

# MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU - PHÁT TRIỂN VẬT LIỆU NANO TRONG Y SINH

**GS.TS LÊ QUỐC MINH**

Viện Khoa học Vật liệu  
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Bài báo trình bày một số kết quả nghiên cứu - phát triển các loại vật liệu nano trong y sinh học 5 năm qua. Trước hết là các kết quả nổi bật trong phát triển công cụ chẩn đoán hình ảnh cộng hưởng từ y tế, vật liệu cho kỹ nghệ đốt từ điều trị ung thư, làm chất đánh dấu huỳnh quang các sản phẩm nông nghiệp và vận chuyển thuốc hướng đích. Tiếp theo là đánh giá tình hình nghiên cứu chế tạo các vật liệu và cấu trúc nano phát quang chứa đất hiếm, nhằm triển khai quy trình chế tạo cảm biến kết hợp cấu trúc tinh thể quang tử, plasmon và công cụ đánh dấu cho phương pháp phân tích huỳnh quang miễn dịch phát hiện nhận dạng vi rút và sản phẩm vắc xin. Dựa trên công cụ đánh dấu y sinh này có thể chế tạo các phương tiện nhận dạng phát hiện sớm nguyên nhân gây bệnh truyền nhiễm và ung thư. Bài viết cũng trình bày một số đề xuất về đẩy mạnh ứng dụng vật liệu và cấu trúc nano tích hợp trong y sinh và các chính sách cần thiết của Nhà nước trong quá trình nghiên cứu khoa học và chuyển giao công nghệ sản xuất các sản phẩm công nghệ cao ở Việt Nam.

**Từ khóa:** vật liệu nano phát quang, đất hiếm, đánh dấu y sinh, huỳnh quang miễn dịch, vi rút, vắc xin, ung thư.

## SEVERAL RESULTS IN RESEARCH AND DEVELOPMENT OF NANOMATERIALS FOR BIOMEDICAL APPLICATION

### Summary

Several results in research and development of nanomaterials for biomedical applications in the recent 5 years will be presented briefly in this paper. There are the significant achievements in the development of contrasted agent for magnetic resonance imaging diagnosis, materials for thermagnetic treatment of tumor cell, for fluorescent labeling agricultural products and targeted drug delivery. There is also the evaluation of the research on fabrication and characterization of rare earth containing nanomaterials and structures, which is basic platform to develop many conjugates linked with appropriate protein for labeling virus or vaccine in industrial production line. It is consistent to state that the fabricated bioconjugates could be used as the labeling tool for recognizing virus in diagnosis or in vaccine production by using fluorescence immunoassay method. Based on these biomedical labeling conjugates, it will be able to develop an imaging tool for recognition of virus, vaccine and biomolecules, which can enable early detection of infective and tumor diseases. On the other hand, it suggests new application potential from integrated nanomaterials and structures in biomedicine and government's necessary policies for scientific research and technology transfer of high tech products and procedures into economic system of Vietnam.

**Key words:** nanoluminophor, rare earth, biomedical labeling, fluorescent immuno assay, virus, vaccine and tumor.

### Mở đầu

Công nghệ nano đã tạo ra những biến đổi đột phá quy mô toàn cầu trong các ngành công nghiệp điện tử, quang học, truyền thông và gần đây là y sinh học, môi trường. Có thể nói, các vật liệu nano, cấu trúc nano hay hệ thống liên kết nano đã hiện hữu trong nhiều sản phẩm công nghệ cao, từ siêu máy tính, máy tính bảng, máy ảnh số và các điện thoại thông minh đa năng, máy bay không người lái đến các sản phẩm dân dụng như thực phẩm chức năng, thuốc hướng đích và công nghệ đánh dấu, chẩn đoán hình ảnh và trị bệnh trong y tế [1]. Đến nay, trên thế giới đã thực sự hình thành ngành công nghiệp nano với

giá trị nhiều tỷ đô la/năm. Trong đó, sản xuất và kinh doanh vật liệu kích thước và cấu trúc nano chiếm khoảng 35% giá trị.

Việt Nam vừa thoát khỏi nhóm các nước thu nhập thấp, đang trở thành thị trường tiêu thụ lớn các sản phẩm công nghệ nano. Mặc dù vậy, theo đề xuất có ý nghĩa lịch sử của Viện sỹ Nguyễn Văn Hiệu tại Hội nghị Đồ Sơn năm 1997, các nhà khoa học Việt Nam đã khởi động các nghiên cứu khoa học công nghệ nano khá sớm so với các nước trong khu vực. Sau hơn 10 năm nghiên cứu khảo sát, chúng ta đã xác định cần tập trung phát triển các loại vật liệu nano nhằm ứng dụng trong y sinh học và nông nghiệp. Sự chuyển hướng này đã được ghi nhận vào năm 2009 khi Bộ Khoa học và Công nghệ phê duyệt một số đề tài độc lập cấp nhà nước nghiên cứu cơ bản định hướng ứng dụng về lĩnh vực công nghệ nano trong y sinh và nông nghiệp.

### **Tình hình nghiên cứu - phát triển vật liệu nano trong y sinh**

Đến nay trong cả nước, những kết quả ban đầu đáng ghi nhận sau 5 năm triển khai hoạt động nghiên cứu - phát triển trong lĩnh vực này có thể kể đến là: những nghiên cứu về vật liệu nano siêu thuận từ để chụp ảnh chẩn đoán y tế (MRI) của tập thể các nhà khoa học: GS Nguyễn Công Hòa, PGS Trần Hoàng Hải và GS Lê Quốc Minh; vật liệu nano siêu thuận từ phục vụ liệu pháp đốt từ chữa trị ung thư của GS Nguyễn Xuân Phúc; vật liệu bán dẫn nano tinh thể làm chất đánh dấu huỳnh quang các sản phẩm nông nghiệp do GS Nguyễn Quang Liêm chủ trì. Bên cạnh đó, các công trình nghiên cứu vật liệu nano hữu cơ dendron làm chất mang thuốc của PGS Nguyễn Cửu Khoa, về sử dụng vật liệu copolyme làm chất mang thuốc hướng đích của PGS Phạm Hữu Lý cũng đã đạt được những kết quả rất đáng khích lệ. Kết quả có triển vọng về nghiên cứu cấu trúc tích hợp giữa tinh thể quang tử và plasmon của nano vàng để phát triển cảm biến (công trình hợp tác giữa GS Chia Chen Hsu và GS Lê Quốc Minh) đã tạo tiền đề chế tạo các cảm biến quang tử y sinh siêu nhạy.

