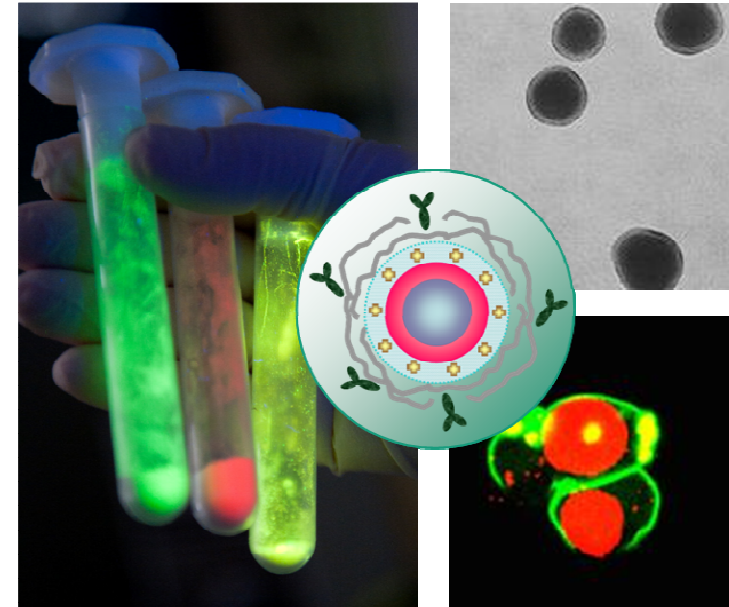
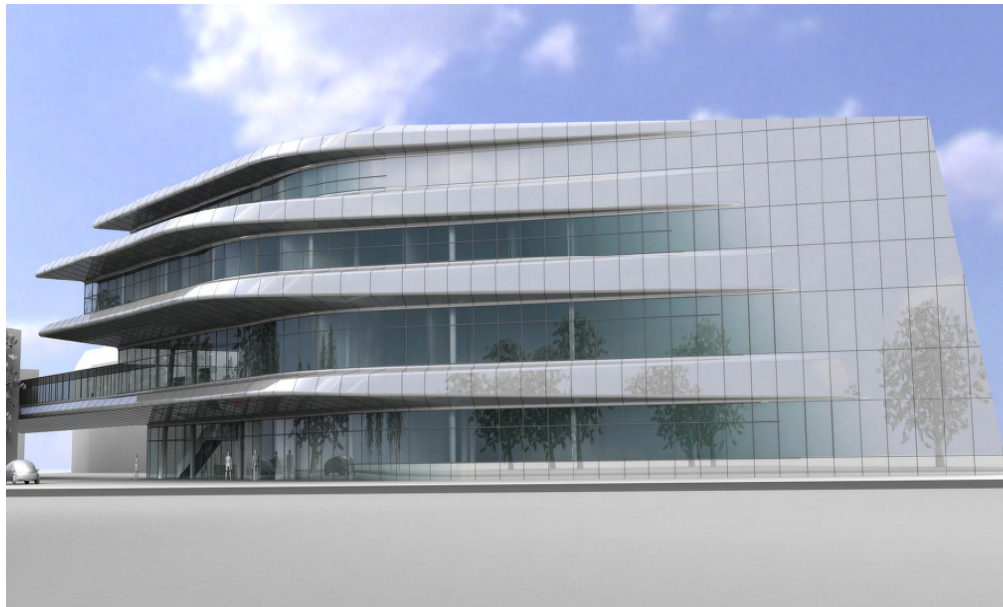


---

# Multifunktionale Nanopartikel für die Diagnostik

Dr. Sofia Dembski

---



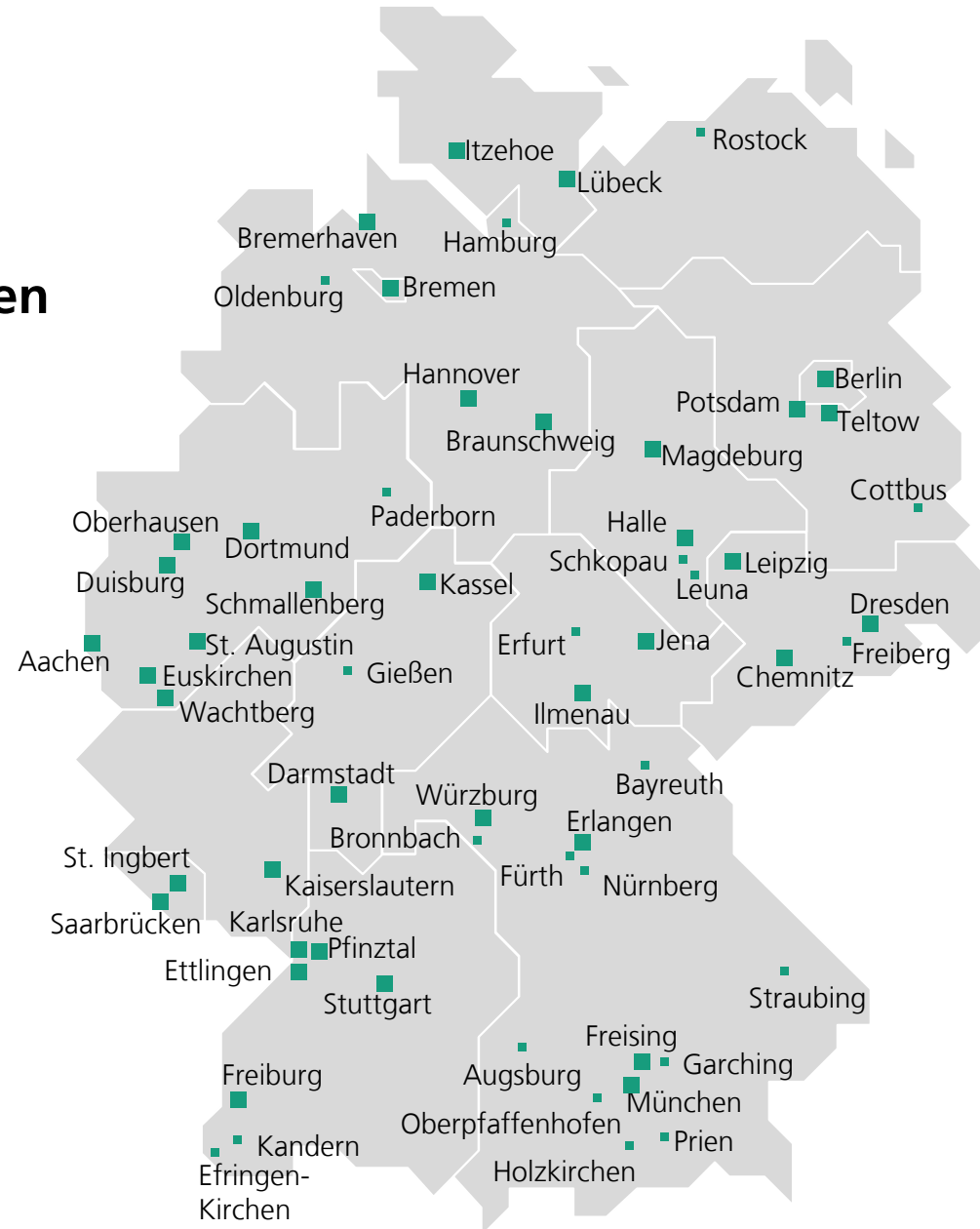
Workshop "Nanopartikel – Einsatz in der Medizin, Chemie und Verfahrenstechnik"  
21. Februar 2013, Hanau

# Fraunhofer-Gesellschaft

## Standorte in Deutschland:

- **66 Institute und Einrichtungen**
- **mehr als 22 000 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter**
- **1,9 Mrd € Forschungsvolumen jährlich, davon 1,6 Mrd € im Leistungsbereich Vertragsforschung**

- **Institute und Einrichtungen**
- **weitere Standorte**



# Fraunhofer-Institut für Silicatforschung ISC – Standorte



**Hauptsitz Würzburg**



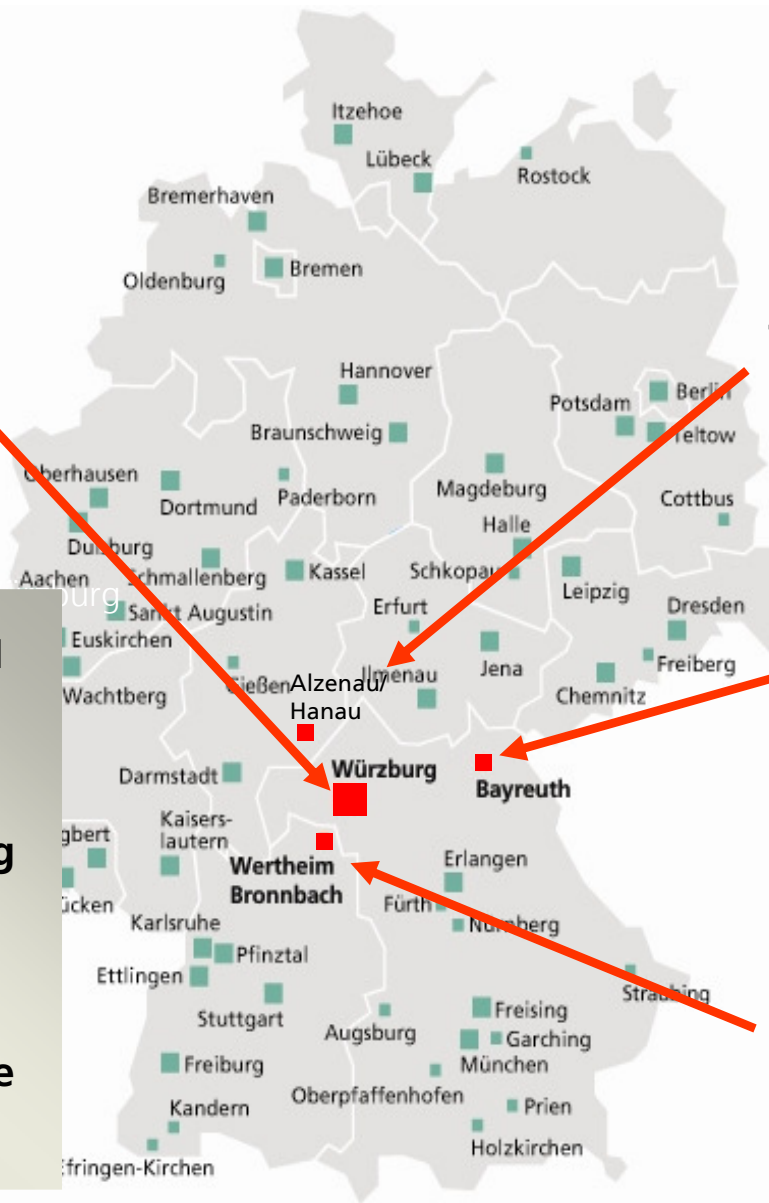
**Fraunhofer-Projektgruppe für Wertstoffkreisläufe und Ressourcenstrategie, IWKS**



