

КОНТРОЛИРУЕМАЯ ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК ДЛЯ БИОКОНЬЮГАЦИИ

Б. В. Ронишенко^{1*}, Е. А. Улащик¹, А. С. Круглик¹, М. Ю. Татульченков¹,
А. В. Радченко², В. В. Шманай¹, М. В. Артемьев²

УДК 621.315.592

¹ Институт физико-органической химии НАН Беларуси,
220072, Минск, ул. Сурганова, 13, Беларусь; e-mail: ranishenka@gmail.com

² Научно-исследовательский институт физико-химических проблем, Минск, Беларусь

(Поступила 24 мая 2019)

Одностадийная методика с использованием карбодиимидной конденсации предложена для контролируемой функционализации водорастворимых полупроводниковых квантовых точек (КТ) азидными группами. Контролируемое изменение поверхностной плотности функциональных групп и дзета-потенциала продемонстрировано при модификации анионных и аналогичных цвиттер-ионных полимеринкапсулированных CdSe/ZnS КТ типа ядро-оболочка. Этанолламин-О-сульфат, амино-тетраэтиленгликоль (H₂N-ТЭГ-ОН) и аминотетраэтиленгликоль-азид (H₂N-ТЭГ-N₃) использованы в качестве модификаторов. Функционализация исследована путем изучения кинетики конъюгации органического красителя JOE с КТ по реакции азид-алкинового циклоприсоединения, прототипированного напряжением в цикле (ЦПНЦ). Обнаружено, что реакционная способность КТ в ЦПНЦ практически пропорциональна относительной плотности азидных групп на поверхности КТ и дзета-потенциал КТ коррелирует с соотношением количества модификаторов. Показано, что азидные группы на поверхности КТ могут быть легко и в мягких условиях трансформированы в первичные аминогруппы при использовании трис(2-карбоксиитил)фосфина в качестве восстановителя. Применимость поверхностно-функционализированных КТ для биоконъюгации продемонстрирована путем конъюгации с флуоресцентно-меченым бычьим сывороточным альбумином.

Ключевые слова: полупроводниковые квантовые точки, биоконъюгация, клик-химия, азидные группы, карбодиимидная конденсация, дзета-потенциал, трис(2-карбоксиитил)фосфин.

The one-stage procedure using carbodiimide condensation was proposed for the controlled functionalization of water-soluble semiconductor quantum dots (QDs) with azide groups. A controlled variation in the surface density of the functional groups and zeta-potential was demonstrated by functionalization of anionic (carboxylic) and similar zwitterionic polymer-encapsulated CdSe/ZnS core-shell QDs. Ethanolamine-O-sulfate (EOS), aminotetraethylene glycol (H₂N-[TEG]-OH) and aminotetraethylene glycol azide (H₂N-[TEG]-N₃) were utilized as modifiers. Functionalization was investigated by studying the kinetics of the organic dye JOE conjugation with QDs using the strain-promoted azide-alkyne cycloaddition (SPAAC) reaction. The reactivity of QDs towards SPAAC has been found to be nearly proportional to the relative density of the surface azide groups, and the QDs zeta-potential correlates with the ratio of the modifiers. It was shown that azido groups on the surface of QDs can be easily and under mild conditions transformed into primary amino groups using tris(2-carboxyethyl)phosphine (TCEP) as a reducing agent. The applicability of surface-functionalized QDs for bioconjugation was demonstrated by their conjugation with dye-labeled bovine serum albumin (BSA).

Keywords: semiconductor quantum dots, bioconjugation, click-chemistry, azide groups, carbodiimide condensation, zeta-potential, tris(2-carboxyethyl)phosphine.

CONTROLLED FUNCTIONALIZATION OF WATER-SOLUBLE SEMICONDUCTOR QUANTUM DOTS FOR BIOCONJUGATION

B. A. Ranishenka^{1*}, E. A. Ulashchick¹, A. S. Kruhlik¹, M. Yu. Tatulchenkov¹, A. V. Radchanka²,
V. V. Shmanai¹, M. V. Artemyev² (¹ Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, 13 Surganova Str., Minsk, 220072, Belarus; e-mail: ranishenka@gmail.com; ² Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk 220006, Belarus)

Введение. Благодаря уникальным оптическим свойствам (яркой люминесценции с высоким квантовым выходом, узкой полосе фотолюминесценции, высокой фотостабильности и др.) полупроводниковые квантовые точки (КТ) являются перспективным для практического применения наноматериалом, в том числе в виде конъюгатов с биомолекулами. Биоконъюгация КТ может быть проведена с использованием нескольких общих подходов в зависимости от химических свойств их поверхности. Наиболее популярный и перспективный способ — ковалентное связывание с использованием биоортогональных реакций [1, 2]. В то же время полимеринкапсулированные водорастворимые КТ, пригодные для химической модификации поверхности, на протяжении последних десяти лет стали широко коммерчески доступными.