Đáng chú ý là thành công bước đầu của hai cơ sở nghiên cứu khoa học và sản xuất công nghiệp trình độ quốc tế: Viện Khoa học Vật liệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và Trung tâm Nghiên cứu Sản xuất Vắc xin và Sinh phẩm Y tế Polyvac - Bộ Y tế. Hai bên đã hợp tác triển khai các nghiên cứu về vật liệu nano phát quang chứa

đất hiếm làm công cụ đánh dấu huỳnh quang miễn dịch các vi rút gây bệnh truyền nhiễm và sản phẩm vắc xin do GS Lê Quốc Minh, PGS Trần Kim Anh và PGS Nguyễn Đăng Hiền đồng chủ trì.

Hiện tại, sau nhiều năm triển khai hướng ứng dụng vật liệu nano trong y sinh và nông nghiệp có thể thấy loại vật liệu kích thước và cấu trúc nano phát quang (nanoluminophor) ngày càng thể hiện ưu thế phát triển các kỹ nghệ chẩn đoán và điều trị có tính đột phá [2, 3, 4]. Chính vì vậy, phương pháp đánh dấu huỳnh quang được Hiệp hội thuốc liên bang Hoa Kỳ FDA khuyến cáo là một trong những phương pháp cơ bản tham gia chẩn đoán sớm các loại ung thư. Vài năm gần đây, phương pháp đánh dấu huỳnh quang bắt đầu được ứng dụng tại các cơ sở y tế lớn có Phòng Bệnh học phân tử, như các bệnh viện: K, Đại học Y Hà Nội và Ung bướu thành phố Hồ Chí Minh. Đến nay, hoạt động của các Phòng này đã góp phần quan trọng triển khai quy trình điều trị ung thư trúng đích (targeted therapy) các bệnh ung thư vú, dạ dày, phổi, trực tràng và hạch bạch huyết...

Dưới đây, chúng tôi phân tích, đánh giá tình hình và triển vọng của hướng nghiên cứu chế tạo và ứng dụng các vật liệu nano phát quang trong y sinh học ở nước ta.

### **Một số kết quả ban đầu nghiên cứu - phát triển vật liệu nano phát quang chứa đất hiếm trong y sinh**

Hiện nay có ba loại vật liệu nano phát quang được tập trung nghiên cứu là chất màu hữu cơ nano hóa, các chấm lượng tử bán dẫn và vật liệu nano phát quang chứa đất hiếm. Các chất màu hữu cơ nano hóa có cường độ huỳnh quang mạnh, dễ phân tán trong nhiều môi trường, nhất là môi trường sinh lý. Nhược điểm cố hữu của chất màu hữu cơ phát quang là không bền và tính chất phát quang phụ thuộc mạnh vào môi trường. Sự xuất hiện các chấm lượng tử bán dẫn đã mở ra hướng nghiên cứu rất có triển vọng, có thể ứng dụng trong nhiều ngành kinh tế - kỹ thuật khác nhau. Tuy nhiên do tính độc hại của vật liệu gốc với cơ thể người nên hạn chế khả năng sử dụng chấm lượng tử bán dẫn trong các lĩnh vực liên quan trực tiếp đến sức khỏe con người.

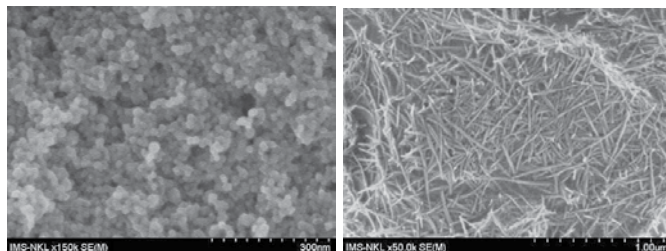
Gần đây, các phương pháp tổng hợp hóa học nano đã tạo ra các vật liệu nano phát quang chứa đất hiếm với hiệu suất phát quang cao [4]. Hiện tại các ứng dụng của công nghệ nano trong y sinh học rất đa dạng và hiệu quả. Để nhận dạng các đối tượng y sinh dạng mềm, không kết tinh, kích thước

dưới micromet đến vài nanomet, phương pháp đánh dấu huỳnh quang sử dụng kính hiển vi quang học phân giải cao ngày càng được quan tâm do chúng có độ phân giải thích hợp, độ nhạy cao, khá ổn định và rất đặc hiệu [3]. Chính vì vậy các nghiên cứu chế tạo công cụ đánh dấu huỳnh quang gắn kết với phân tử sinh học đặc hiệu như enzym, kháng thể... trở thành hướng nghiên cứu rất sôi động hiện nay [5]. Các nghiên cứu tập trung vào việc ứng dụng vật liệu nano phát quang nhằm chế tạo các công cụ đánh dấu nhận dạng phát hiện vi rút lây nhiễm, hoặc chẩn đoán sớm để triển khai quy trình điều trị trúng đích, thay thế dần quy trình điều trị bao vây các bệnh ung thư [6, 7].

**Kết quả nghiên cứu chế tạo vật liệu nano phát quang chứa các ion Eu, Tb và Er**

Phần này giới thiệu một số kết quả nổi bật trong nghiên cứu - phát triển công cụ đánh dấu huỳnh quang y sinh dựa trên vật liệu nano chứa đất hiếm tại Viện Khoa học Vật liệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam từ 2009 đến nay [8].