**Fraunhofer-Zentrum für Hochtemperatur-Leichtbau**

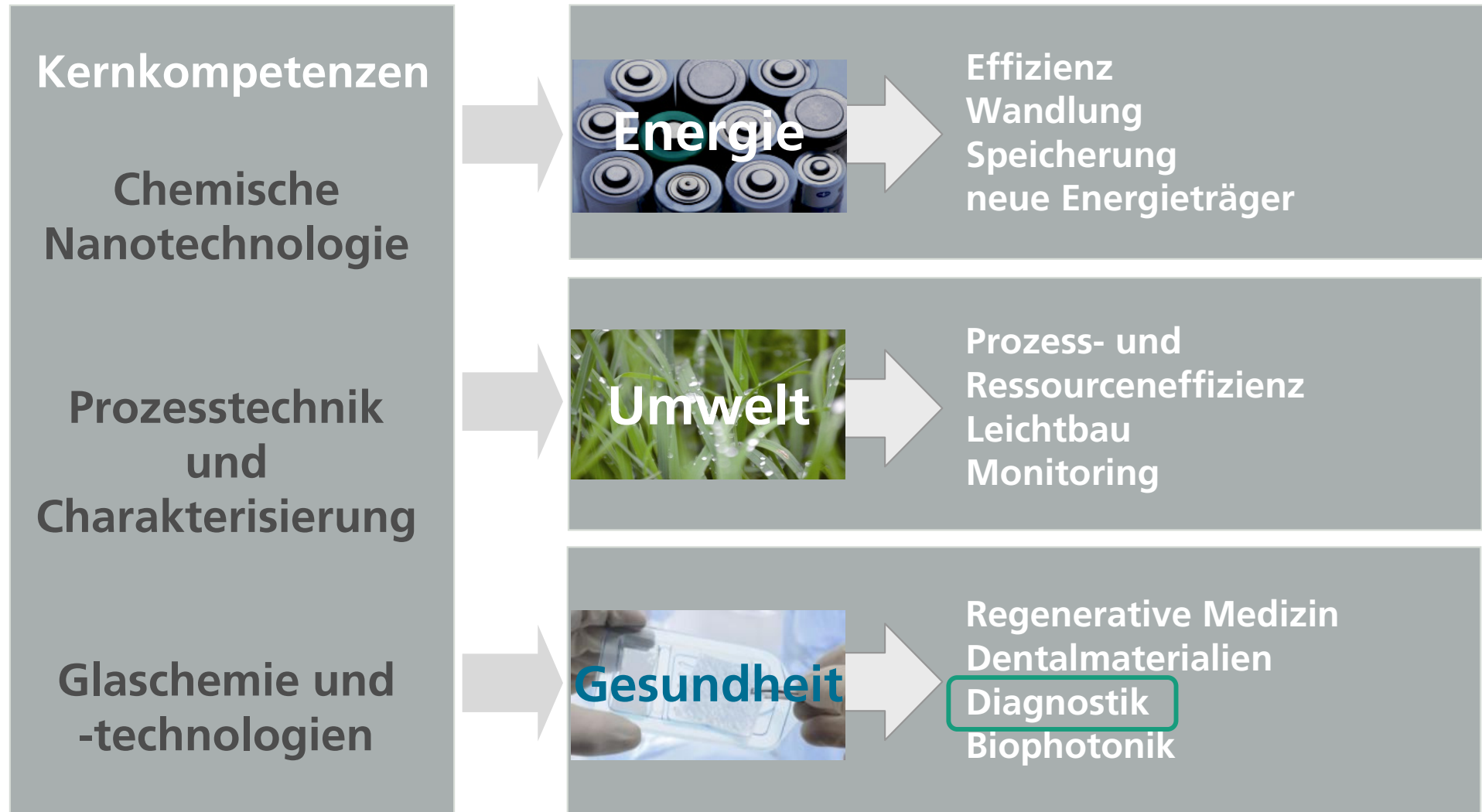


**Außenstelle Bronnbach**



- **Gesamtbetriebshaushalt 2011 18,5 Mio Euro davon 14,2 Mio Euro aus Auftragsforschung und 4,3 Mio Euro aus institutioneller Förderung**
- **315 Mitarbeiter, 197 Stammpersonal**
- **Rund 200 Forschungsprojekte und über 800 Kleinaufträge**

# Fraunhofer ISC – Werkstoffwissen für die Herausforderungen von morgen

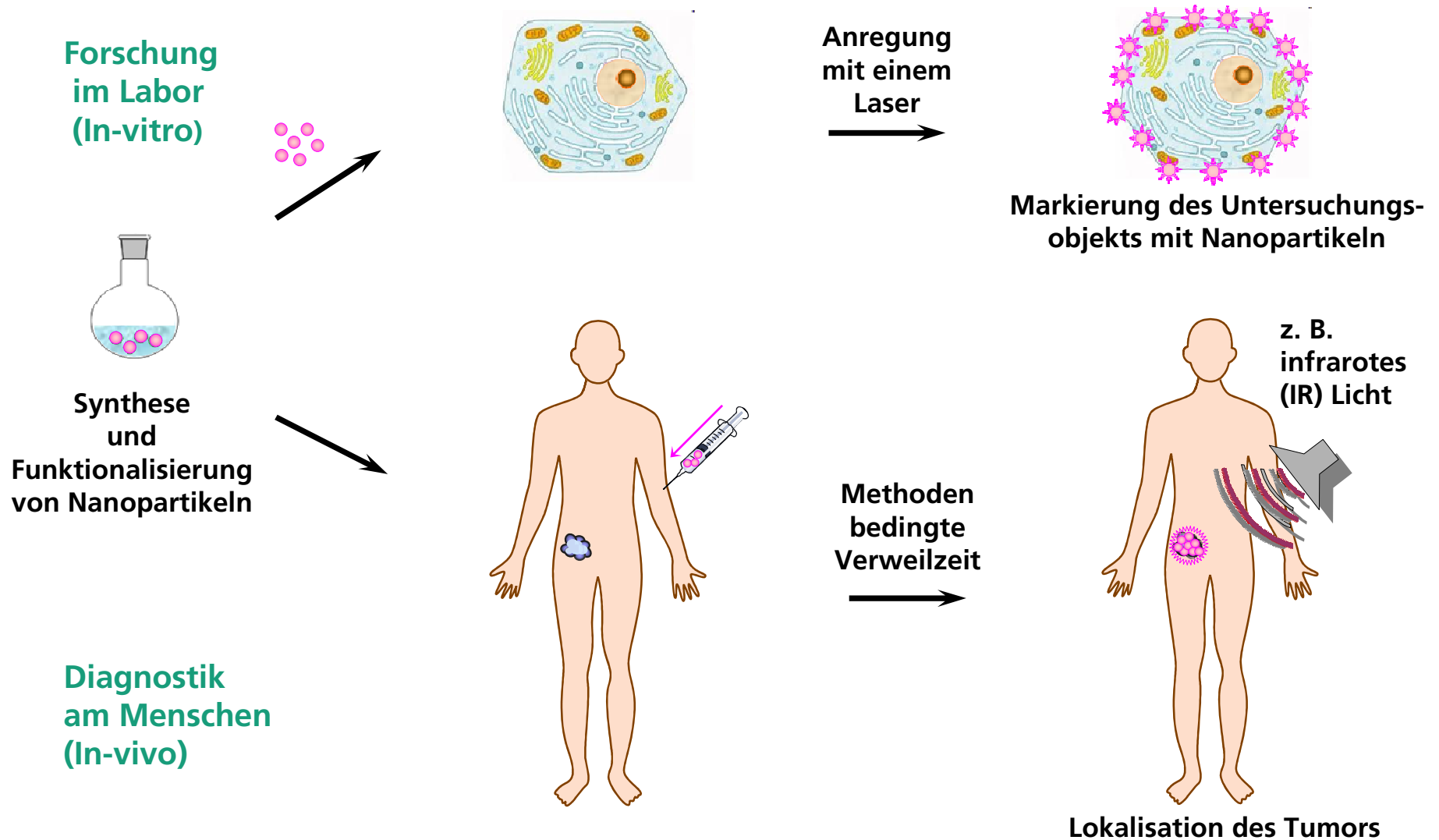


Bilder: Fraunhofer ISC

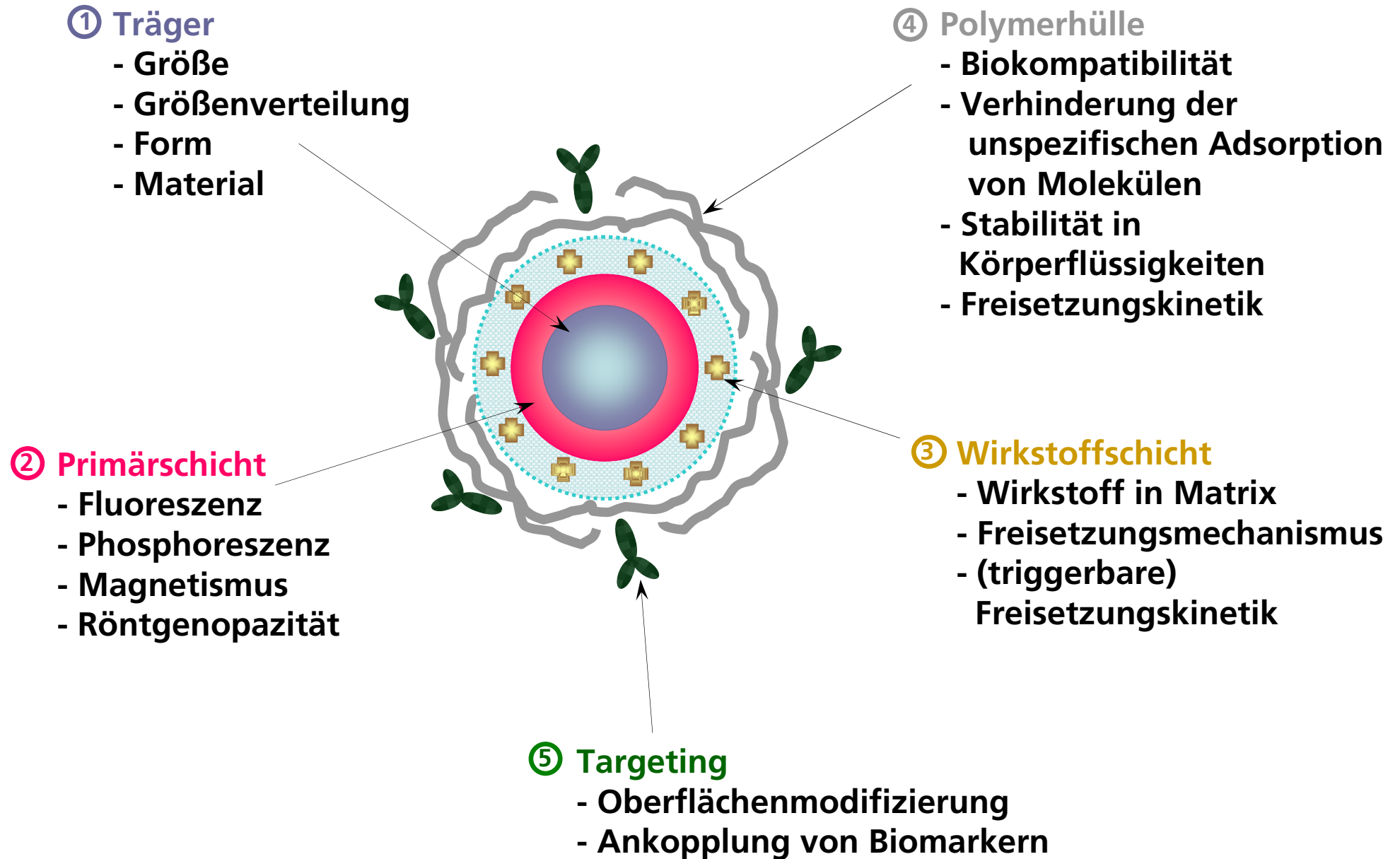
© Fraunhofer

# Nanopartikel für die Diagnostik

Markierung von Untersuchungsobjekten: Biomoleküle, Bestandteile der Zelle, Tumoren usw. mit lumineszierenden Nanopartikeln



