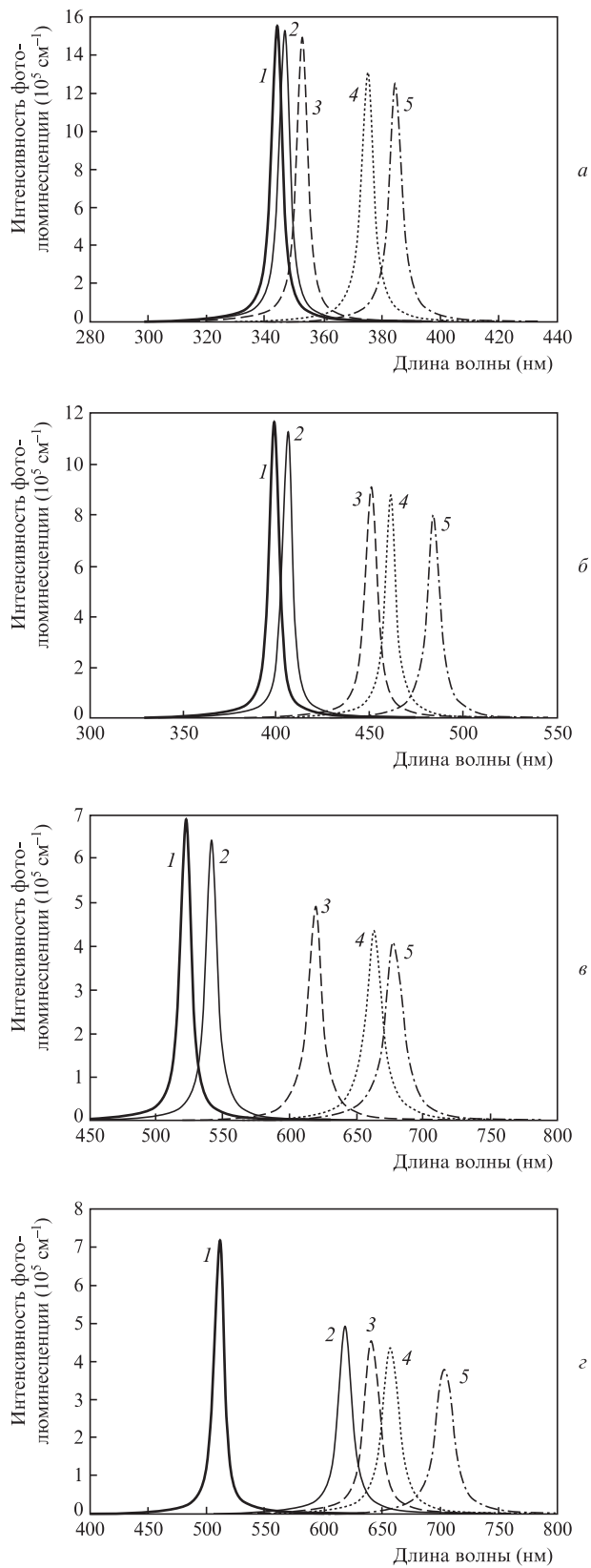


Рис.2. Интенсивность фотолюминесценции структур St1 (а), St2 (б), St3 (в) и St4 (з) при вариациях параметров (радиус системы КТКЯ равен 4 (1) и 5 нм (2–5)).

Рассмотрим процесс FRET в системе из двух квантовых точек, когда создается путь для потока энергии от донора к акцептору. Предположим, что все частицы (доноры и акцепторы) возбуждаются широкополосным традиционным источником света, а количество акцепторов и доноров составляет  $6 \times 10^{16}$  (частиц/см<sup>3</sup>). В данном разделе обсуждаются два примера донорно-акцепторных взаимодействий структур: St1 с St2 (рис.3) и St3 с St4 (рис.4).