Карбодиимидная конденсация представляет собой общий метод для конъюгации биомолекул. Однако широко используемый для этих целей 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (ЭДК) из-за своей катионной природы может приводить к коллоидной дестабилизации отрицательно заряженных полимеринкапсулированных КТ [3]. Нами показано, что тщательный подбор условий реакции позволяет проводить ЭДК-индуцированную функционализацию карбоксилированных полимеринкапсулированных КТ без агрегации. Низкая стабильность ЭДК и соответствующих интермедиатов в воде привели к тому, что в последние годы конъюгация с помощью азид-алкинового циклоприсоединения, промотированного напряжением в цикле (ЦПНЦ), не требующего конденсирующих реагентов, стала наиболее популярной для КТ [4, 5]. Напряженные циклы, обычно применяемые в данном методе, такие как бициклононин (БЦН) или дибензоциклооктин (ДБЦО), по своей природе гидрофобны и потенциально могут снижать коллоидную стабильность наночастиц. Таким образом, модификация азидными функциональными группами более предпочтительна, поскольку позволяет достигать высокой поверхностной плотности функциональных групп благодаря их небольшому размеру и гидрофильности.

Функционализация наночастиц может выполняться как на стадии синтеза стабилизирующего полимера [6], так и на стадии солубилизации КТ [7]. Однако упомянутые подходы сложны и затратны. Вместе с тем карбодиимидная конденсация позволяет контролируемо вводить необходимое количество желаемых функциональных групп в гомогенных условиях. По причине сложности определения количества функциональных групп на поверхности КТ [8] с целью продемонстрировать возможность используемого метода функционализации предложен новый подход к решению данной проблемы, основанный на характеристике реакционной способности КТ.

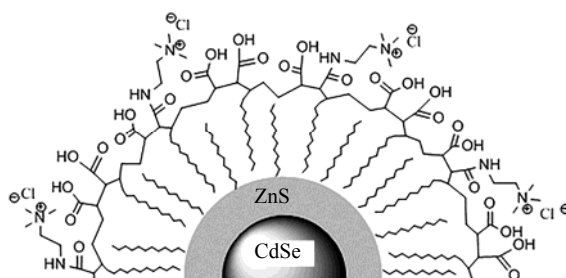
Важным для биологического применения параметром, влияющим на взаимодействие КТ с живыми клетками и тканями [9, 10], является поверхностный дзета-потенциал. Кроме того, тип заряженных групп на поверхности определяет стабильность КТ [11]. В данной работе рассматриваются возможности изменения дзета-потенциала цвиттер-ионных КТ путем их конденсации с аминами, содержащими заряженные и незаряженные функциональные группы в отдельности и в их комбинации.

Как известно, азидные группы находят широкое применение в качестве промежуточной функциональности для введения аминогрупп [12, 13]. Ранее было описано восстановление азидогрупп на поверхности КТ с использованием борогидрида натрия [8, 14]. В работе [15] показано, что борогидрид натрия восстанавливает азиды с удовлетворительными выходами только в присутствии ионов переходных металлов, что неприемлемо для КТ. Реакция Штаудингера, включающая в себя образование имидофосфоранов с последующим гидролизом, является общепринятым методом восстановления азидов. Насколько нам известно, восстановление азидов с использованием в качестве восстановителя трис(2-карбоксиитил)фосфина (ТКЭФ) в водной среде не описано. Кроме того, данный реагент представлен в качестве промотора для реакции медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения [14]. В настоящей работе продемонстрировано восстановление азидных групп на поверхности КТ с помощью ТКЭФ в водном растворе с последующей конъюгацией красителя по полученным аминогруппам.

Эксперимент. Материалы и оборудование. Кинетику конъюгации КТ изучали с помощью прибора для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени Bio-Rad CFX96, содержащего 96-луночный термостатируемый блок и использующего светодиоды для возбуждения люминесценции, набор светофильтров для спектральной селекции и фотодиоды для регистрации излучения. Спектры поглощения и люминесценции измеряли на спектрофотометре SOLAR PB2201 и спектрофлуориметре SOLAR CM2203, в которых источником света служит ксеноновая дуговая лампа высокого давления мощностью 150 Вт. Дзета-потенциал и гидродинамический диаметр измеряли с помощью прибора для измерения динамического рассеяния света Zetasizer Nano ZSP (Malvern), ис-

пользующего в качестве источника излучения гелий-неоновый лазер (мощность 10 мВт, длина волны излучения 632.8 нм) и лавинный диодный фотодетектор. Для обработки данных использовано программное обеспечение OriginPro 7.0.