# ORMOBEAD® - Konzept



# Farbstoffdotierte lumineszierende Nanopartikel

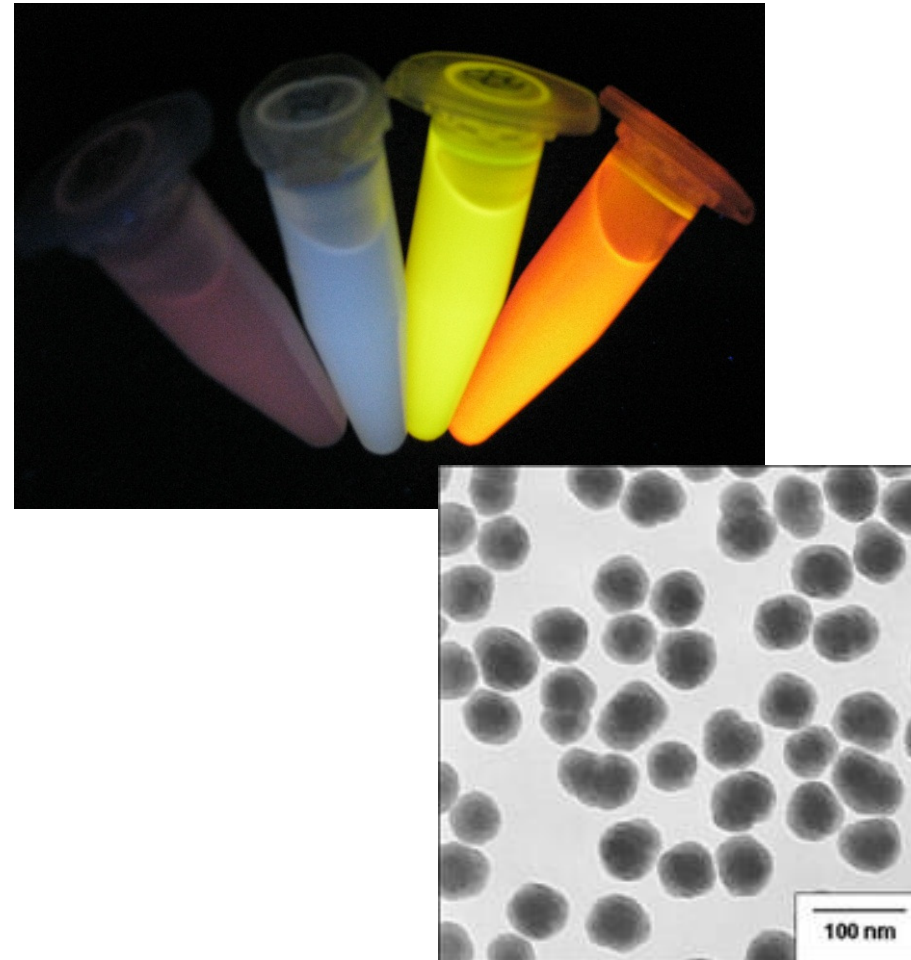
## ■ Synthese von lumineszierenden Nanopartikeln auf SiO<sub>2</sub>-Basis

- einstellbare Partikelgröße im Bereich:  $d = 60 - 800 \text{ nm}$
- agglomerat- und aggregatfrei
- enge Partikelgrößenverteilung: (Polydispersität 3 – 12%)

## ■ Kovalente Anbindung von unterschiedlichen organischen Farbstoffmolekülen an die SiO<sub>2</sub>-Matrix

- homogene Verteilung des Fluoreszenzmarkers
- Verhinderung des Ausblutens der Farbstoffe aus dem Partikel
- Erhöhung der Photostabilität des eingebauten Farbstoffes

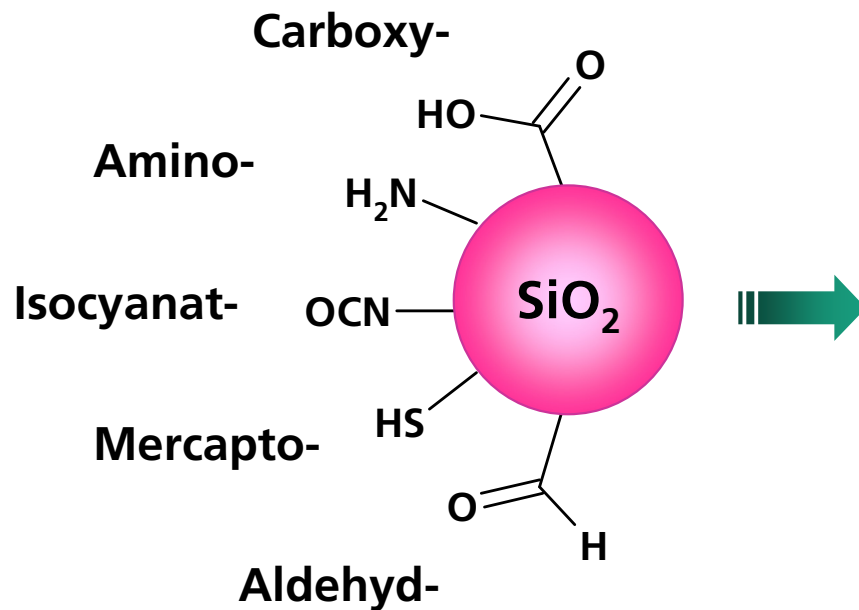
SiO<sub>2</sub>-basierte NP-Dispersionen unter Beleuchtung mit einer UV-Lampe ( $\lambda_{\text{Anr}} = 365 \text{ nm}$ )



TEM-Aufnahme von lumineszierenden Nanopartikeln auf Basis von SiO<sub>2</sub>

# Oberflächenfunktionalisierung von Nanopartikeln

- Oberflächenmodifizierung von  $\text{SiO}_2$ -Nanopartikeln mit Hilfe von Silanen (Silanisierung)
- Kovalent gebundene Spacer
- Variation der Spacerlänge und chemischen Funktionalität
- Qualitative und quantitative Bestimmung der Partikeloberflächenbelegung (Kolorimetrie,  $\zeta$ -Potential)

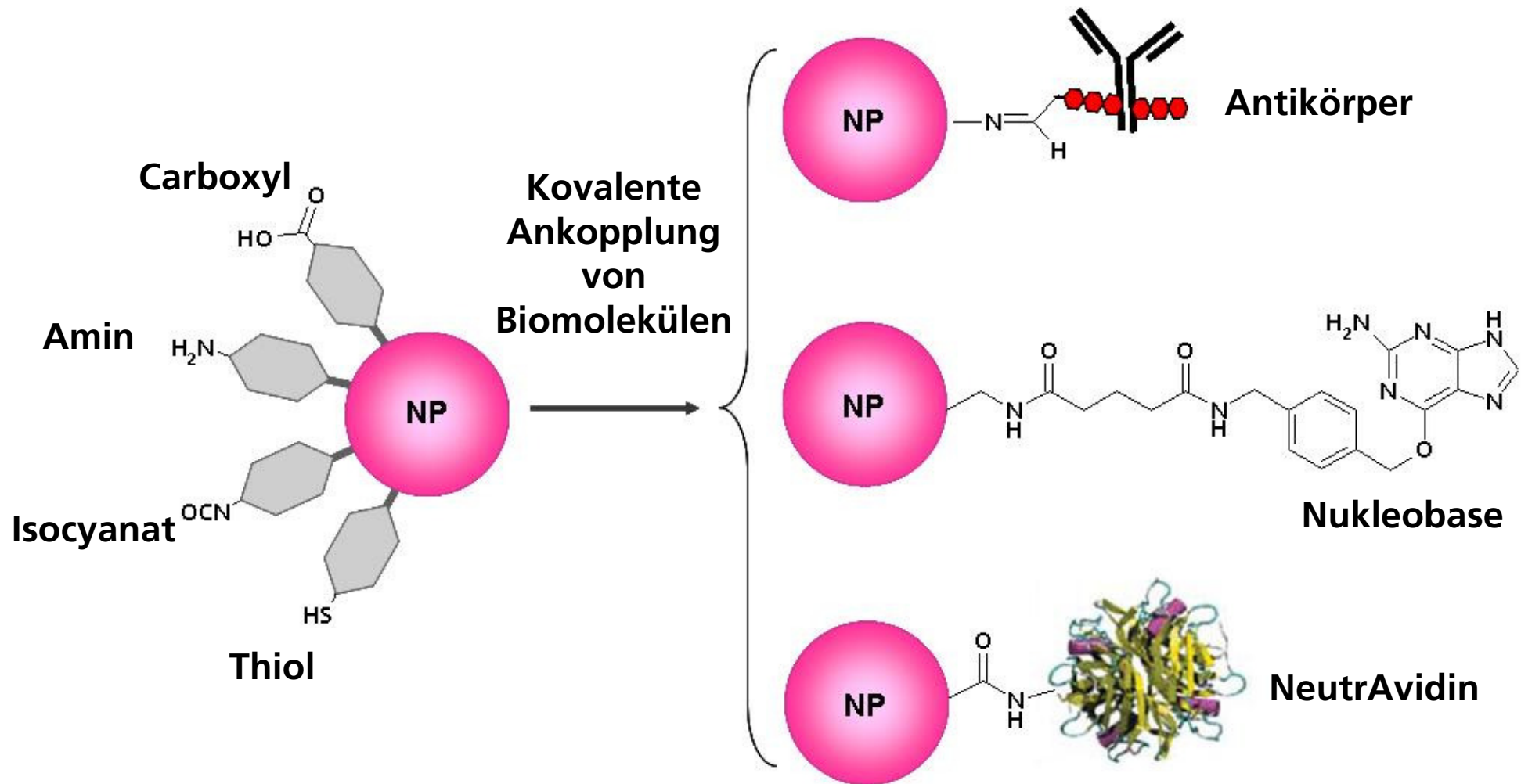


- Abstimmung auf die Umgebung
- Kovalente Ankopplung von weiteren Substanzen (z. B. Biomoleküle, Matrixbausteine, Beschichtungssysteme)