Рассмотрим двухканальный FRET между St1 в качестве акцептора и St2 в качестве донора. В этом процессе величина перекрытия спектров испускания донора и поглощения акцептора может достигать  $3.83 \times 10^{-21}$  см<sup>3</sup>·М<sup>-1</sup> (рис.3,а). Одним из важных параметров в процессе FRET является время жизни донора, которому обратно пропорциональна скорость переноса энергии. При времени жизни донора  $1.56 \times 10^{-6}$  с скорость передачи энергии от до-

нора к акцептору(ам) очень высока (рис.3,б). Изменение радиуса Фёрстера  $R_0$  в зависимости от квантовой эффективности показано на рис.3,в. Его максимальное значение составляет 0.73 нм. Эту двухканальную систему можно рассматривать как нанобиосенсор, и она должна иметь высокую чувствительность при любом возмущении (например, при появлении молекул красителя).

Следует отметить, что время жизни донора должно быть больше 50 нс из-за автофлуоресценции и флуоресценции красителя. Для использования такого нанобиосенсора в других диапазонах длин волн рассмотрим другую двухканальную систему, состоящую из St3 и St4 (рис.4). В данном случае в роли акцептора выступает St4, а в роли донора – St3. При этом величина перекрытия спектров донора и акцептора и время жизни донора увеличиваются по сравнению с предыдущим случаем. Более того, ра-

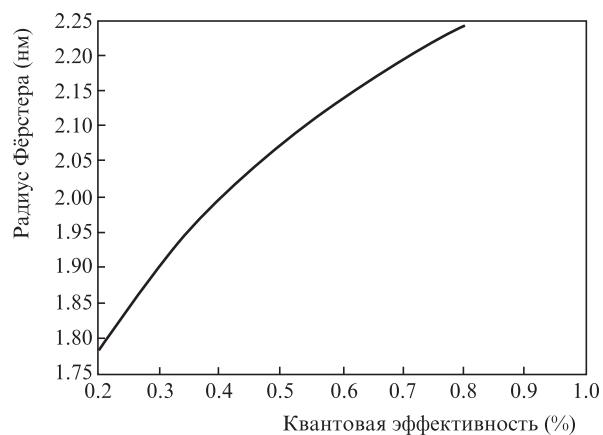
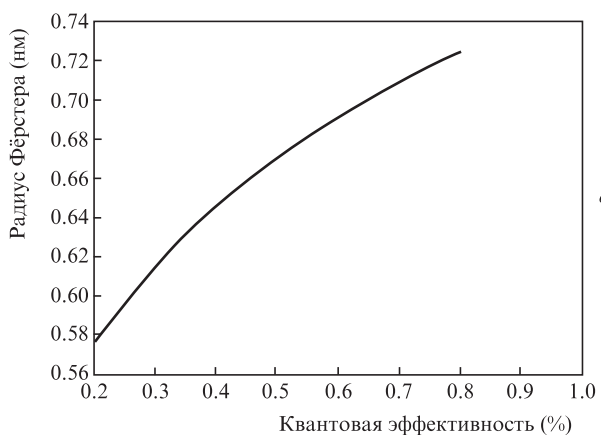
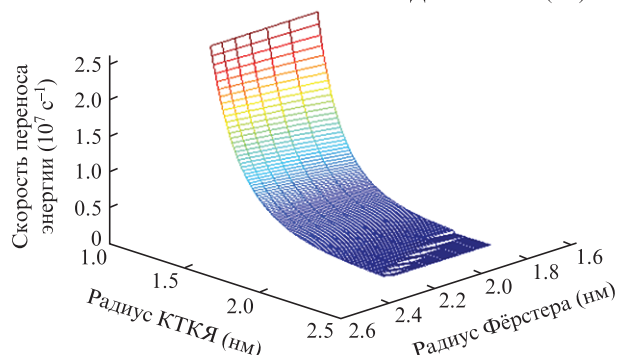
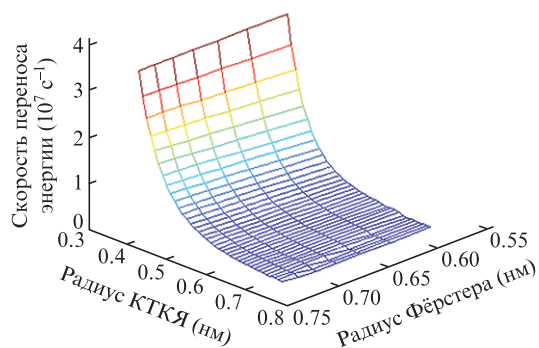
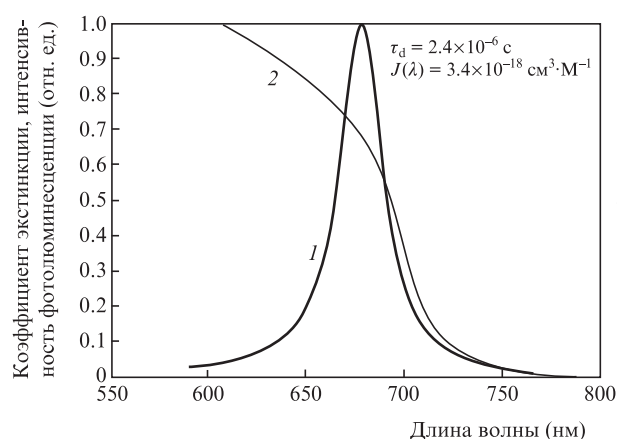
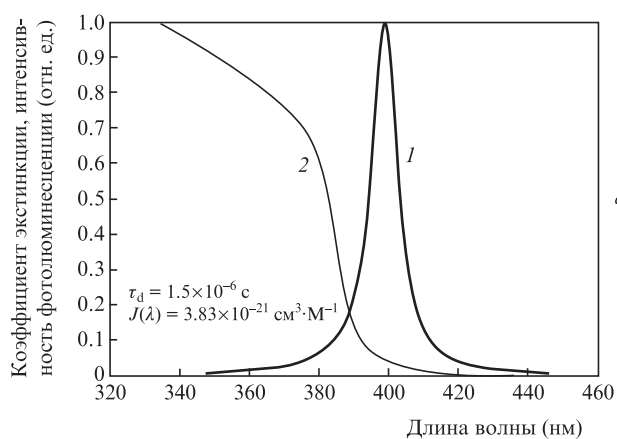