Диметилформаид аналитической степени чистоты, ЭДК, другие реагенты и материалы (если не указано) приобретены у компаний Fluka и Aldrich; амины N_3 -ТЭГ-NH₂ и HO-ТЭГ-NH₂, а также производные флуоресцентных красителей — у ОДО “Праймтех” (Минск, Беларусь). Водорастворимые полимеринкапсулированные КТ CdSe/ZnS типа ядро-оболочка предоставлены лабораторией нанохимии НИИ ФХП БГУ (Минск, Беларусь). В экспериментах использованы два типа КТ: анионные (карбоксилные) и цвиттер-ионные. Оба типа имеют похожую структуру поверхности с различной долей четвертичных аминогрупп:



Для функционализации КТ 110 мкл 7 мкМ раствора КТ смешивали с 20 мкл 600 мМ раствора N_3 -ТЭГ-NH₂ (или его смеси с HO-ТЭГ-NH₂ или этаноламин-О-сульфатом), затем добавляли 5 мкл 1 М 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты до достижения pH 9.0. Смесь охлаждали до 0 °С, после чего добавляли 12.5 мкл свежеприготовленного водного раствора ЭДК (200 мг/мл в виде гидрохлорида). Реакционную смесь тщательно перемешивали и выдерживали в течение ночи при 7 °С. Модифицированные КТ очищали методом гель-эксклюзионной хроматографии на геле Sephacryl S-300, элюируя 20 мМ карбонатным буфером (pH 10.6).

Для определения количества активных групп на поверхности КТ 30 мкл 1 мкМ раствора КТ смешивали с 70 мкл 100 мМ карбонатного буфера с pH 9.0, затем добавляли 10 мкл 2.7 мМ раствора JOE-БЦН в диметилсульфоксиде. Реакционную смесь выдерживали в течение 72 ч при комнатной температуре. Конъюгат отделяли методом гель-эксклюзионной хроматографии на геле Sephacryl S-300. Состав конъюгата определяли по спектрам поглощения.

Для конъюгации КТ в режиме реального времени в пластиковой пробирке смешивали 8 мкл 0.5 М триэтиламонийацетатного буферного раствора (pH 9.0), 8 мкл 27 мкМ водного раствора JOE-БЦН, 12 мкл деионизированной воды, 7 мкл диметилсульфоксида и 15 мкл 1 мкМ водного коллоидного раствора КТ. Полученную смесь после перемешивания немедленно помещали в планшетный анализатор. Общий объем реакционной смеси 50 мкл при молярном соотношении JOE/КТ = 15 в реакционной смеси и конечной концентрации буфера 80 мМ. Приготовлено два типа референтных образцов: реакционная смесь без КТ; реакционная смесь, полученная путем добавления 20 мМ HO-ТЭГ-N₃ для дезактивации JOE-БЦН.

Для восстановления азидных групп с помощью ТКЭФ в 100 мкл 1 мкМ водного коллоидного раствора КТ в 50 мМ карбонатном буфере с pH 9.0 растворяли 0.5 мг ТКЭФ и выдерживали в течение 1 сут при 35 °С. Затем в реакционную смесь добавляли 20 % диметилформаида и Су5-NHS до концентрации 1 мМ. Смесь выдерживали в течение ночи при комнатной температуре и очищали дважды путем гель-эксклюзионной хроматографии с использованием карбонатного буфера с pH 9.0, содержащего 30 % диметилформаида для полного удаления избытка красителя. Референтный эксперимент проводили без добавления ТКЭФ.

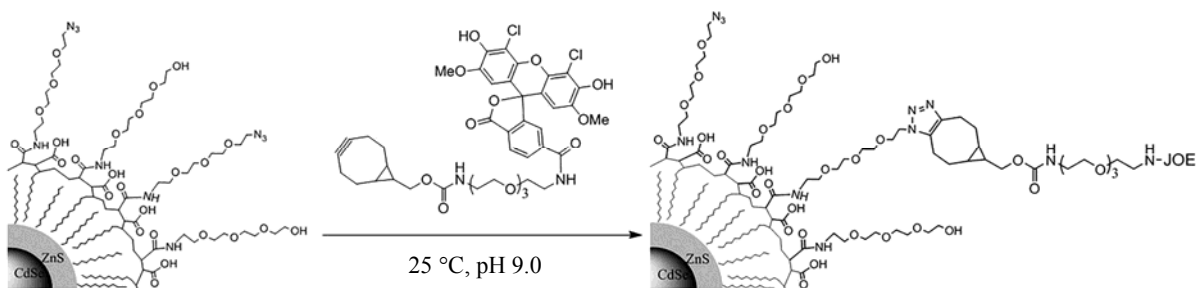
Для конъюгации КТ с БСА к 100 мкл 1 мкМ КТ, содержащих поверхностные азидные группы, добавляли 10 мкл 1 М триэтиламонийацетатного буферного раствора с pH 8.2. Затем в реакционную смесь вводили 1, 5 и 10 эквивалентов Су3-БСА-БЦН и выдерживали в течение ночи при 37 °С, после чего конъюгаты отделяли от непрореагировавшего белка на Sephacryl S-300 в 0.1 М карбонатном буфере с pH 9.0.

