

# **СОВРЕМЕННЫЕ ИСКУССТВЕННЫЕ ФЛУОРОФОРЫ И СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ РЕТИНАЛЬ-СОДЕРЖАЩИЕ БЕЛКИ КАК ПРООБРАЗ ЭЛЕМЕНТНОЙ БАЗЫ ДЛЯ КВАНТОВОЙ НАНОХИРУРГИИ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА**

**В. О. Пономарёв, Г. В. Чашин**

Екатеринбургский центр МНТК «Микрохирургия глаза», Екатеринбург

[cgv@eyeclinic.ru](mailto:cgv@eyeclinic.ru)

Взаимодействие биоконъюгатов на основе квантовых точек с молекулами родопсина наружного сегмента фоторецепторов-палочек может представлять собой уникальный усилитель зрения, например при некоторых дистрофических заболеваниях сетчатки.

Квантовые точки (КТ) — полупроводниковые кристаллы размером несколько нанометров, которые из-за малого размера обладают свойствами, отличными от объемных полупроводников. Под воздействием светового излучения КТ могут поглощать световые волны, перемещая электроны на более высокий энергетический уровень, и испускать свет при переходе электронов обратно на низкий энергетический уровень.

Высокочувствительные биомаркеры, разработанные на их основе, представляют альтернативу широко известным органическим красителям для диагностики заболеваний глаз [1; 2]. К преимуществам флуоресцирующих нанокристаллов можно отнести многообразие и чистоту возможных цветов, а также высокую яркость их свечения, которая позволяет проводить сверхчувствительное детектирование, в некоторых случаях на уровне единичных молекул. Квантовые точки характеризуются высоким квантовым выходом флуоресценции (до 90 %) уникальной для флуорофоров чистотой цвета (полуширина пика флуоресценции 15–30 нм), устойчивостью к фотообесцвечиванию (на два-три порядка выше, чем у органических флуорофоров) и уникальным спектром поглощения. Сечение поглощения возбуждающего света квантовыми точками на несколько порядков выше, чем у органических красителей. Поэтому, при операциях на сетчатке и стекловидном теле введение в витреальную полость коллоидного раствора, содержащего КТ [3], позволяет отчетливо визуализировать стекловидное тело, внутреннюю пограничную мембрану, эпиретинальные мембраны и др.

---

© Пономарёв В. О., Чашин Г. В., 2012

В офтальмологии КТ используются не только для визуализации тканей в полости глаза. Например, получен новый пептид [4] со свойствами трансдукции белка для доставки лекарственных препаратов к тканям глаза, включая сетчатку и роговицу, который, соединяясь с квантовыми точками, существенно легче проникает через клеточные мембраны и повышает эффективность действия этих препаратов.

Физической основой послужил открытый более полувека назад фёрстеровский резонансный перенос энергии — FRET-эффект (Fluorescence Resonant Energy Transfer), объясняющий механизм взаимодействия между флуорофорами.

В последнее время интерес к нему резко возрос из-за появления полупроводниковых нанокристаллов — КТ [5; 6]. При FRET-эффекте (Рис. 1) энергия, поглощенная донором (Д), которым является КТ, безизлучательно переносится на акцептор (А) — фоторецептор. Для этого спектры поглощения акцептора и донора должны перекрываться, а также акцептор и донор должны быть, как можно больше сближены между собой. В противном случае эффективность FRET резко убывает. При соблюдении этих условий развивается интенсивная флуоресценция между донором и акцептором.

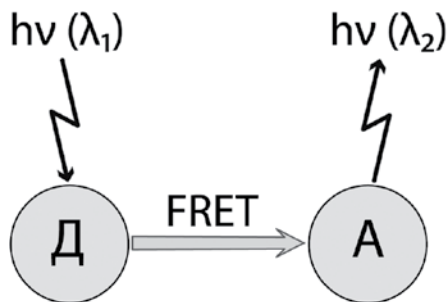


Рис. 1

Для осуществления экспериментов на моделях родопсина и на изолированных глазах животных нами предварительно была предпринята попытка теоретически обосновать выбор типа и характеристик КТ и способа их размещения в полости глаза для стимуляции фоторецепторов сетчатки.