Рис.3. Нормированные коэффициент экстинкции акцептора (1) и интенсивность фотолуминесценции (2) (а), а также скорость переноса энергии в зависимости от радиуса системы КТКЯ и радиуса Фёрстера (б) и зависимость радиуса Фёрстера от квантовой эффективности (в) для системы из St1 и St2.

Рис.4. Нормированные коэффициент экстинкции акцептора (1) и интенсивность фотолуминесценции (2) (а), а также скорость переноса энергии в зависимости от радиуса системы КТКЯ и радиуса Фёрстера (б) и зависимость радиуса Фёрстера от квантовой эффективности (в) для системы из St4 и St3.

диус Фёрстера попадает в диапазон 1.8–2.25 нм. Скорость переноса энергии уменьшается до  $2.5 \times 10^8 \text{ с}^{-1}$  за счет увеличения времени жизни донора до  $2.4 \times 10^{-6} \text{ с}$ .

Сравнение рассмотренных выше двухканальных процессов FRET подтверждает, что с помощью различным образом сконструированных нанобиосенсоров можно перекрыть желаемый диапазон длин волн (310–760 нм). Могут быть рассмотрены и другие пары КТ, для которых перекрытие спектров донора и акцептора мало (например, St1 и St3), поэтому небольшое возмущение или взаимодействие с молекулой красителя может быть обнаружено.