Результаты и их обсуждение. Функционализация поверхности КТ. В качестве модельного объекта для исследования использованы КТ с отрицательным дзета-потенциалом ($\xi = -36$ мВ при pH 9.0 в 10 мМ буферном растворе), инкапсулированные полималеиновым ангидридом-альт-тетрадецемом и

несущие на поверхности карбоксильные группы, обуславливающие отрицательный заряд КТ и способные реагировать с ЭДК. В соответствии с известным механизмом карбодиимидной конденсации активация карбоксильных групп посредством ЭДК приводит к уменьшению модуля дзета-потенциала благодаря формированию интермедиата, содержащего третичную аминогруппу на поверхности КТ. Активация карбоксильных групп — постепенный процесс, который приводит к нейтрализации КТ с их последующей агрегацией и седиментацией. Однако активированные карбоксильные группы способны к последующей реакции с присутствующими в реакционной смеси нуклеофилами (водой, гидроксильным анионом, аминами). Известно, что активированные карбоксильные группы (как и ЭДК) быстро гидролизуются при $\text{pH} > 9$. Эксперименты показали, что конденсация аминов в отсутствие буфера ($\text{pH} 10.2$) приводит к низкой степени модификации (только три азидогруппы на одну КТ). Уменьшение pH приводит к протонированию аминогрупп и снижению активности реагентомодификаторов. Кроме того, модуль дзета-потенциала КТ снижается при переходе к более низкому pH ($\xi = -25$ мВ при $\text{pH} 7.0$), что свидетельствует об уменьшении количества депротонированных карбоксильных групп на поверхности КТ, способных к реакции с ЭДК. Таким образом, для проведения функционализации подобраны условия, включающие в себя высокую концентрацию аминов и слабощелочную среду ($\text{pH} 9.0$). Нестабильность ЭДК в водных растворах приводит к необходимости использования высокой концентрации этого реагента для обеспечения удовлетворительной скорости и выхода реакции. Обнаружено, что процесс активации карбоксильных групп значительно больше зависит от температуры, чем последующее нуклеофильное замещение, и тщательный подбор температуры позволяет полностью избежать агрегации наночастиц. Полное отсутствие агрегации наблюдалось при температурах < 10 °С. В последующих экспериментах температура 7 °С использована в качестве оптимальной для данной концентрации реагентов.

Варьирование плотности функциональных групп на поверхности КТ. В качестве модификаторов для карбоксильных КТ использованы два амина с близкой структурой и молекулярной массой (N_3 -ТЭГ- NH_2 и HO -ТЭГ- NH_2) в предположении, что их реакционная способность одинакова. Относительное количество вводимых азидных групп подобрано таким образом, чтобы избежать статистических эффектов, связанных с их дискретностью (максимальное количество азидных групп, оцененное по спектрам поглощения насыщенного конъюгата КТ с JOE, составило 10 групп на одну КТ).

Для исключения погрешности в определении количества азидных групп, связанной с изменением свойств КТ при конъюгации с красителем, изучена кинетика реакции, представленной на схеме:



Использование КТ с полосой люминесценции при 520 нм позволяет получить сильное спектральное перекрытие с JOE ($\lambda_{\text{max}} = 526$ нм). В то же время полоса люминесценции КТ подобрана таким образом, чтобы имитировать спектральные свойства практически используемых органических красителей (флуоресцеина и SYBR Green) и анализировать кинетику реакции с помощью прибора, предназначенного для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

На рис. 1 представлены спектры поглощения и люминесценции конъюгатов КТ с JOE с различным соотношением JOE/КТ. Анализ спектров люминесценции конъюгатов КТ с JOE показывает (рис. 2, а), что статистически одна молекула JOE эффективно, более чем на 70 % (с учетом статистического распределения Пуассона более чем на 85 %), тушит люминесценцию КТ. Таким образом, тушение люминесценции КТ использовано для изучения кинетики реакции.

Спектры на рис. 1 получены для очищенных от избытка красителя конъюгатов. Следовательно, в данном случае речь идет о чисто статическом тушении люминесценции КТ ковалентно связанным с ее поверхностью красителем. Чтобы исключить влияние динамического тушения, а также статического тушения, вызванного нековалентным взаимодействием красителя с поверхностью КТ, кинетические кривые записывались относительно референтных образцов, в которых химическая реакция остановлена путем введения водорастворимого органического азиды (см. Эксперимент).