Chúng tôi đã phát triển các phương pháp tổng hợp vật liệu nano phát quang chứa đất hiếm sử dụng nước làm môi trường nhằm mục đích có thể ứng dụng trực tiếp sản phẩm trong y sinh học [9]. Vật liệu nano dạng hạt  $YVO_4:Eu$  kích thước từ 10 nm đến 20 nm, là vật liệu cơ sở chế tạo công cụ đánh dấu huỳnh quang vùng màu đỏ [10] (hình 1a). Ngoài màu đỏ, đánh dấu huỳnh quang y sinh thường làm với vùng màu xanh của chất màu hữu cơ FITC. Để đáp ứng điều này, chúng tôi đã nghiên cứu chế tạo dây nano  $TbPO_4$  [11, 12] (hình 1b). Với điều kiện tương tự, chúng tôi đã chế tạo dây nano của  $EuPO_4$  và hỗn hợp ion Tb và Eu trong  $Eu/TbPO_4$  [13, 14]. Nghiên cứu cho thấy các vật liệu dạng dây nano có tính năng nổi trội, đó là tính năng ngoại hóa (internalization) dẫn đến liên kết các tế bào riêng lẻ. Hơn nữa các dây nano có thể xuyên qua màng tế bào thâm nhập sâu vào bên trong, vì vậy tăng cường khả năng đánh dấu phát hiện chúng [15].

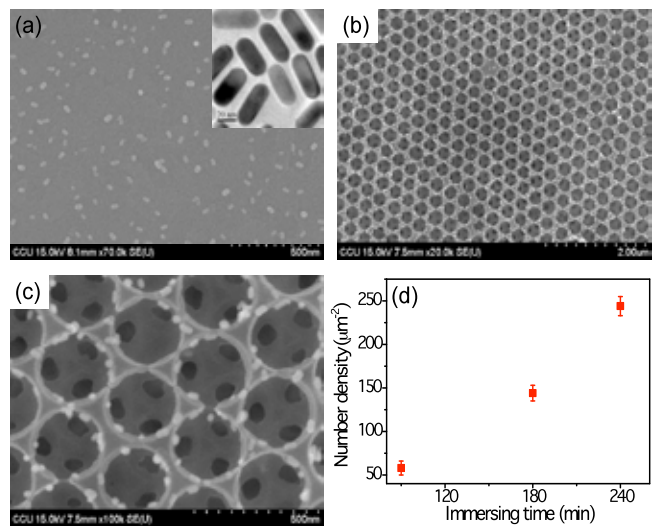


Hình 1a: ảnh FESEM của mẫu  $YVO_4:Eu^{3+}$

Hình 1b: ảnh FESEM của mẫu  $TbPO_4.H_2O$

**Kết quả nghiên cứu chế tạo quả cầu nano và cấu trúc dẫn sóng tinh thể quang tử kết hợp plasmon của vàng**

Nhằm phát triển các cấu trúc tinh thể quang tử, loại vật liệu truyền dẫn ánh sáng có vùng cấm quang, chúng tôi đã phát triển kỹ thuật chế tạo quả cầu silica, công thức  $SiO_{2-x}(OH)_x$ , kích thước từ 100 nm đến 400 nm, rất đồng đều, bề mặt nhẵn [16]. Dựa trên hai loại tinh thể quang tử loại opal thu được là quả cầu silica/polyme SU8 và quả cầu nano  $Eu^{3+}@silica/polyme\ SU8$ , chúng tôi đã nghiên cứu lắp ghép với thanh nano vàng. Trong hình 2 trình bày vi ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử truyền qua TEM của thanh nano vàng trên đế phẳng (hình 2a), trên bề mặt của tinh thể quang tử opal đảo (2b, 2c) và sự phụ thuộc mật độ bề mặt thanh vào thời gian nhúng (hình 2d).



Hình 2: ảnh TEM của các thanh nano vàng (a), của thanh nano vàng trên bề mặt của tinh thể quang tử đảo (b), với độ phóng đại lớn hơn (c) và sự phụ thuộc mật độ bề mặt của thanh nano vàng vào thời gian nhúng (d)

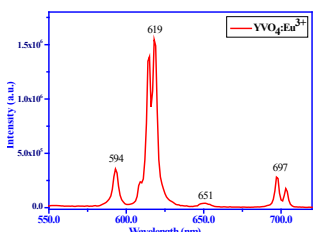
Cấu trúc tinh thể quang tử gắn plasmon nano vàng như đã chế tạo là cơ sở để chế tạo các cảm biến sinh hóa siêu nhạy đến vài nanogram/cm<sup>2</sup> [17].

**Nghiên cứu ảnh hưởng của công nghệ chế tạo, cấu trúc và xử lý bề mặt tới tính chất phát quang của vật liệu nano chứa đất hiếm**

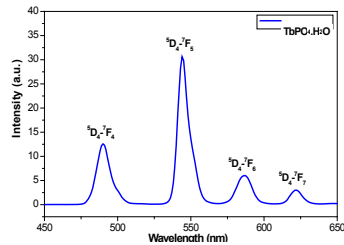
Tính chất phát quang của vật liệu nano chứa đất hiếm là nội dung nghiên cứu chính của nhiều nhóm nghiên cứu trong và ngoài nước. Sau một số năm, chúng tôi đã dần nâng cao được cường độ phát

quang của một số sản phẩm chính như:  $\text{Eu}(\text{OH})_3$ ;  $\text{Tb}(\text{OH})_3$ ;  $\text{Eu}_2\text{O}_3$ ;  $\text{YVO}_4$ ;  $\text{Eu}^{3+}$ ;  $\text{TbPO}_4$ ,  $\text{EuPO}_4$ ,  $\text{CePO}_4$ ;  $\text{Tb}^{3+}$ ;  $\text{EuNTA}$ .  $\text{TOPO}$  cũng như  $\text{NaYF}_4$ ;  $\text{Er}$ ,  $\text{Yb}$ ...

Hình 3a và 3b là phổ huỳnh quang của vật liệu nano dạng hạt từ 10 nm đến 12 nm  $\text{YVO}_4$ : 5% Eu và dây nano dài 300 nm, đường kính 7-10 nm  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Mức độ tăng cường độ phát quang khoảng từ 5 đến 10%, tương đương với các nhóm nghiên cứu hàng đầu nhiều kinh nghiệm và các điều kiện chế tạo đều ở mức cao về độ tinh khiết của hóa chất và điều kiện công nghệ hiện đại.