Следует отметить, что перекрытие спектров донора в виде КТ и акцептора в виде молекулы красителя велико из-за высокого коэффициента молярной экстинкции молекулы красителя в живых организмах и ее широкого спектра поглощения. В связи с этим предложенный нанобиосенсор может быть детектором при взаимодействии раковых клеток с описанными двухканальными системами. Более того, с помощью этого сенсора возможно обнаружение здоровых и раковых клеток. Поскольку оптические характеристики раковых клеток (спектры поглощения и испускания, а также коэффициенты молярной экстинкции) отличаются от тех же величин у здоровых клеток, возмущения, испытываемые двухканальным нанобиосенсором, различны. Другими словами, заданный путь передачи энергии от донора к акцептору разрушается или «выключается» при появлении раковых клеток, поскольку рассмотренная двухканальная система преобразуется в трехканальную (два донора и один акцептор или два акцептора и один донор), в которой КТ играют роль доноров из-за большего времени жизни, широких полос поглощения и др., а присоединенная молекула (краситель) считается акцептором, т.к. источник света не может непосредственно возбуждать молекулу красителя. В конечном счете такой широкодиапазонный нанобиосенсор может обнаруживать любые неизвестные частицы.

Если использовать С5-индоанин в качестве молекулы красителя, а в качестве доноров взять St3 и St4 (максимальное время жизни  $2.4 \times 10^{-6} \text{ с}$ ), то величина перекрытия сильно увеличивается из-за суперпозиции двух доноров и приближается к  $3.4 \times 10^{-10} \text{ см}^3 \cdot \text{М}^{-1}$  (рис.5). Следовательно, разработанный нанобиосенсор можно рассматривать как высокочувствительный биосенсор, способный обнаруживать раковые клетки с высокой эффективностью.

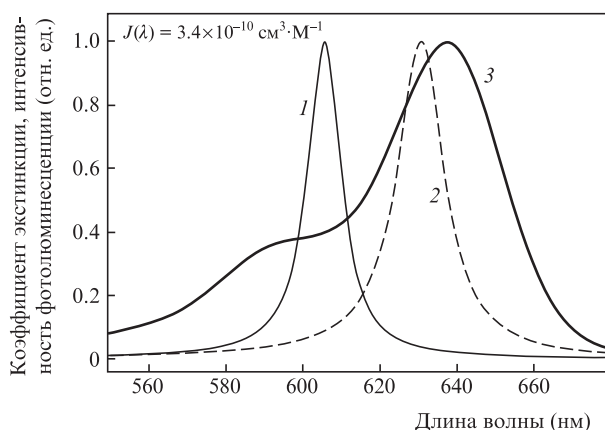


Рис.5. Спектры испускания квантовых точек St3 (1;  $\tau_d = 2.4 \times 10^{-6} \text{ с}$ ) и St4 (2;  $\tau_d = 2.2 \times 10^{-6} \text{ с}$ ), а также спектр поглощения молекулы красителя CY5 (3).

## 4. Выводы

В настоящей статье исследовано применение двухканальных FRET-систем в качестве нанобиосенсоров, работающих в широком диапазоне спектра (310–760 нм). Разработан дизайн нанобиосенсора, обеспечивающий столь широкий диапазон спектра за счет изменения параметров FRET при манипулировании структурой потенциала системы КТКЯ. Показано, что управление временем жизни донора приводит к изменению радиуса Фёрстера и улучшает параметры нанобиосенсора. В целом разработанные нанобиосенсоры могут обнаруживать любые возмущения живых систем, включая раковые клетки.

Настоящая работа была поддержана филиалом Ahar Исламского университета Azad и Nano Ideh Pardazane ARAZ Co.