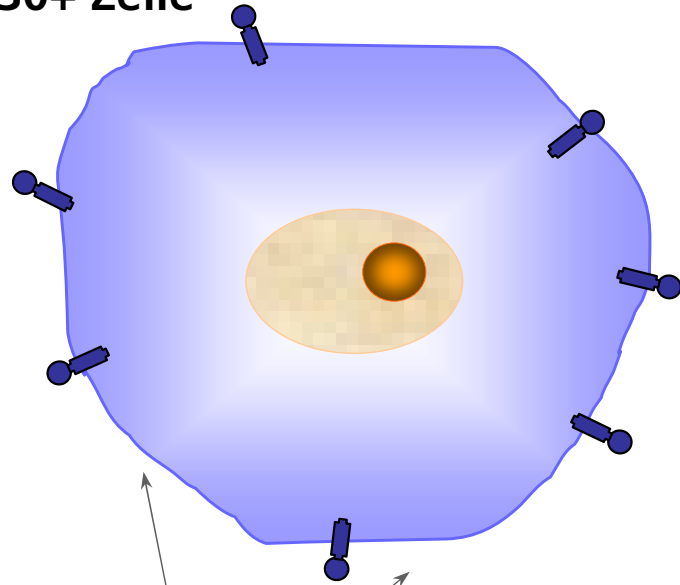
# Biofunktionalisierung von Nanopartikeln

Gerichtete Kopplung von Biomolekülen wie z. B. Antikörper, Nucleobasen oder NeutrAvidin an die Partikeloberfläche



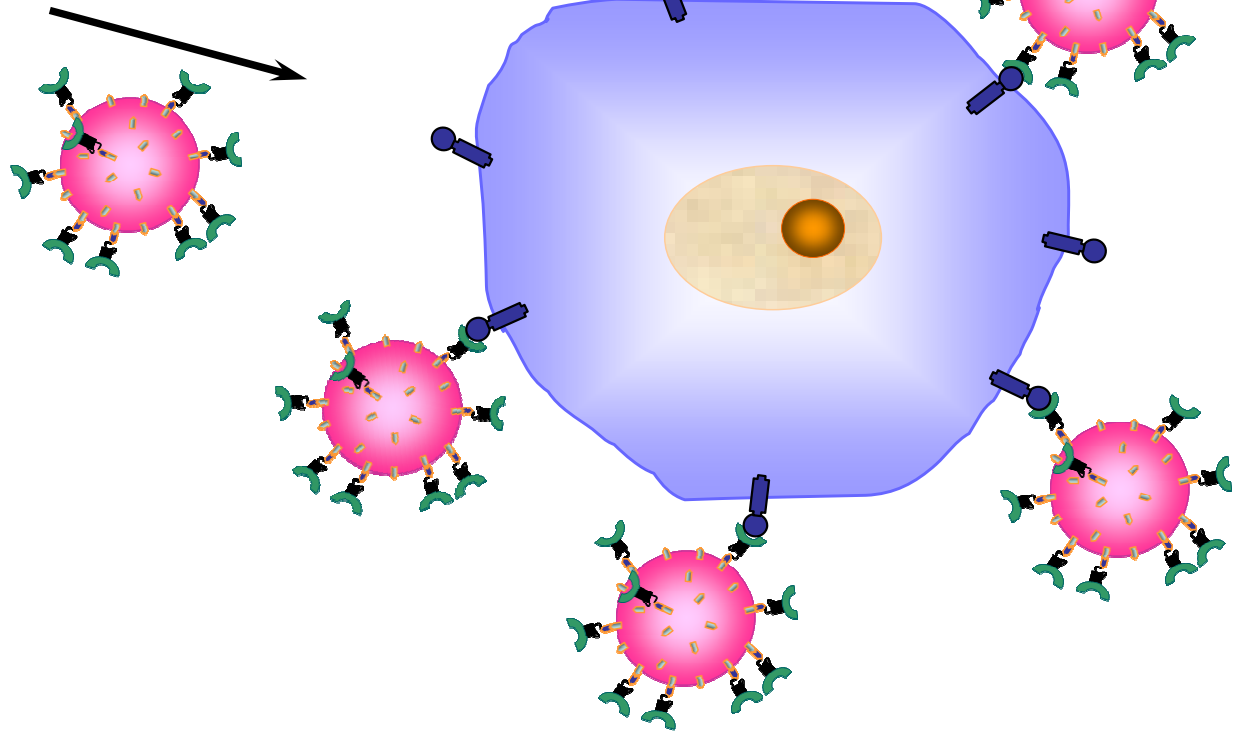
# Nanopartikel-basierte Immunodetektion von Tumormarkern

CD30+ Zelle



CD30 Protein integriert in die Zellmembran: Tumormarker für Morbus Hodgkin

Lumineszierende SiO<sub>2</sub>-Nanopartikel modifiziert mit Antikörpern gegen CD30 Rezeptor

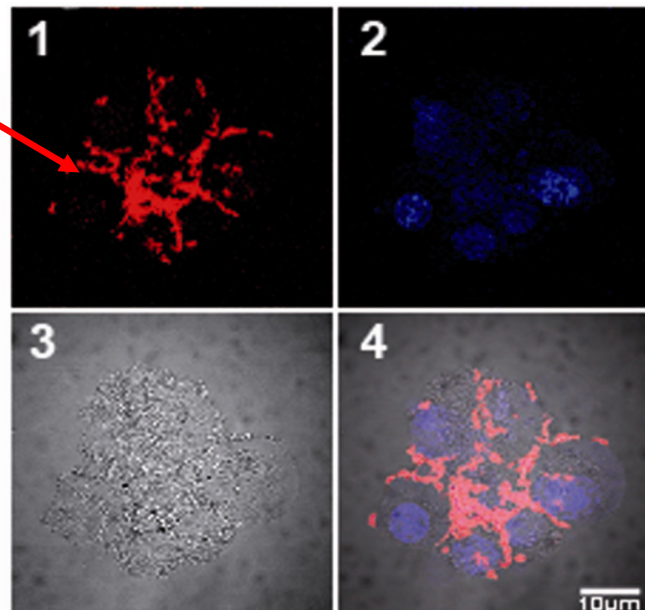


# Beispiel aus der aktuellen Forschung im Labor

## Konfokale Fluoreszenzmikroskopie von L540-Zellen mit Hilfe von Antikörper-modifizierten lumineszierenden SiO<sub>2</sub>-Nanopartikeln

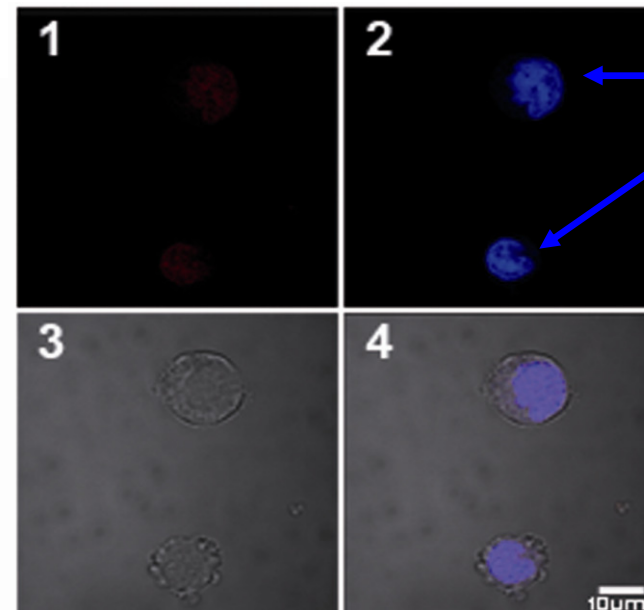
Antikörper-modifizierte lumineszierende SiO<sub>2</sub>-NP an der Zellmembran

CD30+ Zellen L540



Lichtmikroskopie Überlagerung

CD30- Zellen U937



Zellkerne markiert mit organischem Farbstoff Drag5

Lichtmikroskopie Überlagerung

**Nanopartikel-Antikörper-Konjugate zeigen eine spezifische Bindung zu CD30+ L540-Zellen**

Kampmeier et al. *Bioconjugate Chem.* 20, 2009, 1010

# Diagnostik mittels mikrofluidischem Chip

Integrierte mikrofluidische Diagnosesysteme – IMIKRID

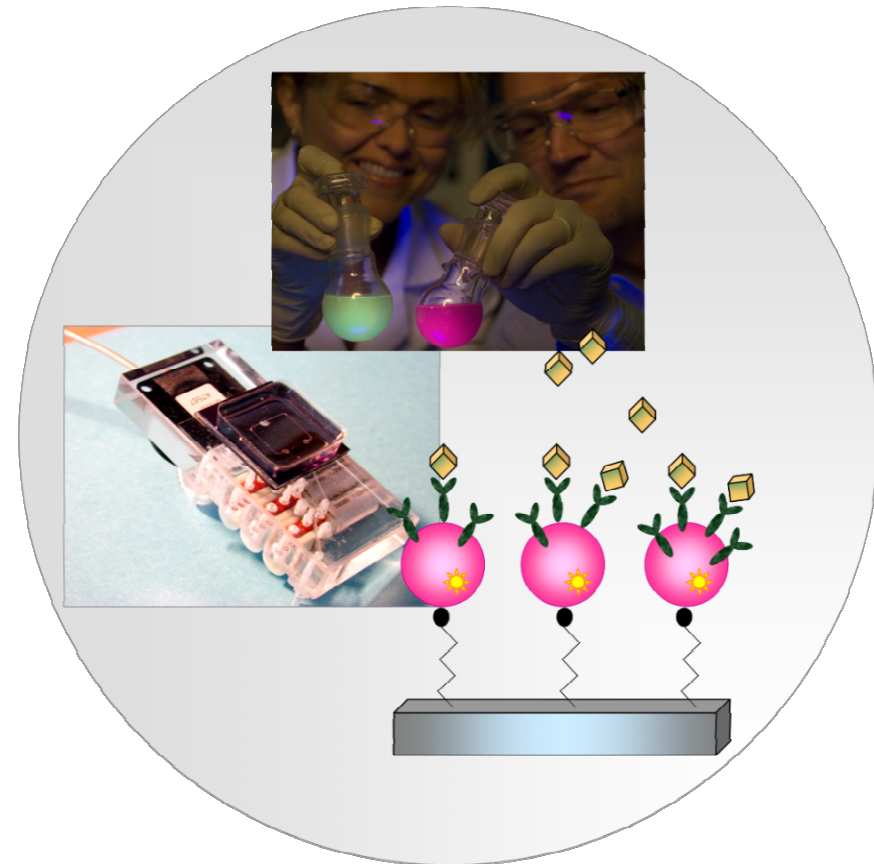
BMBF-Förderprogramm „Integrierte Mikrosysteme für biotechnologische Anwendungen“