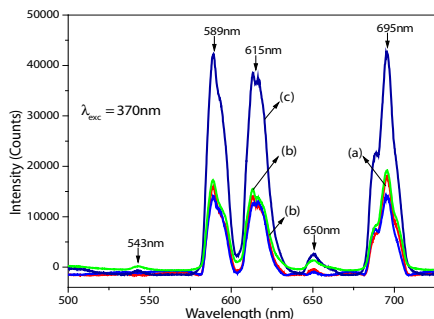


Hình 3a: phổ huỳnh quang của vật liệu hạt nano  $\text{YVO}_4$ : Eu từ 10 nm đến 12 nm



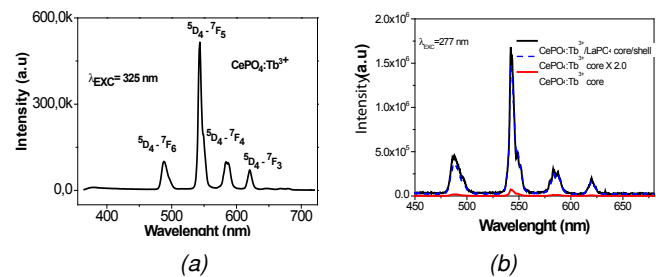
Hình 3b: phổ huỳnh quang của vật liệu dây nano  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dài 300 nm,  $\phi = 7-10$  nm

Trong lĩnh vực nghiên cứu vật liệu phát quang, một biện pháp khác có tính chất phổ dụng là truyền năng lượng. Chúng tôi đã sử dụng các cặp truyền năng lượng Tb/Eu để nâng cao cường độ phát quang của vật liệu. Hình 4 trình bày kết quả chế tạo dây nano  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , ban đầu phát huỳnh quang màu xanh lá cây cực đại ở 543 nm. Sau khi pha thêm Eu, với các tỷ lệ từ 6% đến 20%, cường độ huỳnh quang tại vùng xanh bị giảm mạnh. Đồng thời nhận thấy huỳnh quang vùng đỏ tăng lên. Khi so sánh có thể nhận thấy rằng truyền năng lượng từ Tb sang Eu đã nâng cường độ huỳnh quang ở vùng đỏ lên từ 3 đến 5 lần. Đây là kết quả truyền năng lượng rất hiệu quả giữa Tb và Eu trong vật liệu dây nano phát quang [13].



Hình 4: phổ huỳnh quang dây nano  $\text{EuPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (a);  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : 20%  $\text{Eu}^{3+}$  (b);  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : 11%  $\text{Eu}^{3+}$  (c);  $\text{TbPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : 6%  $\text{Eu}^{3+}$  (d)

Ở trên, chúng tôi đã trình bày kết quả nghiên cứu nâng cao cường độ phát quang của vật liệu nano phát quang chứa đất hiếm. Một trong các biện pháp xử lý bề mặt rất hiệu quả là tiến hành bọc vỏ cho vật liệu nano. Đối với vật liệu phát quang, tiêu chuẩn vật lý cần thiết để trở thành vật liệu bọc vỏ nâng cao khả năng phát quang là phải có đỉnh hấp thụ cực đại ở bước sóng ngắn hơn so với vật liệu huỳnh quang nằm ở trong lõi. Chúng tôi đã sử dụng biện pháp này để xử lý bề mặt và nâng cao hiệu suất phát quang của vật liệu nano  $\text{CePO}_4$ :  $\text{Tb}^{3+}$  sử dụng các vật liệu vỏ khác nhau. Kết quả cho thấy có thể tăng cường độ phát quang lên 2 lần khi bọc với  $\text{LaPO}_4$ , lên 2,5 lần với silica và 2,7 lần với vỏ là  $\text{YPO}_4$  (hình 5) [18].

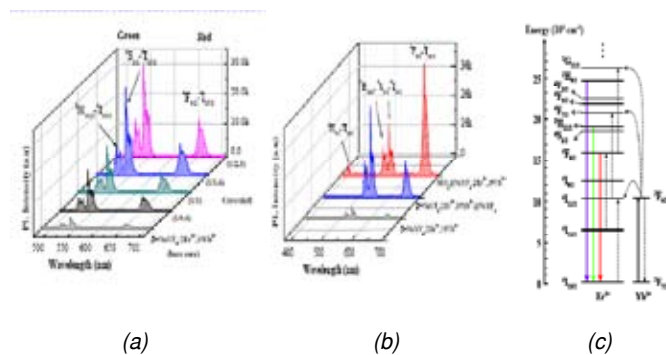


Hình 5: phổ huỳnh quang của  $\text{CePO}_4$ :  $\text{Tb}^{3+}$  (a) và  $\text{CePO}_4$ :  $\text{Tb} @ \text{LaPO}_4$  (b)

Một kết quả đặc biệt khác thu được đối với loại vật liệu nano huỳnh quang ngược  $\text{NaYF}_4$ :  $\text{Er}$ ,  $\text{Yb}$ , khi nghiên cứu các loại cấu trúc lõi vỏ khác nhau. Trước hết là cấu trúc lõi vỏ truyền thống, nghĩa là vật liệu lõi là vật liệu chức năng và cần được bảo vệ. Theo phương án này, chúng tôi dùng chính vật liệu nền  $\text{NaYF}_4$  để bọc vỏ. Ngược lại, chúng tôi sử dụng quả cầu nano silica làm vật liệu lõi và bọc vỏ bằng  $\text{NaYF}_4$ :  $\text{Er}$ ,  $\text{Yb}$ .