- Zhong W. *Anal. Bioanal. Chem.*, **394**, 47 (2009).
- Sapsford K.E., Berti L., Medintz I.L. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 4562 (2006).
- Frasco M.F., Chaniotakis N. *Sensors*, **9**, 7266 (2009).
- Ho Y.P., Leong K.W. *Nanoscale*, **2**, 60 (2010).
- Sapsford K.E., Pons T., Medintz I.L., Mattoussi H. *Sensors*, **6**, 925 (2006).
- Wagner M.K., Li F., Li J., Li X.F., Le X.C. *Anal. Bioanal. Chem.*, **397**, 3213 (2010).
- SalmanOgli A. *Cancer Nanotechnol.*, **2**, 1 (2011).
- Dennis A.M., Bao G. *Nano Lett.*, **8**, 1439 (2008).
- Galvez E., Duser M., Borsch M., Wrachtrup J., Graber P. *Biochem. Soc. Trans.*, **36**, 1017 (2008).
- Kim S., Fisher B., Eisler H.J., Bawendi M. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 11466 (2003).
- Brokman X., Messin G., Desbiolles P., Giacobino E., Dahan M., Hermier J.P. *New J. Phys.*, **6**, 1 (2004).
- Szafran B., Adamowski J., Bednarek S. *Physica E*, **5**, 185 (2000).
- Absalan H., SalmanOgli A., Rostami R., Maleki S.A. *Adv. Sci. Eng. Med.*, **4**, 26 (2012).
- Jare-Erijman E.A., Jovin T.M. *Nat. Nanotechnol.*, **21**, 1387 (2003).
- Horvath G. *Ph.D. Thesis* (University of Debrecen, Medical and Health Science Center, Faculty of Science, 2005).
- Cohen A.E., Mukamel Sh. *J. Phys. Chem. A*, **107**, 3633 (2003).
- Rao J., Andrasi A., Yao H. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **18**, 17 (2007).
- Algar W.R., Tavares A.J., Krull U.J. *Anal. Chim. Acta*, **673**, 1 (2010).
- Willard D.M., Mutschler T., Yu M., Jung J., Van Orden A. *Anal. Bioanal. Chem.*, **384**, 564 (2006).
- Xing Y., Rao J. *Cancer Biomarkers*, **4**, 307 (2008).
- Malicka J., Gryczynski I., Fang J., Lakowicz J.R. *Anal. Biochem.*, **317**, 136 (2003).
- Nizamoglu S., Volkan H. *Opt. Express*, **16**, 3515 (2008).
- SalmanOgli A., Rostami A. *J. Nanopart. Res.*, **13**, 1197 (2010).
- Saini S., Singh H., Bagchi B. *J. Chem. Sci.*, **118**, 23 (2006).
- Basko D.M., Granovich A.V.M., Bassani F., La Rocca G.C. *Eur. Phys. J. B*, **13**, 653 (2000).
- Stricker S.J., Berg R.A. *J. Chem. Phys.*, **3**, 814 (1962).
- Roi B., Rabani E. *J. Chem. Phys.*, **128**, 184710 (2008).
- Zhangy L., Leng Y., Zhang J., Hu L. *J. Mater. Sci. Technol.*, **26**, 921 (2010).
- Enders P., Muller R., Klehr A., Gundlach H. *IEE Proc. Optoelectron.*, **143**, 62 (1996).
- Yoo H.K. *Ph.D. Thesis* (Texas Tech. University, 1971).
- Geissbuhler I. *Ph.D. Thesis* (École Polytechnique Federale de Lausanne, 2005).
- Mazumder S., Dey R., Mitra M.K., Mukherjee S., Das G.C. *J. Nanomater.*, **2009**, 815734 (2009).
- Medintz I.L., Tetsuouyeda H., Goldman E., Mattoussi H. *Nat. Mater.*, **4**, 435 (2005).
- Nie S., Xing Y., Kim G.J., Simons J.W. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, **9**, 257 (2007).
- Rostami A., Rasooli H., Asghari N. *Physica B*, **403**, 2789 (2008).
- Rostami A., Rasooli H. *Microelectron. J.*, **38**, 342 (2007).