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

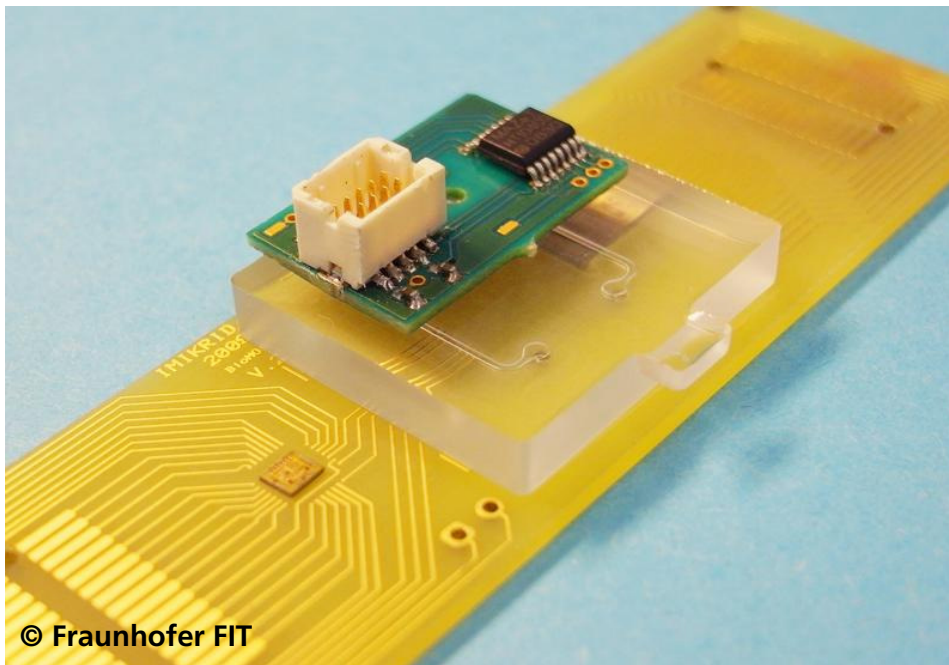
Projektpartner:

- FhG FIT, Sankt Augustin
- FhG IME, Aachen
- FhG IMS, Duisburg
- FhG ILT, Aachen
- FhG ISC, Würzburg



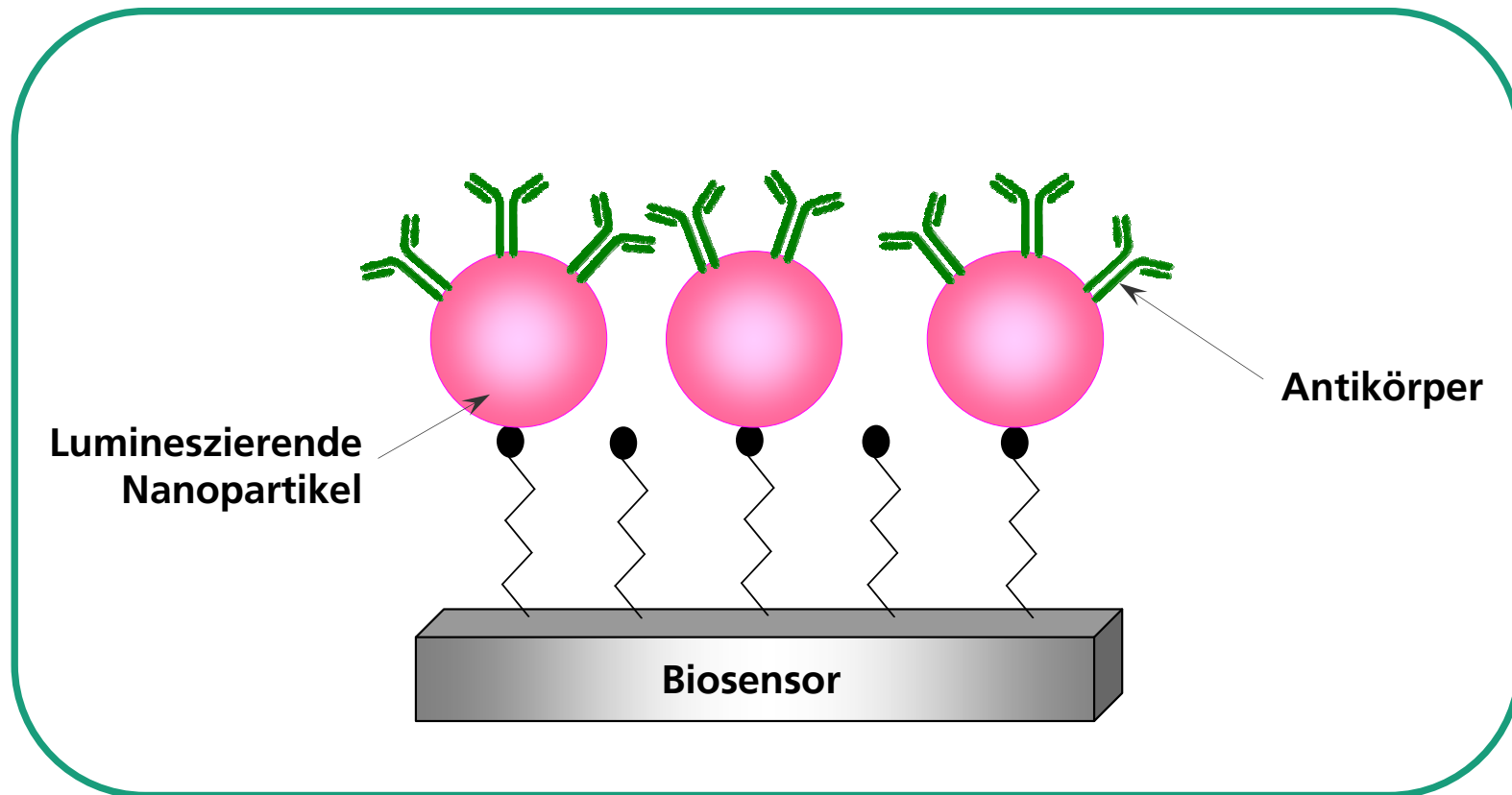
# Diagnostik mittels mikrofluidischem Chip

- Ziele:
- Schnellere Analyse
  - Höhere Nachweisempfindlichkeit
  - Portables Messsystem zur kontinuierlichen Überwachung (Point-of-Care Diagnostik)
  - Multisensorsystem: simultane Überwachung mehrerer relevanter Parameter



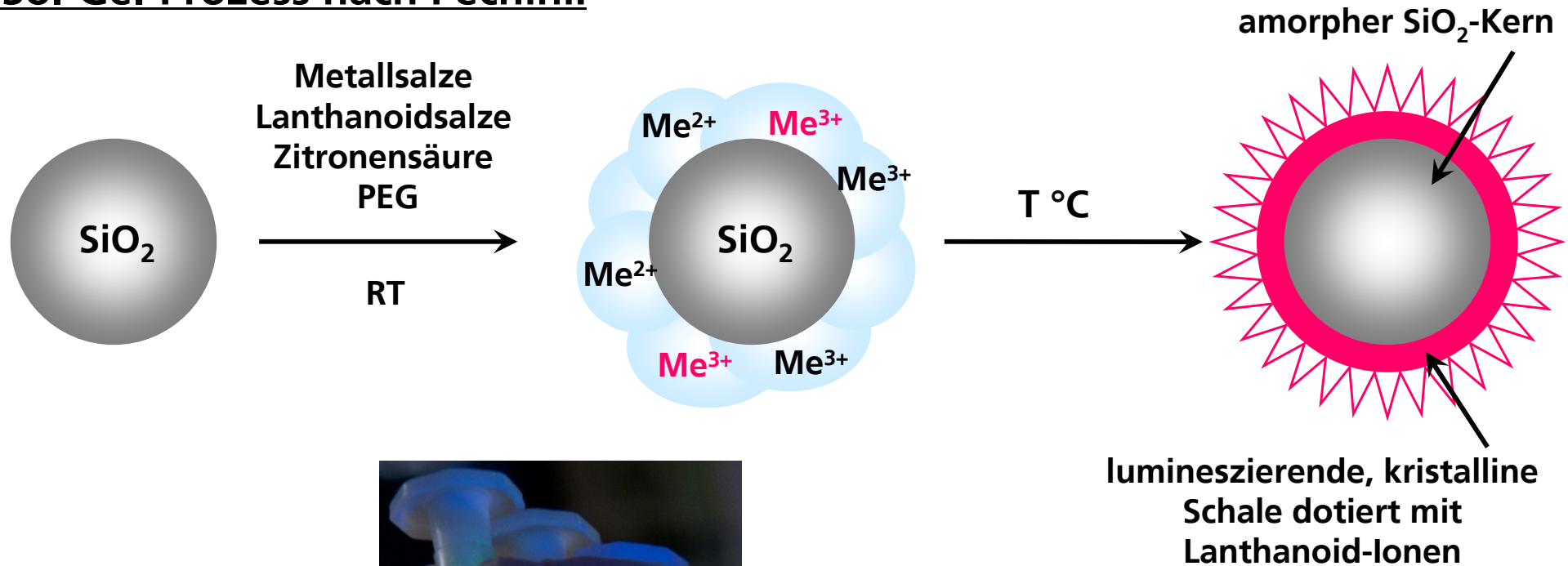
Prototyp Mikrofluidik-Chip

# Prinzip des integrierten, mikrofluidischen In-vitro-Diagnostikmoduls



# Anorganische lumineszierende Partikel

## Sol-Gel-Prozess nach Pechini:



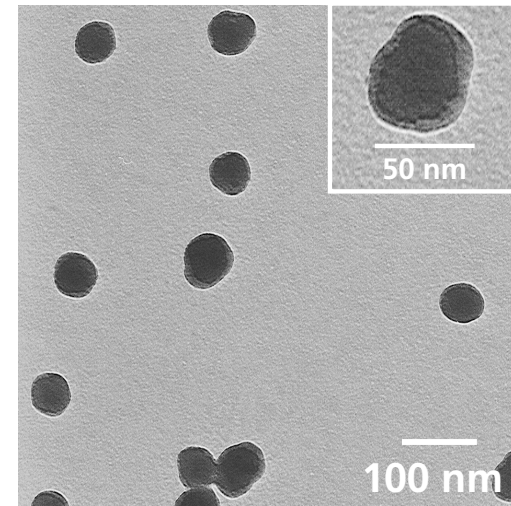
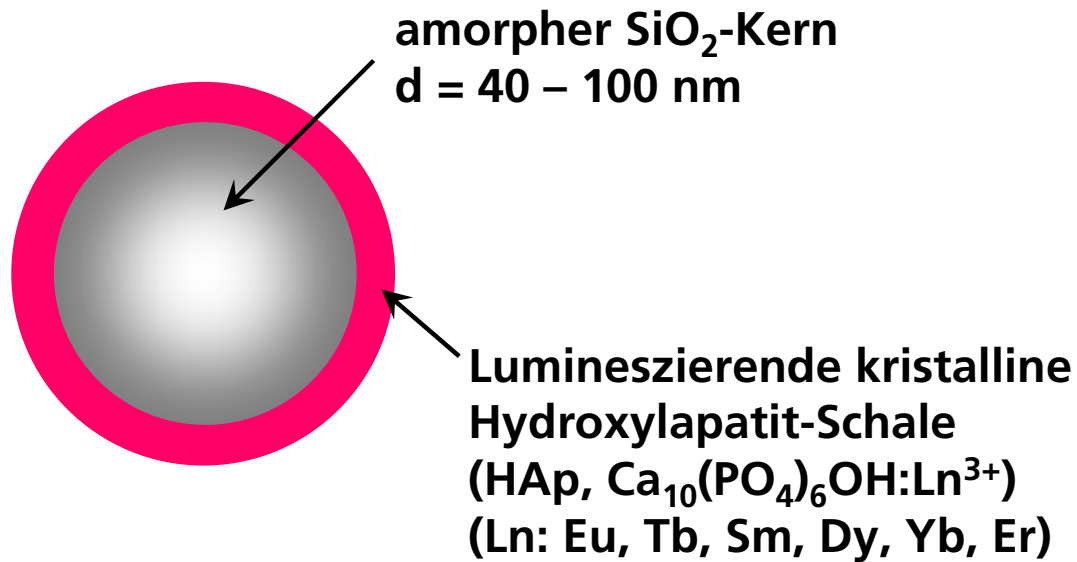
Lumineszierende  
anorganische NP  
auf Basis von Silicaten  
und Phosphaten unter  
Beleuchtung mit einer  
UV-Lampe  
( $\lambda_{\text{Anr}} = 254 \text{ nm}$ )