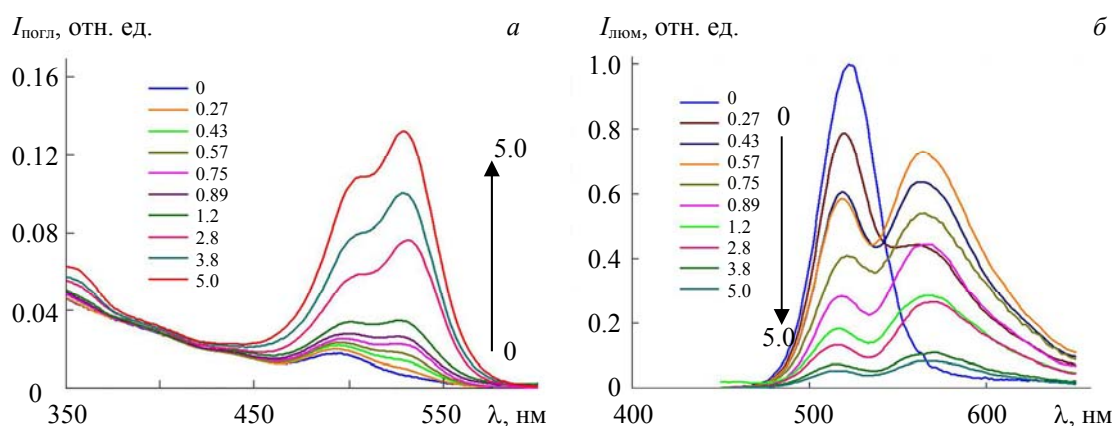


Рис. 1. Спектры поглощения (а) и люминесценции (б) конъюгатов КТ с JOE с различным среднестатистическим содержанием красителя в конъюгате

Исходные экспериментально полученные зависимости интенсивности люминесценции КТ от времени реакции трансформированы в зависимость $N(\text{JOE})/\text{КТ}$ от времени (рис. 2, б) (с помощью экспериментальной зависимости интенсивности люминесценции КТ от соотношения $N(\text{JOE})/\text{КТ}$ в конъюгате), экстраполированы к нулю и дифференцированы в этой точке для получения начальных скоростей реакции (табл. 1). Видно, что скорости реакции хорошо коррелируют с относительным количеством функциональных групп на поверхности (коэффициент корреляции 0.983). Кроме того, линейная аппроксимация и экстраполяция на нулевую скорость реакции дает 2.7 % азидных групп, что хорошо согласуется с теоретическим предсказанием (0 %).

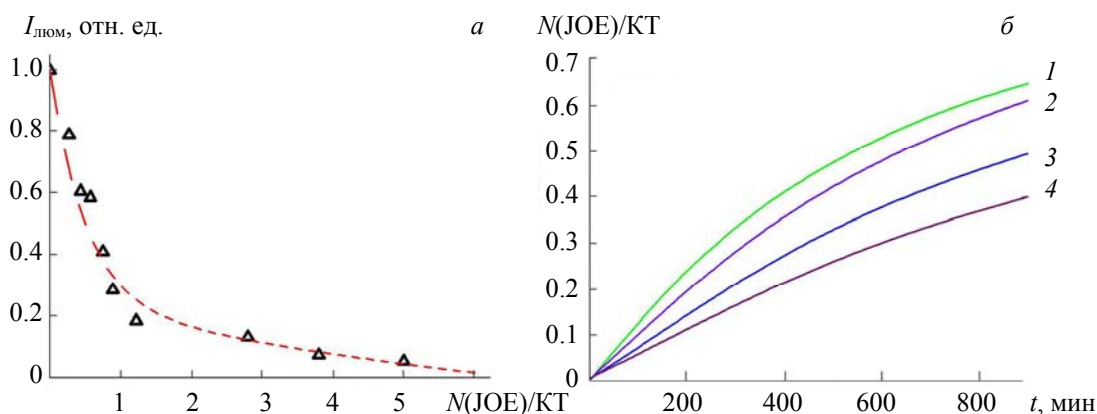


Рис. 2. Зависимость интенсивности люминесценции КТ от количества красителя в конъюгате (а); кинетические кривые реакции конъюгации красителя с КТ, содержащими 100 (1), 80 (2), 60 (3) и 40 % (4) азидных групп (б)

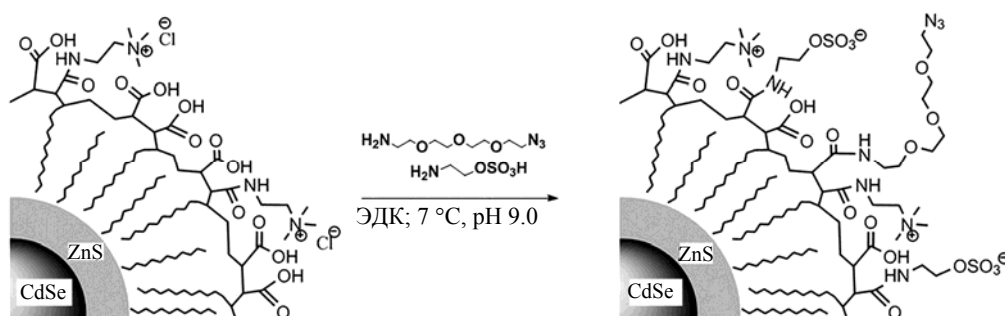
Т а б л и ц а 1. Начальные скорости реакций конъюгации JOE с КТ, содержащими различное количество азидных групп

Начальная скорость реакции ($dN(\text{JOE}/\text{КТ})/dt$) * 10^3 , мин ⁻¹	0*	0.506	0.659	0.954	1.240
Содержание азидных групп, %	2.7*	40	60	80	100

*Получено путем линейной аппроксимации.