Hình 6 trình bày sự thay đổi cường độ và cấu trúc phổ huỳnh quang ngược của các cấu trúc lõi vỏ khác nhau. Hình 6a trình bày phổ huỳnh quang của cấu trúc nano với lõi là vật liệu  $\text{NaYF}_4$ :  $\text{Er}$ ,  $\text{Yb}$ , lớp vỏ là vật liệu  $\text{NaYF}_4$ . Trong đó đường màu xám ngoài cùng của hình 6a là phổ huỳnh quang của vật liệu  $\text{NaYF}_4$ :  $\text{Er}$ ,  $\text{Yb}$  không bọc vỏ. Tiếp đến là phổ huỳnh quang của các cấu trúc lõi vỏ với các tỷ lệ lõi/vỏ thay đổi như sau: 1,0/0,6; 1,0/1,0; 1,0/1,6; và 1,0/2,3. Dễ dàng nhận thấy cường độ huỳnh quang tăng lên khi lớp vỏ  $\text{NaYF}_4$  dày lên. Tuy nhiên tỷ lệ cường độ của các vạch huỳnh quang không thay đổi. Điều này hoàn toàn khác ở cấu trúc lõi/vỏ, trong đó lõi là quả cầu silica và vỏ là vật liệu  $\text{NaYF}_4$ :  $\text{Er}$ ,  $\text{Yb}$ . Kết quả đo phổ huỳnh quang của vật liệu nano lõi/vỏ

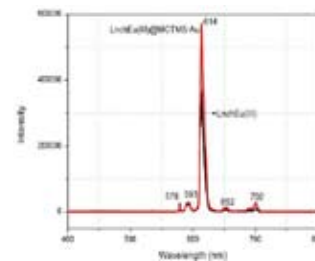
này được trình bày trong hình 6b. Hai đường đồ thị ngoài cùng là phổ huỳnh quang của vật liệu nano có dạng kết tinh  $\beta\text{-NaYF}_4: \text{Er, Yb}$  (đường màu xám) và cấu trúc lõi/vỏ  $\beta\text{-NaYF}_4: \text{Er, Yb}@ \text{NaYF}_4$  (đường màu xanh). Chúng ta thấy dạng lõi/vỏ phát quang mạnh hơn. Còn đường màu đỏ ở hình 6b là phổ huỳnh quang của vật liệu nano lõi/vỏ có dạng silica  $@\alpha\text{-NaYF}_4: \text{Er, Yb}$ . Có thể nhận thấy cấu trúc lõi/vỏ không những nâng cao được cường độ huỳnh quang mà còn làm thay đổi tỷ lệ phát quang của hai vùng màu xanh lá cây (bước sóng ở vùng 560 nm) và vùng đỏ (bước sóng ở vùng 645 nm) của  $\text{NaYF}_4: \text{Er, Yb}$ . Nguyên nhân của hiện tượng này cần phải được tiếp tục nghiên cứu [19].



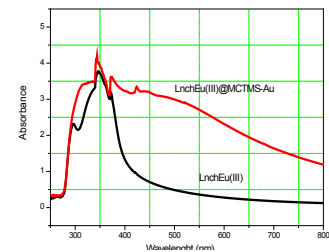
Hình 6: phổ huỳnh quang anti-stock của  $\beta\text{-NaYF}_4: 2\text{Er}^{3+}, 19\text{Yb}^{3+}$  (hình a);  $\beta\text{-NaYF}_4: 2\text{Er}^{3+}, 19\text{Yb}^{3+}@ \text{NaYF}_4$  (hình a);  $\beta\text{-NaYF}_4: 2\text{Er}^{3+}, 19\text{Yb}^{3+}$  (hình b);  $\beta\text{-NaYF}_4: 2\text{Er}^{3+}, 19\text{Yb}^{3+}@ \text{NaYF}_4$  (hình b); Silica  $@\alpha\text{-NaYF}_4: 2\text{Er}^{3+}, 19\text{Yb}^{3+}$  (hình b); sơ đồ các mức năng lượng của  $\text{Er}^{3+}$  và  $\text{Yb}^{3+}$  (hình c)

Gần đây, trong lĩnh vực vật liệu nano, nổi lên lớp vật liệu nano kim loại của bạc và vàng kích thước từ vài đến hàng chục nanomet, hình dạng khác nhau như hạt, thanh, hình sao (Gold nanostar)... với tính chất mới lạ cộng hưởng plasmon. Chúng tôi đã triển khai nghiên cứu dùng vàng nano để tăng cường cường độ phát quang của vật liệu huỳnh quang chứa đất hiếm. Hệ vật liệu đầu tiên được nghiên cứu là phức chất nano hóa Eu.NTA.TOPO. Các hạt vàng nano kích thước từ 15 nm đến 25 nm được phủ lên bề mặt của phức chất nano hóa. Phổ huỳnh quang trình bày ở hình 7a và phổ hấp thụ ở hình 7b. Phổ hấp thụ của plasmon nano vàng có cực đại tại 520-525 nm, còn cực đại hấp thụ của phức chất kim loại hữu cơ nằm ở phía sóng ngắn hơn (dưới 400 nm). Phổ hấp thụ của phức chất có phủ vàng nano là trùng chập của hai phổ hấp thụ của cả hai thành phần vật liệu huỳnh quang và vàng nano (hình 7b). Khi đo phổ huỳnh quang tại vùng đỏ với cực đại tại 614 nm, vùng phát xạ đặc trưng của phức chất,

chúng tôi thấy cường độ huỳnh quang đã được tăng lên mạnh (hình 7a). Đặc biệt, khi kích thích ở vùng khả kiến màu tím và xanh cận tử ngoại, hiệu ứng tăng cường huỳnh quang của  $\text{Eu}^{3+}$  tăng mạnh. Bước đầu có thể cho rằng vàng nano là tác nhân tăng nhạy phổ cho vật liệu nano phát quang chứa đất hiếm [20]. Phát hiện này rất thú vị khi phát triển công cụ y sinh đa chức năng vừa làm đánh dấu vừa xử lý các tế bào bị bệnh.