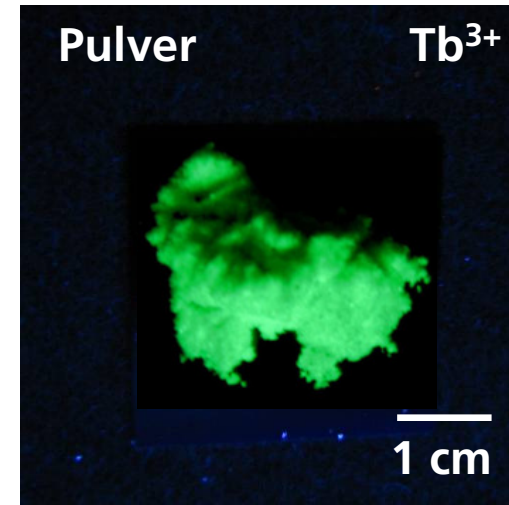
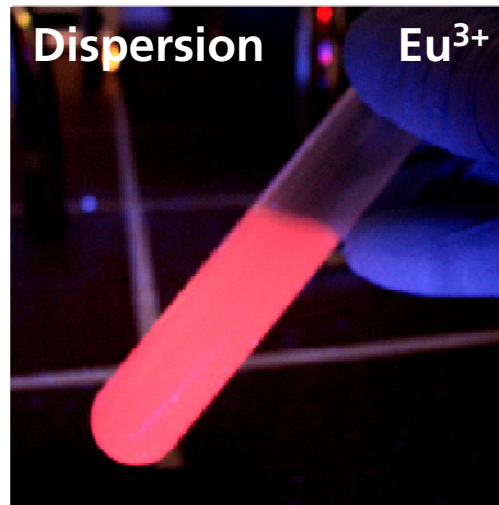
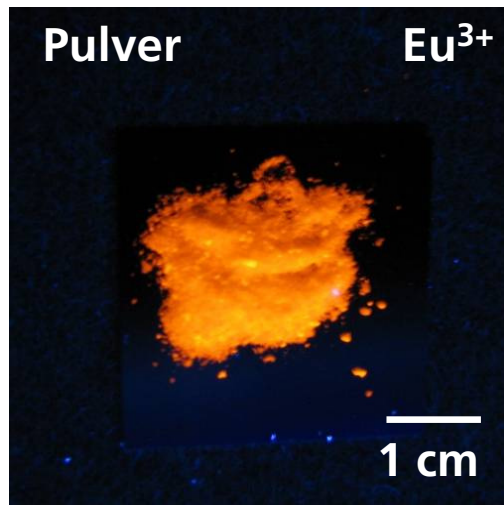
## Beschichtungsmaterialien:

- Hydroxylapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}:\text{Ln}^{3+}$   
(Ln: Eu, Tb, Sm, Dy, Yb, Er)
- $\text{ZnO}:\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}_2\text{SiO}_4:\text{Mn}^{2+}$
- $\text{CaF}_2:\text{Eu}^{3+}$

# ORMOBEAD® vivo



TEM-Aufnahme von  
SiO<sub>2</sub>/HAp:Eu<sup>3+</sup>-Kern/Schale-NP

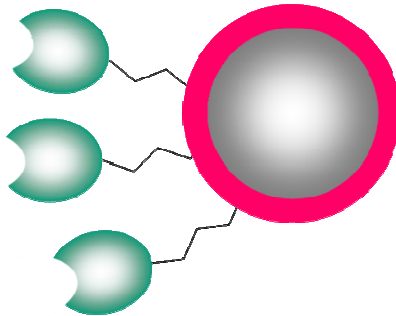


SiO<sub>2</sub>/HAp:Ln<sup>3+</sup>-Kern/Schale-NP unter Beleuchtung mit einer UV-Lampe ( $\lambda_{Anr} = 254$  nm)

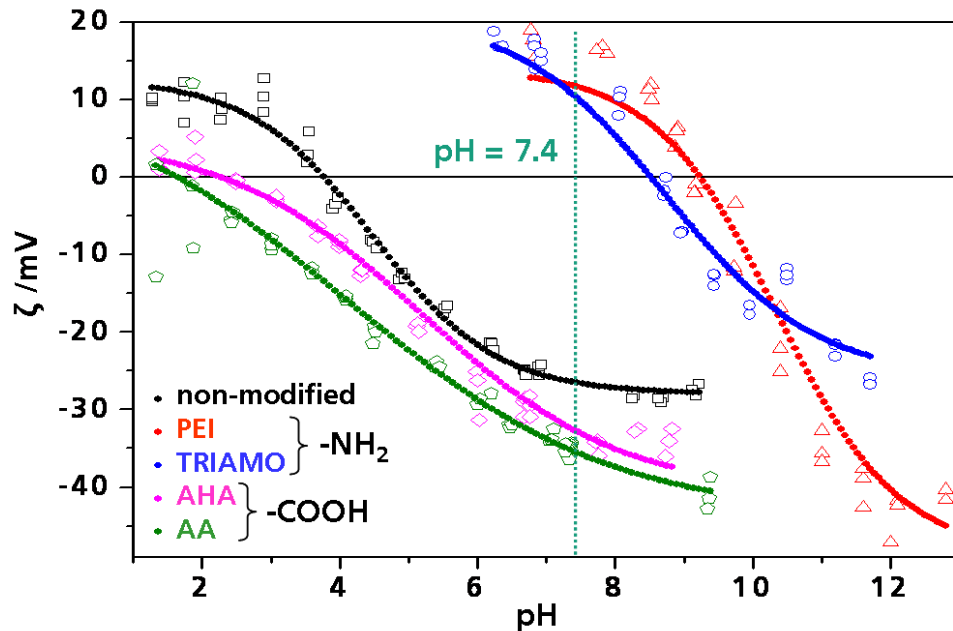


## Oberflächenmodifizierung der SiO<sub>2</sub>/HAp:Ln<sup>3+</sup>-Kern/Schale NP

Reaktive Funktionen:  
 - Aminogruppe  
 - Carboxygruppe



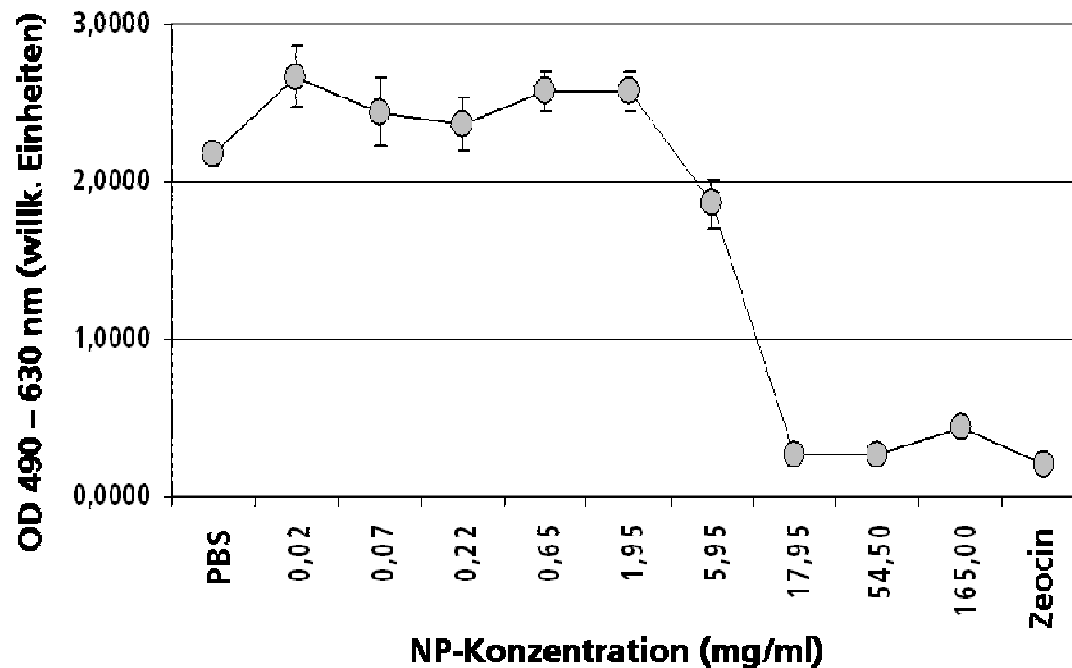
Verbindung	Chemische Formel	Funktionalität
Polyethylenimin (PEI)		Amin
N-[3-(Trimethoxysilyl)-propyl] diethylentriamin (TRIAMO)		Amin
6-Aminohexansäure (AHA)		Carboxy
Adipinsäure (AA)		Carboxy



pH-abhängige Zeta-Potentialmessungen von SiO<sub>2</sub>/HAp:Tb<sup>3+</sup>-Kern/Schale-NP mit unterschiedlicher Oberflächenmodifizierung

# ORMOBEAD® vivo

- Eluationstest nach DIN EN ISO 10993-5: Eluate (0,2 g/ml) zeigen ab der 50% Verdünnung keine negativen Effekte auf die Zellen.
- Zell basierter In-vitro Assay mit unterschiedlichen Zelltypen: HEK 293T, Momomac1, U937, L929



Viabilitätsassay von  $\text{SiO}_2/\text{CP}:\text{Eu}^{3+}$   
Kern/Schale-NP nach 72 h  
Inkubationszeit (XTT Proliferationstest)  
Zellkultur L929 (Mausfibroblasten)

Negativkontrolle: Zellkultur-Medium  
Positivkontrolle: Zeocin

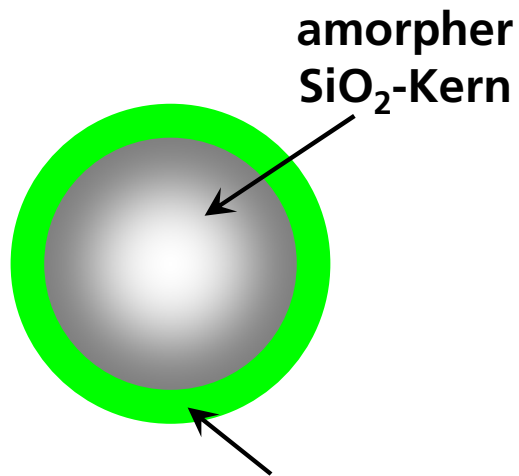


**EC<sub>50</sub>-Wert für  $\text{SiO}_2/\text{CP}:\text{Eu}^{3+}$ -NP: 6.58 µg/ml,  
200 mal höher als EC<sub>50</sub>-Wert von Q-Dots\***