Модификация КТ с изменением дзета-потенциала. Использованы цвиттер-ионные КТ с различными дзета-потенциалами, которые контролировались количеством четвертичных аминогрупп в полимерной оболочке путем их функционализации двумя типами амина. NH_2 -ТЭГ- N_3 применялся для введения незаряженной азидной группы, что уменьшало количество карбоксильных групп на по-

верхности КТ. Этанол-амин-О-сульфат использован для введения отрицательно заряженных групп на поверхность КТ:



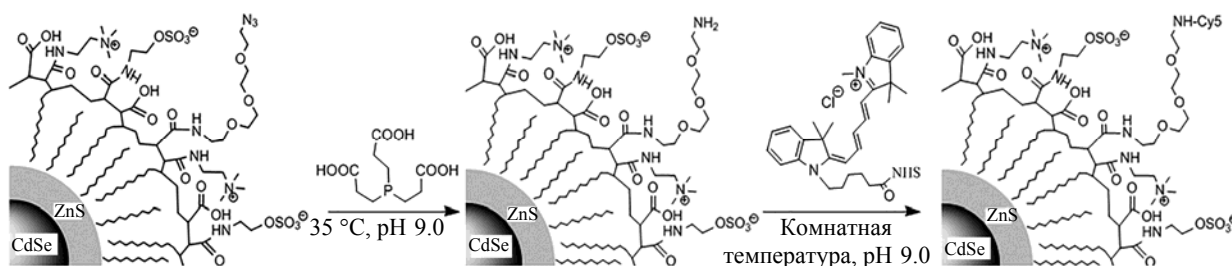
Все измерения дзета-потенциала выполнены в 20 мМ буферном растворе при pH 8.0. Каждый образец КТ обрабатывался каждым амином в отдельности и их эквимольной смесью (табл. 2). Модификация с помощью NH₂-ТЭГ-N₃ значительно увеличивает дзета-потенциал КТ. Введение этанол-амин-О-сульфата в обоих случаях приводит к относительно небольшому смещению дзета-потенциала в отрицательную область, что вызвано заменой частично диссоциированных слабокислых карбоксильных групп на полностью ионизированные сульфатные. Комбинация аминов в каждом случае дает промежуточное значение дзета-потенциала.

Т а б л и ц а 2. Влияние типа модификации на дзета-потенциал КТ

Образец КТ	Отрицательно заряженные КТ				Положительно заряженные КТ			
	Этанол-амин-О-сульфат	Без модификации	NH ₂ -ТЭГ-N ₃ ; этанол-амин-О-сульфат (1:1)	NH ₂ -ТЭГ-N ₃	Этанол-амин-О-сульфат	Без модификации	NH ₂ -ТЭГ-N ₃ ; этанол-амин-О-сульфат (1:1)	NH ₂ -ТЭГ-N ₃
ξ(pH 8.0), мВ	-21	-15	-12	-5	2	5	10	15

В предположении линейной зависимости дзета-потенциала КТ от плотности заряженных групп на поверхности оценено относительное количество азидных групп, вводимых при смешанной модификации: 56 и 62 % для отрицательно и положительно заряженных КТ. Полученные результаты хорошо согласуются с мольным соотношением модифицирующих реагентов (1:1). Таким образом, не наблюдается существенного влияния на результат модификации как природы модификаторов, так и заряда КТ. Это может быть объяснено высокой концентрацией аминов в реакционной смеси, что делает соотношение реагентов определяющим фактором.

Аминофункционализация КТ. ТКЭФ выбран в качестве мягкого водорастворимого восстановителя азидных групп (по реакции Штаудингера). Для лучшего спектрального разрешения и определения количества красителя в конъюгате по спектрам поглощения выбраны зеленые КТ и цианиновый краситель Cy5 (максимумы поглощения 490 и 650 нм). Схемы реакций:



Для исключения вклада нековалентного взаимодействия красителя с КТ проведены два эксперимента: со стадией восстановления и без нее. Для повышения растворимости Cy5-NHS реакцию проводили в 30 %-ном водном растворе диметилформамида. Продукт конъюгации дважды очищен путем гель-эксклюзионной хроматографии. Обнаружено, что нековалентно связывается ~0.3 молекулы Cy5 на одну КТ. В то же время восстановление с помощью ТКЭФ делает КТ способными к ковалентному взаимодействию с красителем, и отношение Cy5/QD увеличивается до 1.8 (рис. 3). Спектры люми-

несценции полученного конъюгата демонстрируют эффективный перенос энергии при слабом спектральном перекрытии полос люминесценции КТ и поглощения Су5.