Hình 7a: phổ huỳnh quang của phức chất  $\text{LnchEu(III)}$  và  $\text{LnchEu(III)@MCTMS-Au}$



Hình 7b: phổ hấp thụ của phức chất  $\text{LnchEu(III)}$  và  $\text{LnchEu(III)@MCTMS-Au}$

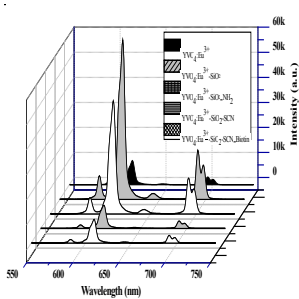
**Kết quả nghiên cứu chế tạo công cụ đánh dấu và hợp tác thử nghiệm phát hiện nhận dạng vi rút trong công nghiệp sản xuất vắc xin**

Giai đoạn làm cầu nối các vật liệu nano nhằm ứng dụng trong y sinh học là chúng phải tương thích được với phân tử, vi rút, tế bào và mô (tissue). Chính vì vậy, chúng cần được xử lý để phân tán tốt và bền vững trong môi trường sinh lý. Thứ đến là chúng phải được trang bị những chức năng cần thiết để có thể trở thành công cụ tìm kiếm, phân tích phát hiện (chẩn đoán) hoặc là các công cụ tác động vào đối tượng. Bước đầu tiên phải tiến hành là chức năng hóa vật liệu nano theo những tiêu chí đã vạch ra của giai đoạn cộng hợp với đối tượng y sinh học cần hướng đến. Sau đó lắp ghép thêm các mũi dò sinh học (biolabel) để có các chức năng phát hiện. Nếu gắn các loại thuốc chữa bệnh vào thể nano đã chứa các mũi dò, chúng ta sẽ thu được các loại thuốc hướng đích (targeted drug). Dưới đây, chúng tôi xin trình bày kết quả nghiên cứu chế tạo công cụ đánh dấu y sinh học dựa trên vật liệu nano phát quang chứa đất hiếm.

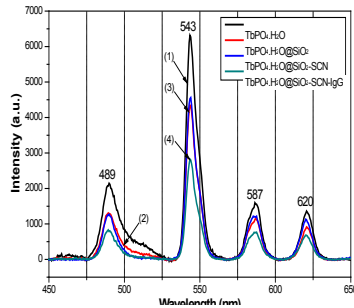
Sau khi thử khá nhiều phương án, chúng tôi đã chọn phương án chức năng hóa, trước hết bằng cách tạo ra một lớp mỏng hoạt tính dựa vào công nghệ sol-gel [21]. Thời gian gần đây, quá trình sol-gel đã được phát triển mạnh và rộng rãi để cải biến các bề mặt vật liệu bán dẫn silic, các cảm biến sinh học. Phương pháp chức năng hóa sử dụng quá trình sol-gel cũng

đã bắt đầu dùng cho các vật liệu pha đất hiếm loại gadolinoxit và lantanfluorit hay ceriphosphat.

Xuất phát từ các ứng dụng phổ biến trong y sinh học, chúng tôi đã tiến hành chức năng hóa hai loại vật liệu nano chứa tác nhân phát quang Eu và Tb phát màu đỏ và xanh tương ứng là  $YVO_4:Eu$ ,  $Eu.NTA$ ,  $TOPO$  và  $TbPO_4 \cdot H_2O$ ,  $EuPO_4 \cdot H_2O$ ,  $Eu/TbPO_4 \cdot H_2O$ . Công việc gắn kết vật liệu nano đã chức năng hóa nhóm amin với một loại protein immunoglobulin có thể thực hiện bằng cách lắp ghép có cấu nối là glutaraldehyde hay carbodimide, hoặc làm theo phương án khác với isothiourea, theo sơ đồ các biện pháp cộng hợp hóa học giữa vật liệu nano và phần tử hoạt động sinh học của Hermanson [22]. Chúng tôi đã chế tạo công cụ đánh dấu huỳnh quang đối với hai trường hợp vật liệu hạt nano  $YVO_4:Eu^{3+}$  và dây nano  $TbPO_4 \cdot H_2O$  được theo dõi bằng sự thay đổi cường độ huỳnh quang (hình 8a, 8b). Sản phẩm công cụ đánh dấu có thể bảo quản từ 3 đến 4 tháng trong tủ lạnh nhiệt độ từ 4 đến 8°C.



Hình 8a: phổ huỳnh quang của hạt nano  $YVO_4:Eu^{3+}$ ;  $YVO_4:Eu^{3+}@silica-NH_2$ ;  $YVO_4:Eu^{3+}@silica-SCN$ ;  $YVO_4:Eu^{3+}@silica-SCN/Biotin$

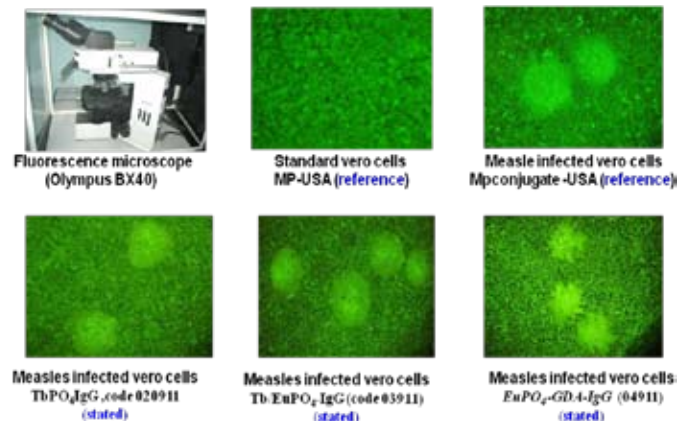


Hình 8b: phổ huỳnh quang của dây nano  $TbPO_4 \cdot H_2O$  (1),  $TbPO_4 \cdot H_2O@SiO_2$  (2),  $TbPO_4 \cdot H_2O@SiO_2-SCN$  (3) và  $TbPO_4 \cdot H_2O@SiO_2-SCN-IgG$  (4)

Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu khảo sát khả năng của công cụ đánh dấu gồm vật liệu nano phát quang chứa đất hiếm cộng hợp với IgG, nhằm xây dựng quy trình công nghệ phân tích hai loại vắc xin Sởi và Rota, sản phẩm chủ yếu của Trung tâm Polyvac. Dưới đây là quy trình chuẩn bị mẫu cho phương pháp phân tích huỳnh quang miễn dịch đã thử nghiệm nhiều lần trong thời gian qua. Dịch tế bào Vero đã nuôi từ 3 đến 4 ngày, được tách ra bằng dung dịch 0,05% Trypsin và ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) để tạo huyền phù với nồng độ cuối là 200.000 tế bào/ml. Phân đều 3 ml huyền phù tế bào vào một giếng, sau đó đậy nắp cho các giếng. Nuôi cấy ở 37°C trong 3 ngày trong buồng ấp có 5%  $CO_2$ . Dịch vắc xin được pha loãng ra