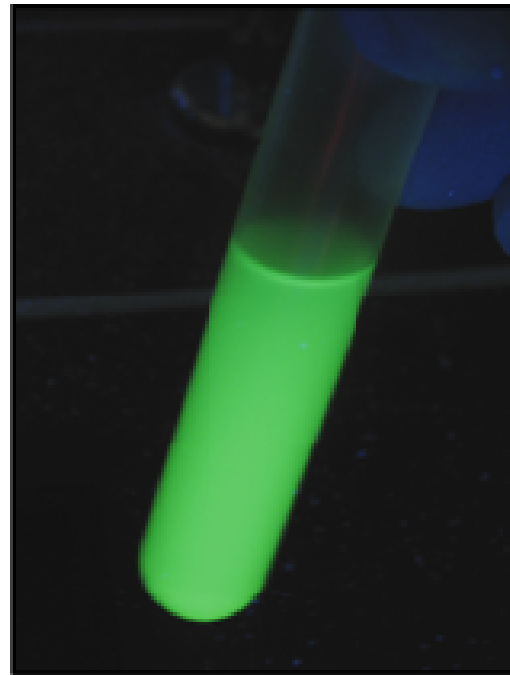
\*S. T. Stern et al. *Toxicol. Sci.* 106, 2008,140

# Photostimulierbare (PSL) Nanopartikel

Kern/Schale-Nanopartikel  
auf Basis von  $Mn^{2+}$  -  
dotiertem Zinksilicat  
( $Zn_2SiO_4:Mn^{2+}$ )

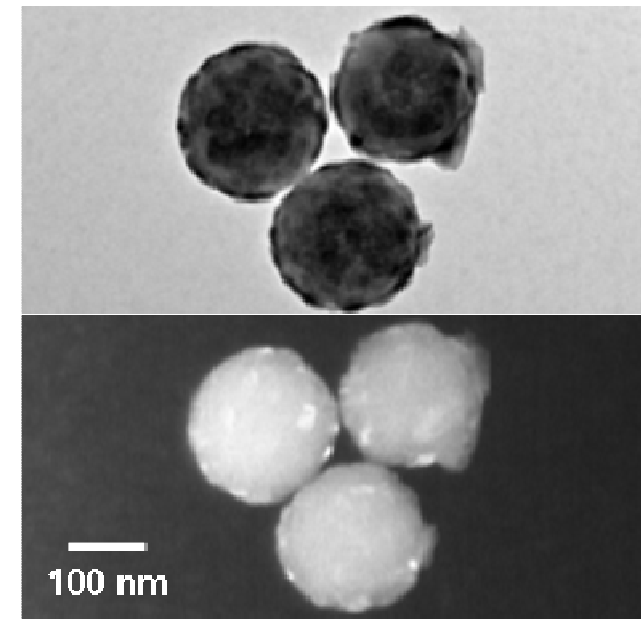


Lumineszierende  
kristalline  
 $Zn_2SiO_4:Mn^{2+}$ -Schale



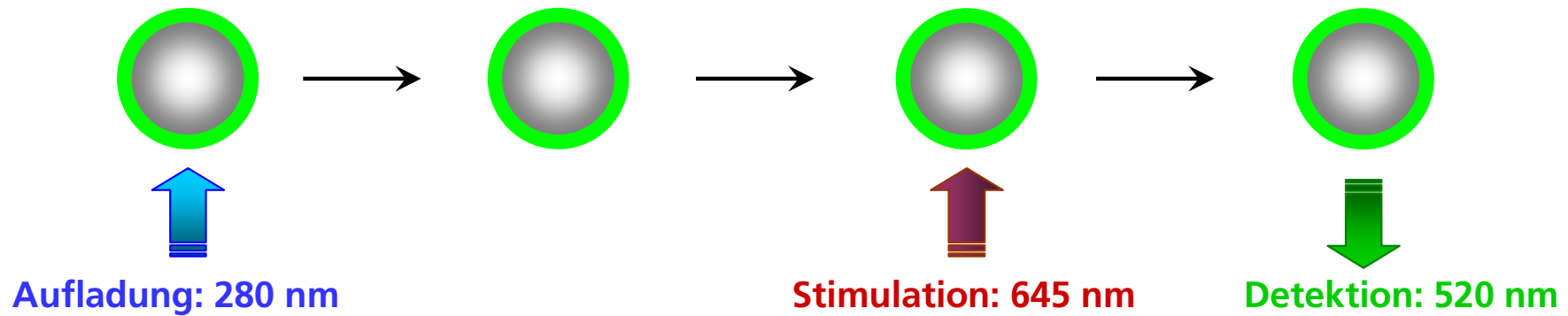
$SiO_2/Zn_2SiO_4:Mn^{2+}$   
Kern/Schale-NP-Suspension  
unter Beleuchtung mit einer  
UV-Lampe ( $\lambda_{Anr} = 254 \text{ nm}$ )

TEM- und Dunkelfeld-  
Aufnahmen von  
 $SiO_2/Zn_2SiO_4:Mn^{2+}$ -  
Kern/Schale-NP

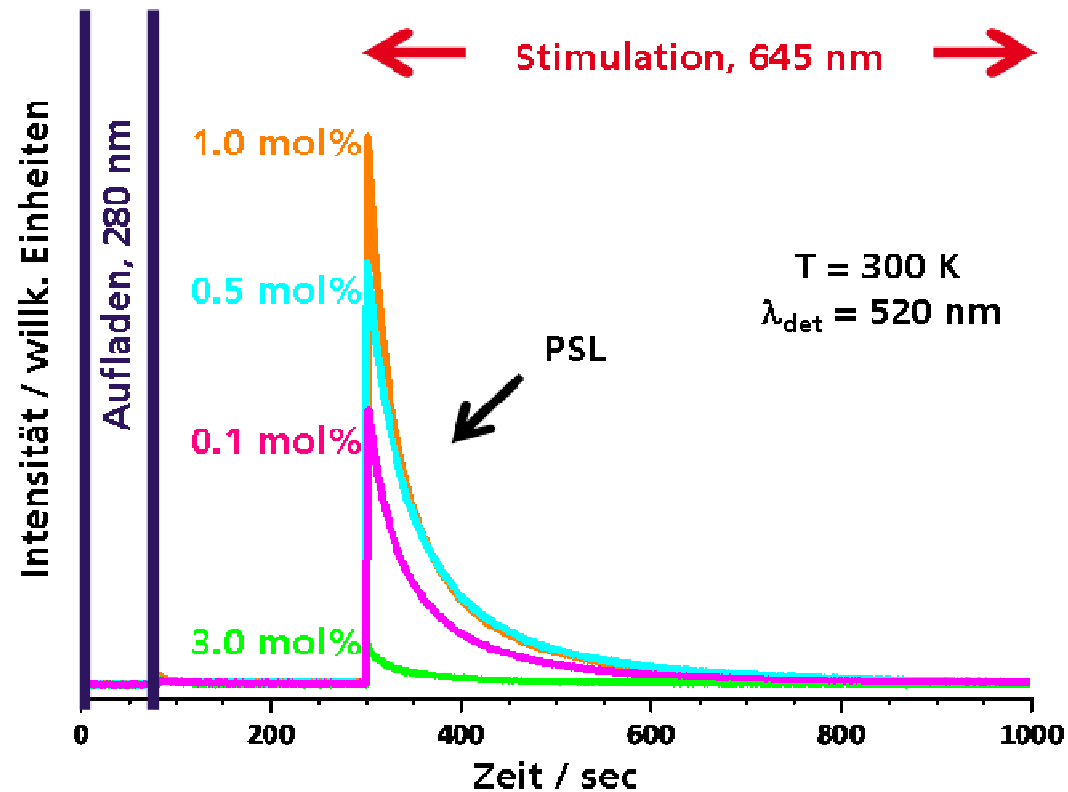


Dembski et al. *J. Colloid Interface Sci.* 358, 2011 32

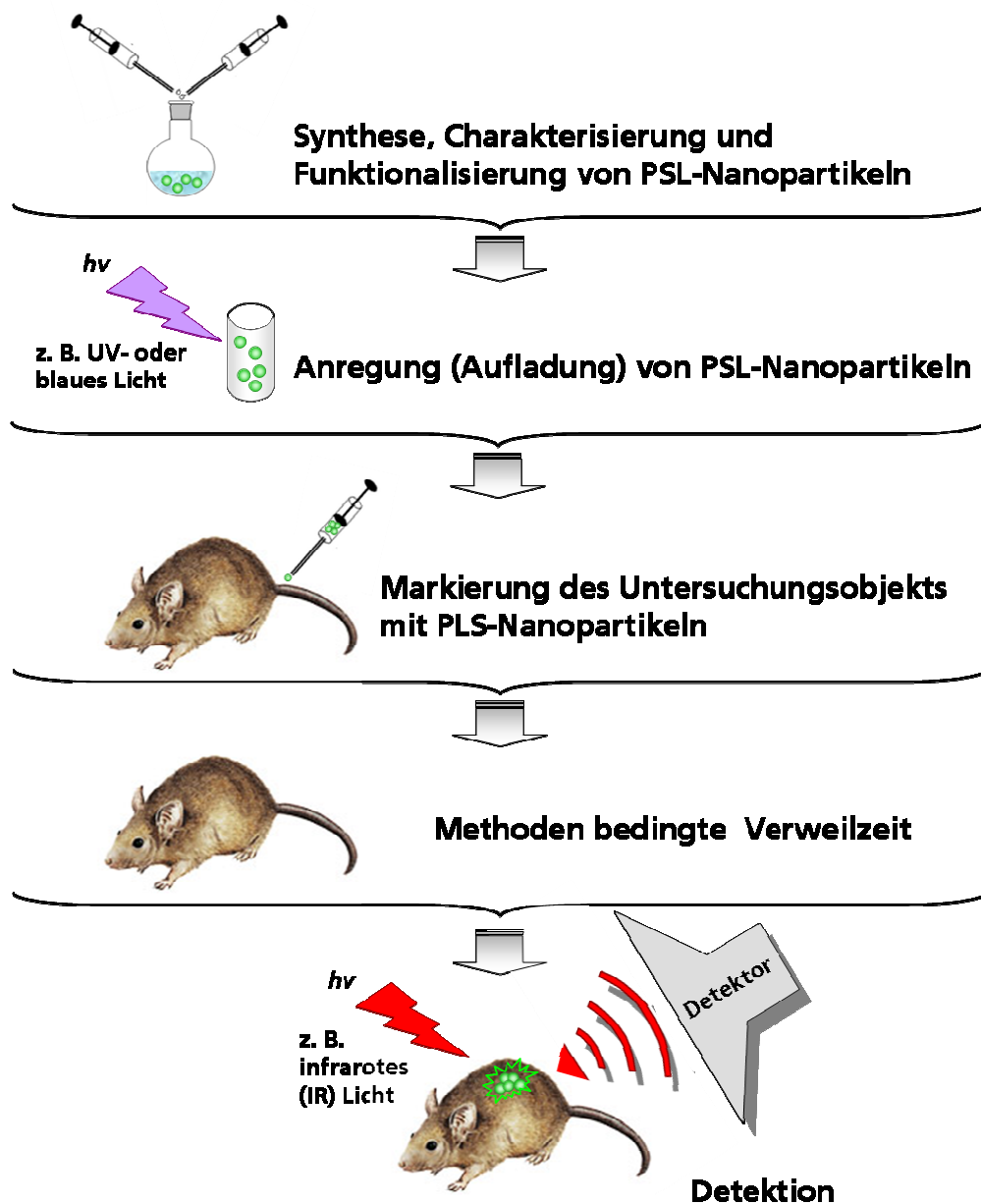
# Photostimulierbare (PSL) Nanopartikel



Photostimulierbare  
Lumineszenz von  
 $\text{SiO}_2/\text{Zn}_2\text{SiO}_4:\text{Mn}^{2+}$   
Kern/Schale-NP