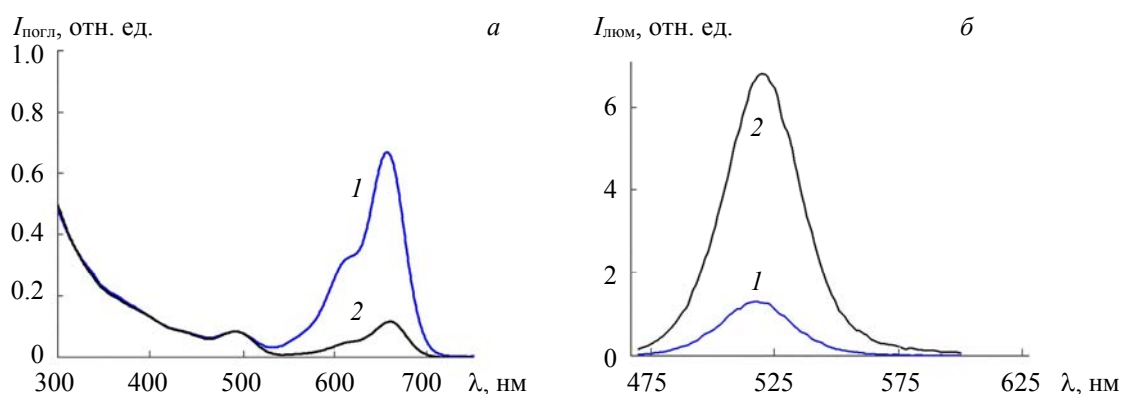


Рис. 3. Спектры поглощения (а) и люминесценции (б):
1 — конъюгат КТ с Су5, 2 — референтный образец

Конъюгация азидофункционализированных КТ с бычьим сывороточным альбумином (БСА). С целью продемонстрировать принципиальную способность азидомодифицированных КТ к био-конъюгации выбран модельный белок БСА. Для обеспечения ЦПНЦ реакции в белок введены бициклонониновые группы. Чтобы контролировать процесс конъюгации с КТ, в белок в качестве флуоресцентной метки вводили краситель Су3 с высоким коэффициентом экстинкции и хорошим спектральным перекрытием полосы поглощения с полосой люминесценции КТ, необходимым для эффективного переноса энергии. Схема реакции:

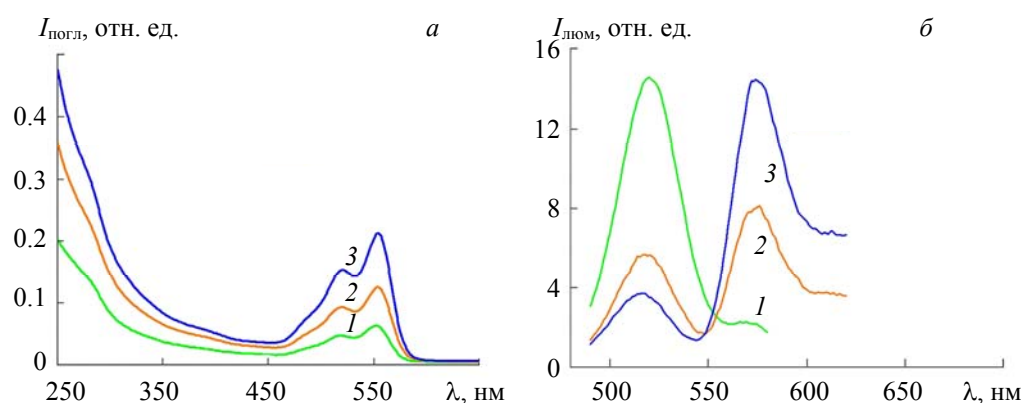
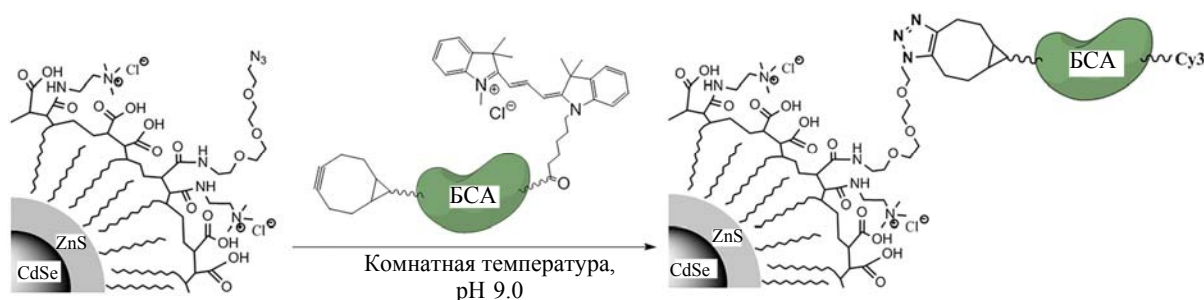


Рис. 4. Спектры поглощения (а) и люминесценции (б) конъюгата КТ с БСА:
1 экв. БСА-Су3 (1), 5 экв. БСА-Су3 (2) и 10 экв. БСА-Су3 (3)

На рис. 4 представлены спектры поглощения и люминесценции конъюгатов КТ-БСА с различным содержанием белка. Корректное определение среднего числа молекул БСА, связанных с одной КТ, затруднительно по причине сильного перекрытия спектров поглощения КТ и меченого БСА. Тем не менее спектры поглощения (рис. 4, а) демонстрируют корреляцию между количеством БСА