10 lần bằng Minimum Essential Medium Eagle (MEM) có 5% BS và cấy với giếng 0,1 ml hấp phụ vi rút ở 37°C/-5%  $CO_2$  trong 60 phút. Thêm 3 ml MEM 2% BS/-well và cấy ở 37°C và 5%  $CO_2$  trong 3 ngày. Lấy nắp đậy giếng ra, đưa giếng vào hố rửa sạch các tế bào không hoạt động bằng acetone trong 15 phút, sau đó rửa 3 lần bằng dung dịch đệm phosphate saline (PBS). Làm khô tấm thủy tinh tiêu bản để lên để thủy tinh. Đổ dịch cộng hợp của IgG và hạt nano hay dây nano phát quang lên bề mặt của tiêu bản chứa tế bào. Đóng khay đựng và cấy ở 37°C trong 60 phút. Rửa lại 3 lần với PBS, khuấy từ trong 5 phút. Làm khô tiêu bản sau đó đưa tiêu bản vào thiết bị hiển vi huỳnh quang để phân tích nhận dạng vi rút.

Quan sát các vi ảnh ở hình 10 có thể thấy rằng: các vùng lớn màu xanh sáng tín hiệu nhận dạng đặc trưng cho vi rút Sởi. Kết quả tương đương với mẫu đối chứng, khi sử dụng công cụ đánh dấu là thương phẩm nhập khẩu. Kết quả thử nghiệm đã tiến hành hàng chục lần trong thời gian dài, tính lặp lại cao, ổn định về màu sắc và hình dạng [23].



Hình 9: ảnh kính hiển vi và vi ảnh chụp qua kính hiển vi huỳnh quang phát hiện nhận dạng vùng sản phẩm tương tác giữa kháng nguyên Sởi trong sản phẩm vắc xin và công cụ đánh dấu dây nano  $TbPO_4 \cdot H_2O$  và IgG

Bản quyền chế tạo công cụ đánh dấu gồm vật liệu nano phát quang chứa đất hiếm cộng hợp với IgG cho phương pháp phân tích huỳnh quang miễn dịch phát hiện và nhận dạng vi rút đã được đăng ký giải pháp hữu ích tại Cục Sở hữu trí tuệ vào cuối năm 2012 [24].

## Kết luận và đề xuất

Tóm lại, chúng ta đã nghiên cứu chế tạo thành công nhiều phương tiện chẩn đoán và điều trị bệnh, như vật liệu nano từ tính làm tác nhân tương phản trong kỹ thuật chụp ảnh chẩn đoán MRI, làm tác nhân đốt từ

nhật chữa ung thư, công cụ đánh dấu huỳnh quang phát hiện dư lượng thuốc trừ sâu trong sản phẩm nông nghiệp và các cao phân tử tổng hợp hoặc nguồn gốc tự nhiên làm tác nhân mang thuốc hướng đích.

Trong đó có thành công về xây dựng quy trình chế tạo công cụ đánh dấu huỳnh quang miễn dịch y sinh từ vật liệu nano chứa đất hiếm cộng hợp với phần tử sinh học và thử nghiệm phân tích phát hiện và nhận dạng vi rút trong công nghiệp sản xuất vắc xin. Công cụ đánh dấu có độ nhạy cao, lặp lại, ổn định và đặc hiệu, tương đương với sản phẩm nhập ngoại cùng loại, nhưng ổn định, tiêu bản bền hơn và giá thành cạnh tranh.

Nếu Nhà nước có chính sách đầu tư phù hợp, chắc chắn trong thời gian tới chúng ta có thể đưa các sản phẩm công nghệ cao vào ứng dụng thường xuyên. Như vậy, các sinh phẩm chẩn đoán huỳnh quang miễn dịch sẽ góp phần quan trọng vào chiến lược phát triển sản phẩm quốc gia về vắc xin giai đoạn đến năm 2020 của nước ta. Từ đó, có thể chuyển sang các nghiên cứu chế tạo công cụ đánh dấu huỳnh quang phát hiện nhận dạng các ADN chẩn đoán sớm bệnh ung thư góp phần phát triển kỹ nghệ điều trị ung thư trúng đích ở Việt Nam ■