# Anwendungspotenzial von PSL-Partikeln

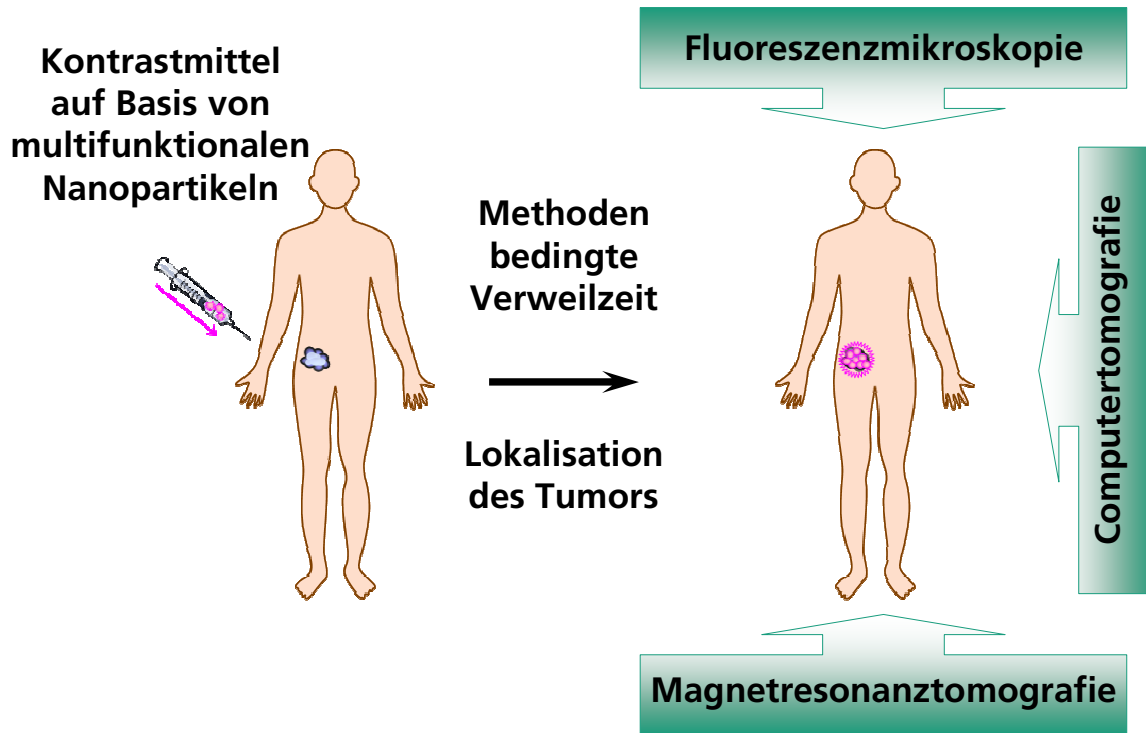


Zeitliche Verschiebung  
zwischen Anregung  
(Aufladen) der  
Markerpartikel und  
Detektion von  
markierten Objekten



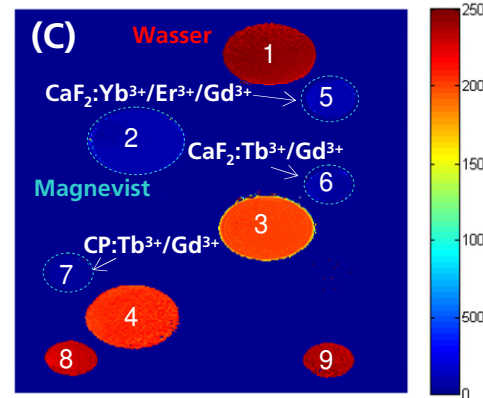
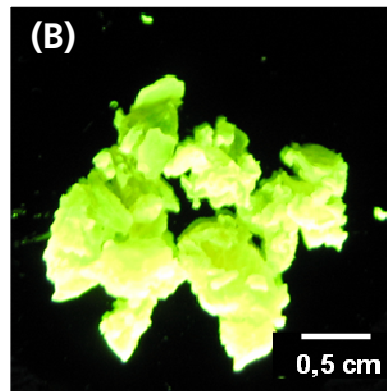
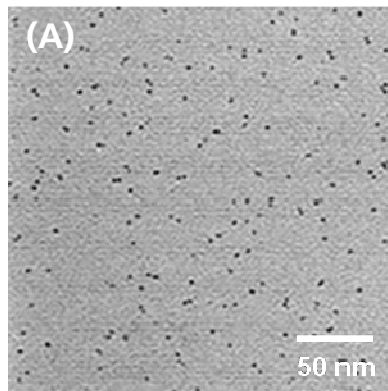
Untergrundfreie  
Detektion

# Multifunktionale Nanopartikel für die multimodale Bildgebung



## Anwendungspotential:

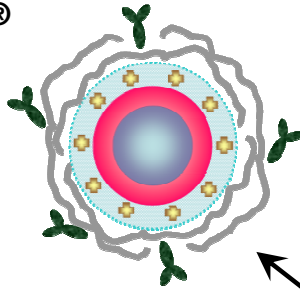
- Kombination der Information aus der anatomischen und molekularen Bildgebung
- Steigerung der diagnostischen Sicherheit
- Personalisierte Therapie



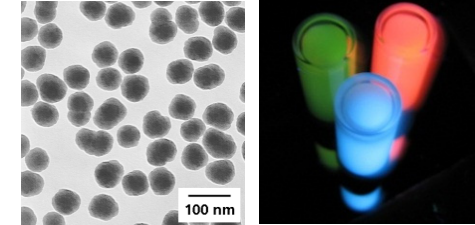
- (A) TEM-Aufnahme von Calciumphosphat:Tb<sup>3+</sup>/Gd<sup>3+</sup>-NP
- (B) Calciumphosphat:Tb<sup>3+</sup>/Gd<sup>3+</sup>-NP Pulver unter Beleuchtung mit einer UV-Lampe ( $\lambda_{Anr} = 254 \text{ nm}$ )
- (C) Messung der T<sub>1</sub>-Zeit in einem Bereich von 0 bis 2500 ms

# Zusammenfassung

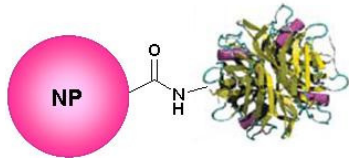
## ■ ORMORBead® Konzept



## ■ SiO<sub>2</sub> basierte lumineszierende NP

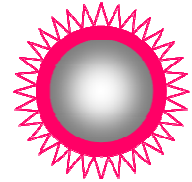


## ■ Oberflächenmodifizierung und Biofunktionalisierung

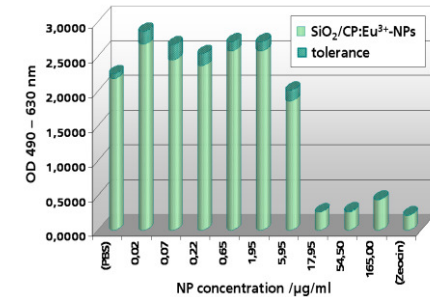


## Multifunktionale Nanopartikel

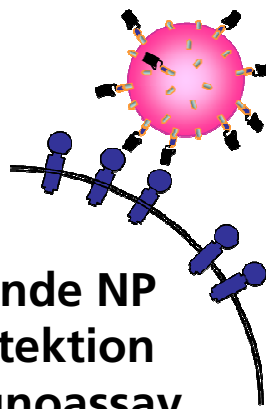
## ■ Anorganische lumineszierende Kern/Schale NP



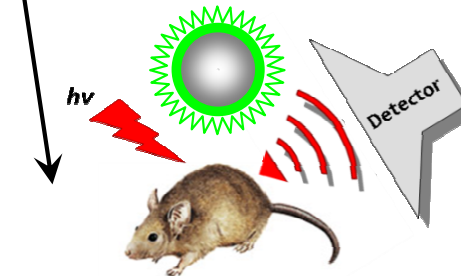
## ■ Toxikologische Tests



## ■ Lumineszierende NP zur Tumordetektion mittels Immunoassay



## ■ Photostimulierbare und multifunktionale NP für die Tumordiagnostik



## Danksagung:

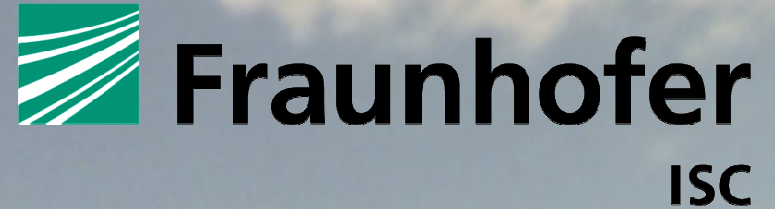
- M. Milde, M. Straßer, J. Prieschl, C. Käppel, S. Rupp, E. Dassonneville, C. Gellermann, J. Probst (Fraunhofer ISC, Würzburg)
- T. Klockenbring, F. Kampmeier, G. Breuer, S. Barth (Fraunhofer IME, Aachen)
- H. Mathis, B. Greiner (Fraunhofer FIT, Sankt Augustin)
- M. Dyrba, S. Schweizer (Fraunhofer CSP, Halle (Saale))
- M. Batentschuk, A. Osvet, A. Winnacker (Department Werkstoffwissenschaften LS 6 Werkstoffe der Elektronik und Energietechnik, Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg)

## Förderung:

- BMBF-Förderprogramm „Integrierte Mikrosysteme für biotechnologische Anwendungen Mikrosysteme (Fkz. W3BIO057)
- Interne FhG Förderprogramme
- DFG (Fkz. GE 2118/3-1 und BA 2245/3-1)



**Vielen Dank für Ihre  
Aufmerksamkeit!**



**Dr. Sofia Dembski**

**Neunerplatz 2  
97082 Würzburg**

**Telefon 0931 4100-516  
sofia.dembski@isc.fraunhofer.de**

**ZAHA HADID ARCHITECTS**

**[www.isc.fraunhofer.de](http://www.isc.fraunhofer.de)**