С использованием подходов теории Г. Ми [8] нами исследована зависимость сечения экстинкции КТ, состоящих из ядра и однослойной (двухслойной) оболочки, от размерного ряда КТ и типа окружающей матрицы в видимом диапазоне спектра. Установлены зависимости ширины пиков флуоресценции в механизме FRET, положения пиков резонансного поглощения от геометрических размеров ядра, оболочек КТ и диэлектрической проницаемости окружающей среды. Исследование было проведено с новым типом КТ на основе фосфида индия (InP/ZnS), которые

имеют низкую химическую токсичность по сравнению с традиционно известными КТ на основе тяжелых металлов. Уникальные для офтальмологии КТ синтезированы в научно-технологическом и испытательном центре «Нанотех-Дубна», г. Дубна. Эти КТ покрыты гидрофильной кремнийорганической оболочкой, которая выполняет защитную функцию и обеспечивает диспергируемость наночастиц в водной среде. Кроме того, функциональность поверхности КТ дает возможность их конъюгации с биомолекулами фоторецепторов. Максимум флуоресценции КТ лежит в изумрудно-зеленой области спектра на 520–530 нм, что практически соответствует спектру поглощения молекул родопсина дисков наружных сегментов фоторецепторов сетчатки.

На специальном стенде проведено экспериментальное исследование возможности управления вектором перемещения КТ в неоднородном магнитном и электрическом поле.

Расчеты, проведенные с помощью пакета Maple, показали, что для возникновения ферстеровского резонансного переноса энергии, квантовая точка как донор должна помещаться на расстоянии (так называемый ферстеровский радиус переноса энергии) не более 22 нм от фоторецептора, который является акцептором. Как вариант, мы рассматривали субретинальное расположение КТ, т. е. к наружному сегменту фоторецепторов или к микровилам пигментного эпителия.

Доказательством эффективности введения КТ служит усиление электрических ответов от сетчатки глаза. Джеффри Олсенем [7] в аналогичном исследовании было установлено, что крысы, которым были введены КТ в сетчатку глаза, показали более высокую электрическую активность в сетчатке, чем те, которые получили инъекции солевого раствора, или вообще не подвергались никакому воздействию.

Таким образом, идея стимулирования электрической активности глаза за счет введения КТ прямо в сетчатку может послужить реальной альтернативой бионическому глазу [9], предполагающую установку кремниевого чипа для стимуляции сетчатки.

## Литература

1. Казайкин В. Н., Ремпель А. А., Разводов А. А., Кожевникова Н. С., Чащин Г. В. Возможности визуализации нанообъектов в витреоретинальной хирургии (предварительное сообщение) // Материалы XV научно-практической конференции офтальмологов, Екатеринбург, 2008. С. 41–43.

2. Cai W., Hofmeister H., Rainer T. and Chen W. Optical properties of Ag and Au nanoparticles dispersed within the pores of monolithic mesoporous silica // Journal of Nanoparticle Research. 2001. Vol. 3. P. 443–453.

3. *Freeman Ronit, Li Yang, Tel-Vered Ran, et al.* Self-assembly of supramolecular aptamer structures for optical or electrochemical sensing // *Analyst*, 2009. 134. P. 653–656.

4. *Igor L. Medintz and Hedi Mattoussi* Quantum dot-based resonance energy transfer and its growing application in biology // *Phys.Chem.Chem.Phys.*, 2009. 11. P. 17–45.

5. *Johnson L. N., Cashman S. M., Kumar-Singh R.* Cell-penetrating Peptide for Enhanced Delivery of Nucleic Acids and Drugs to Ocular Tissues Including Retina and Cornea // *Mol. Ther.*, 2008. V.16, № 1. P. 107–114.

6. *Olson, J.* (US patent), wo/2008/106605, «Method for stimulating retinal response using photoactive devices».

7. *Yamamoto S., Manabe N., Fujioka K., Hoshino A., Yamamoto K.* Visualizing Vitreous Using Quantum Dots as Imaging Agents // *IEEE Trans. NanoBioscience*, 2007.V.6, № .1. P. 94–98.

8. *Smith A. M., Duan H., Mohs A. M., Nie S.* Bioconjugated quantum dots for in vivo molecular and cellular imaging // *Adv Drug Deliv Rev.*, 2008. V.17, № 11. P. 1226–1240.

9. *Zrenner E., Wilke R., Bartz-Schmidt K., Benav H., Besch D., Gekeler F., Koch J., Porubska K., Sachs H., Wilhelm B.* Blind Retinitis Pigmentosa Patients Can Read Letters and Recognize the Direction of Fine Stripe Patterns With Subretinal Electronic Implants // *IOVS* 2009. 50, E-Abstract 4581.

MODERN ARTIFICIAL FLUOROFORS  
AND LIGHT-SENSITIVE RETINAL — CONTAINING PROTEINS  
AS A PROTOTYPE OF ELEMENT BASE FOR QUANTUM  
NANOSURGERY OF A RETINA OF AN EYE

*V.O. Ponomarev, G.V. Chashchin*

*IRTC Eye Microsurgery Ekaterinburg Centre, Ekaterinburg*

**Summary.** Modeling is carried out of artificial fluorofores (quantum dots) for quantum nanosurgery of the retina, for example for treatment of dystrophic diseases of retina by stimulation of photoreceptors is offered.