## Tài liệu tham khảo

- Gao G. (2004). Nanostructures and Nanomaterials, University of Washington, USA.
- P.N. Prasad, Nanophotonics, Wiley-Interscience, A John Wiley & Sons, Inc., Publication. Hoboken, New Jersey, United States of America, 2004.
- Feng Wang, Wee Beng Tan, Yong Zhang, Xianping Fan and Minquan Wang - Luminescent Nanomaterials for biological labeling, Nanotechnology 17 (2006) R1-R13 Doi: 10.1088/0957-4484/17/1/R01.
- Le Quoc Minh, Wieslaw Streck, Tran Kim Anh and Kui Yu, Luminescent Nanomaterials, Special Issue published 2007, J. Nanomaterials, ID 43812 (2007).
- Herbert Ernest and Rahul Shetty - Impact of Nanotechnology on Biomedical Sciences: Review of Current Concepts on Convergence of Nanotechnology with Biology, Journal Nanotechnology, 2005, N°5.
- Zhe Liu, Fabian Kiesling, and Jessica Gaetjens, Advanced Nanomaterials in multimodal imaging: Design, Functionalization and Biomedical Application, J. Nanomaterials, Article ID 894303, doi: 10.1155/2010/894303 (2010).
- R. Kanngangai, A.M. Abraham, S. Sanker, G. Sridharan, Nanotechnology tools for single-virus particle detection, Indian Journal of Medical Microbiology 28 Issue 2 DOI: 10.4103/0255-0857.62482 (2010) 95-99.
- Báo cáo nghiệm thu đề tài độc lập cấp nhà nước: "Nghiên cứu chế tạo vật liệu nano chứa đất hiếm huỳnh quang mạnh nhằm liên hợp sinh học để phát triển công nghệ đánh dấu huỳnh quang có triển vọng ứng dụng trong nông y sinh". Chủ nhiệm: GS Lê Quốc Minh, MSDT:2/2/742/2009-2012/HĐ-ĐTĐL.
- Le Quoc Minh, Tamio Endo, Tran Thu Huong, Nguyen Thanh Huong, Lam Thi Kieu Giang, Le Duc Tuyen, Dinh Xuan Loc and Tran Kim Anh, Synthesis, structures and Properties of Emission Nanomaterials Based on Lanthanide Oxides and Mixoxides, Transaction of J-MRS 2 N°6 (2010) 417-422.
- Tran Thu Huong, Vu Duc Tu, Tran. Kim Anh, Le Thi Vinh and Le Quoc Minh - Fabrication and characterization of  $YVO_4:Eu^{3+}$  Nanomaterials by the microwave technique. Journal of rare earths, 29 No 12 (2011) 1137.
- Thanh Huong Nguyen, Duc Van Nguyen, Manh Tien Dinh, Thi Khuyen Hoang, Thanh Binh Nguyen and Quoc Minh Le, Fabrication of  $TbPO_4.H_2O$  nanorods/nanowires by the microwave technique and their characterization, IOP PUBLISHING Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol. 3 (2012) 015007.
- Nguyen Thanh Huong, Nguyen Duc Van, Dinh Manh Tien, Do Khanh Tung, Nguyen Thanh Binh, Tran Kim Anh and Le Quoc Minh, Structural and luminescent properties of  $(Eu,Tb)PO_4.H_2O$  nanorods/nanowires prepared by microwave technique, Journal of rare earths 29 No. 12 (2011) 1170.
- Thu Huong Tran, Kim Anh Tran, Thi Khuyen Hoang, Thu Hien Pham, Quoc Minh Le -Fabrication and properties of Terbium phosphate nanorods, IOP PUBLISHING Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol. 3 (2012) 015010.
- Tran Thu Huong, Tran Kim Anh, Le Thi Vinh, W. Streck, Hoang Thi Khuyen and Le Quoc Minh, Fabrication and properties of high efficiency luminescent nanorods  $EuPO_4.H_2O$  by soft template method, Journal of rare earths 29 No.12 (2011) 1174.
- Chitta Ranjan Patta, Resham Bhattacharya, Sujata Patra, Sujit Basu, Priyabrata Mukherjee and Debabrata Mukhopadhyay, Inorganic phosphate nanorods are novel fluorescent label in cell, J. Nanotechnology, 4:11, DOI: 10.1186/1477-3155-4-11, 30 October, 2006.
- Le Duc Tuyen, Jian Hung Lin, Cheng-Yi Wu, Po-Tse Tai, Jau Tang, Le Quoc Minh, Hung-Chih Kan, Chia Chen Hsu, Pumping-power-dependent photoluminescence angular distribution from an opal photonic crystal composed of monodisperse  $Eu^{3+}/SiO_2$  core/shell nanospheres, Optics Express, 1094-4087, Vol.20, No. 14, pp.15418-426 (2012).
- Le Quoc Minh, Le Duc Tuyen, Chia Chen Hsu, Lam Thi Kieu Giang, Tran Thu Huong, Nguyen Thanh Huong, Hoang Thi Khuyen, Nguyen Thanh Binh, Vu Duc Tu, Tran Duc Dat and Tran Kim Anh, Invited Talk "Controlling synthesis of photoresponsive Nanomaterials for photonic wave guide and biomedical application", in 2<sup>nd</sup> German- Vietnamese Symposium on Frontiers in Materials Science, Frankfurt, Goettingen, Germany, 6-9 October 2011.
- Dinh Xuan Loc, Tran Kim Chi, Tran Thu Huong, Nguyen Vu, Tran Kim Anh, W. Streck and Le Quoc Minh, Synthesis and characterization of core/shell structured nanophosphors  $CePO_4:Tb@LaPO_4$  by solvothermal method, J of Rare Earths Vol 29, N°12 (2011) pp. 1147-1151.
- L.T.K. Giang, T.K. Anh, N.T. Binh and L.Q. Minh, "Soft template synthesis and upconversion luminescence of nanostructured  $NaYF_4:Er^{3+},Yb^{3+}$ ", 2nd International Conference on RARE EARTH MATERIALS (REMAT) Advances in Synthesis, Studies and Applications, 13-15 June, 2011, Wroclaw, Poland.
- Hoang Thi Khuyen, Le Minh Nghia, Bui Thi Hoa, Tran Thu Huong, Tran Kim Anh, Do Khanh Tung, Nguyen Thanh Binh, Le Quoc Minh, Synthesis and characterization of nano-structured luminescent lanthanide metal-organic complexes for photonics and biomedicine, The 6<sup>th</sup> International Workshop on Advanced Materials Science and Nanotechnology (IWAMSN2012) - October 30-November 02, 2012 Ha Long City, Vietnam, SMPS-P11.
- Quoc Minh Le, Thu Huong Tran, Thanh Huong Nguyen, Thi Khuyen Hoang, Thanh Binh Nguyen, Khanh Tung Do, Kim Anh Tran, Dang Hien Nguyen, Thi Luan Le, Thi Quy Nguyen, Mai Dung Dang, Nu Anh Thu Nguyen, and Van Man Nguyen, Development of a fluorescent label tool based on lanthanide nanophosphors for viral biomedical application, IOP PUBLISHING Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol. 3 (2012) 035003 (10pp) doi:10.1088/2043-6262/3/3/035003, ISSN 2043-6254 (Print), ISSN 2043-6262 (Online).
- Greg T. Hermanson Bioconjugate Techniques, Second Edition [Paperback] ISBN-10: 0123705010, ISBN-13: 978-0123705013, Academic Press (ELSEVIER), 2008.
- Lê Quốc Minh và cộng sự, Vật liệu phát quang chứa đất hiếm ứng dụng trong sinh y học: Thành quả và triển vọng, Tạp chí Khoa học Công nghệ nano, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam 51(2a) 2013, trang 60-76.
- Giải pháp hữu ích: Công cụ đánh dấu y sinh học bao gồm vật liệu cấu trúc nano chứa đất hiếm phát quang, Tập thể nghiên cứu gồm các thành viên của Viện Khoa học Vật liệu và Trung tâm Polyvac, ngày nộp 21.5.2012, ngày chấp nhận khảo sát quốc tế 15.12.2012 của Cục Sở hữu trí tuệ.