в реакционной смеси и его количеством в конечном конъюгате (грубая оценка состава конъюгатов, проведенная с использованием коэффициентов экстинкции КТ в УФ области и красителя в максимуме поглощения, дает БСА/КТ 1.1, 1.8 и 2.5 соответственно). Анализ люминесцентных спектров конъюгатов (рис. 4, б) приводит к такому же выводу. Кроме того, спектры люминесценции свидетельствуют об эффективном переносе энергии, что означает близкое расположение БСА и КТ в структуре конъюгата. Анализ КТ методом динамического светорассеяния до и после конъюгации показывает увеличение их гидродинамического диаметра с 12 до 24 нм во всех экспериментах. Отдельно проведен референтный эксперимент с 10 эквивалентами флуоресцентно-меченного БСА, не содержащего БЦН-групп. Образование конъюгата при этом не наблюдалось.

Заключение. Продемонстрировано, что карбодиимидная конденсация с использованием 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида при оптимальных условиях представляет собой удобный способ функционализации водорастворимых полимеринкапсулированных квантовых точек различными аминами. Количество функциональных групп на поверхности определяет реакционную способность квантовых точек и может контролироваться путем подбора соотношения модифицирующих аминов. Поверхностный дзета-потенциал может контролироваться в процессе функционализации квантовых точек при использовании аминов, несущих заряженные и незаряженные группы, а также их комбинации. Потенциально возможна множественная модификация с использованием нескольких аминов с различными структурами. Азидные группы на поверхности квантовых точек в мягких условиях и с удовлетворительными выходами могут быть восстановлены в аминогруппы путем взаимодействия с трис(2-карбоксиэтил)фосфином. При использовании трис(2-карбоксиэтил)фосфина в качестве восстановителя дисульфидных связей в присутствии азидных групп следует принимать во внимание его способность к восстановлению последних. Азидофункционализированные квантовые точки, полученные путем карбодиимидной модификации, способны к конъюгации с белками, модифицированными бициклононином или другими циклооктинами, по реакции азид-алкинового циклоприсоединения, промотированного напряжением в цикле. Степень конъюгации можно контролировать изменением концентрации реагентов. Поскольку коллоидные свойства квантовых точек определяются главным образом их полимерной оболочкой и полимерная инкапсуляция, как сообщалось ранее, является общим методом для сольубилизации различных наночастиц, полученные результаты потенциально применимы к полимеринкапсулированным наночастицам другого типа.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке ГПНИ “Химические технологии и материалы”, а также за счет гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований X18P-173.

- [1] N. Hildebrandt, C. Spillmann, W. Algar, T. Pons, M. Stewart, E. Oh, S. Kimihiro, S. Díaz, J. Delehanty, I. Medintz. *Chem. Rev.*, **117** (2017) 536—711
- [2] A. Banerjee, T. Pons, N. Lequeux, B. Dubertret. *Interface Focus*, **6** (2016) 1—17
- [3] P. T. Snee. *Acc. Chem. Res.*, **51** (2018) 2949—2956
- [4] C. Zhang, R. Macfarlane, K. Young, C. H. Choi, L. Hao, E. Auyeung, G. Liu, X. Zhou, C. Mirkin. *Nature Mater.*, **12** (2013) 741—746
- [5] O. Zavoira, U. Resch-Genger, O. Seitz. *Bioconjugate Chem.*, **29** (2018) 1690—1702
- [6] L. Trapiella-Alfonso, T. Pons, N. Lequeux, L. Leleu, G. Grimaldi, M. Tasso, E. Oujagir, J. Seguin, F. d’Orlyé, C. Girard, B.-T. Doan, A. Varenne. *ACS Appl. Mater. Interface*, **10** (2018) 17107—17116
- [7] C. Schieber, A. Bestetti, J. P. Lim, A. Ryan, T.-L. Nguyen, R. Eldridge, A. White, P. Gleeson, P. Donnelly, S. Williams. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **51** (2012) 10523—10527
- [8] N. Zhan, G. Palui, J.-P. Merkl, H. Mattoussi. *J. Am. Chem. Soc.*, **138** (2016) 3190—3201
- [9] S. Honary, F. Zahir. *Trop. J. Phys. Res.*, **12** (2013) 265—273
- [10] E. Petrova, T. Terpinskaya, A. Fedosyuk, A. Radchanka, A. Antanovich, A. Prudnikau, M. Artemyev. *J. Bel. State Univ., Chem.*, **1** (2018) 3—13
- [11] C.-W. Chi, Y.-H. Lao, Y.-S. Li, L.-C. Chen. *Biosens. Bioelectron.*, **26** (2011) 3346—3352
- [12] C. Gao, Z. Fisher, K. Edgar. *Cellulose*, **26** (2019) 445
- [13] R. Zhanga, K. Edgar. *Carbohydrate Polymers*, **122** (2015) 84—92
- [14] V. Mann, A. Powers, D. Tilley, J. Sack, B. Cohen. *ACS Nano*, **12** (2018) 4469—4477
- [15] H. Prakash, P. Siva. *Synthet. Commun.*, **24** (1994) 549—555