

نانوذرات طلا در بستره بافر فسفات به عنوان محیط مناسب تیمار فوتوگرمایی

سعیدی فرد^۱، ساجده^۱؛ حمیدی، سیده مهری^۲

^۱ آزمایشگاه مگنتوپلاسمونیک، پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران

چکیده - در این مقاله به بررسی حضور نانوذرات طلا در محیط بافر فسفات در فرآیندهای زیستی پرداخته ایم تا بتوان آن را به عنوان یک محیط مناسب جهت تیمار فوتوگرمایی معرفی کرد. بدین منظور یک ساختار پلاسمونیک که شامل طلا روی نانوتوری یک بعدی است به روش لایه نشانی گرمایی تهیه شده و تاثیر محیط های مختلف بافر بعلاوه غلظت های مختلف نانوذرات را در مد تشدید پلاسمونی ساختار پلاسمونیک بررسی کرده ایم. نتایج حاصل، نشان دهنده ی حساسیت محیط بافر به حضور نانوذرات طلا در چند طول موج کاربردی است که می توان جهت تیمار فوتوگرمایی از آن استفاده کرد.

کلید واژه- تشدید پلاسمونی، محیط کشت سلولی، نانوذرات طلا، نمک بافر فسفات

Gold nanoparticles in phosphate buffer as suitable photo thermal therapy environment

Saeidifard, sajede¹; Hamidi, Seyedeh Mehri²

¹Magneto-plasmonic lab, Laser and Plasma Research Institute, ShahidBeheshti University, Tehran, Iran.
m_hamidi@sbu.ac.ir

Abstract- In this paper, we investigated the presence of gold nanoparticles in the pbs environment, which is a fundamental buffer in biological processes, in order to make it suitable for photo thermal therapy environment. For this purpose, a plasmonic structure consisting of gold onto a one-dimensional nano grating is prepared by a thermal deposition method and after that, the effect of NPs in pbs media with and without NPs has been investigated. The spectroscopy of the samples has been done under different polarizations and a given angle in the various environmental conditions and plotted reflection diagram in term of wavelength. Our results show that this media has a good a sensivity in multi wavelength to the presence of gold nanoparticles.

Keywords: Plasmonic resonance, Cell culture medium, Gold nanoparticles, Phosphate buffered saline

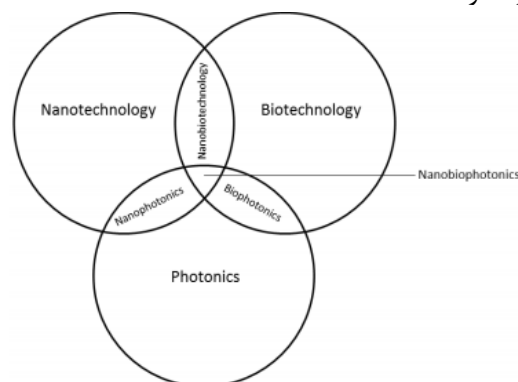
۱- مقدمه

۱۰ میکرومتر تشکیل می شوند، در حالی که، قسمت های سلولی بسیار کوچکتر بوده و حتی پروتئین های نوعی با اندازه ی فقط ۵ نانومتر وجود دارند که ابعاد کوچک ترین نانوذرات انسان است. این مقایسه اندازه ای ساده، ایده ی استفاده از نانوذرات به عنوان کاوه های بسیار کوچک را می دهد که ما را قادر به جاسوسی بدون مداخلات بیش از حد در ماشین های سلولی می کند.

اما در این محیط های سلولی، بافرهای متعددی جهت کشت و یا مراقبت های خاص استفاده می شود که یکی از این بافرها، نمک بافر شده ی فسفات (PBS) است. روش های زیادی برای ساخت PBS وجود دارد. در برخی از فرمول های ساخت از پتاسیم استفاده نمی شود، در حالیکه بسیاری از آنها دارای منیزیم یا کلسیم می باشد. با ترکیب NaCl ، KCl ، Na_2HPO_4 و KH_2PO_4 و PH ثابت در حدود ۷/۴ است که اسمولاریسم آ و غلظت یونی محلول را در بدن انسان منطبق می کند. این محیط به دلیل هم کشش بودن و غیر سمی بودن برای سلول ها بسیار پر کاربرد است [۴و۵]. همچنین می تواند به عنوان یک بافر شستشو برای آزمایش های ایمنی شناخته شده از جمله وسترن بلات،^۳ ایمونوهیستوشیمی،^۴ میکروسکوپ ایمنی فلوروسانس و الیزا^۵ مورد استفاده قرار گیرد [۶].

اما از سوی دیگر، در بین تکنولوژی نانو، نانوذرات طلا به دلیل ویژگی های منحصر به فرد الکترونیکی، نوری، دمایی، شیمیایی و بیولوژیکی و پتانسیل استفاده در کاربردهای کاتالیزگری در زمینه های مختلف مانند زیست، فیزیک دارو، شیمی، علم مواد و زمینه های مختلف علمی دیگر توجه بسیاری را به خود جلب کرده است. جذب نوری قوی نانوذرات طلا، ویژگی های پراکندگی آنها و فقدان کامل یا کم سمی بودن باعث شده آنها برای کاربردهای بیوفیزیکی بسیار مناسب باشند [۷] همچنین نانوذرات طلا به دلیل جذب و پراکندگی بالا

تکنولوژی نانو بصورت مطالعه و کنترل ماده در سطح نانومقیاس تعریف می شود که این مهم کاربردهای بسیار گسترده ای در حوزه های مختلف مانند الکترونیک، مکانیک و پزشکی دارد. نانوفوتونیک علمی است که به برهم کنش نور-ماده در سطح نانومقیاس می پردازد که کشمکش برای تحقیقات اساسی و فرصت هایی را برای تکنولوژی جدید فراهم می کند. درواقع با مطالعه ی برهمکنشهای اپتیکی جدید، تکنیک های مواد و ساخت و ساز شامل بررسی ساختارهای طبیعی و مصنوعی مانند بلورهای فوتونی، الیاف حفره دار، نقاط کوانتومی، ساختارهای زیر طول موج و پلاسمونیک همراه است. کاربرد دیگر تکنولوژی نانو در زیست، تکنولوژی زیست است که باعث ایجاد زمینه ی تحقیقاتی جدیدی تحت عنوان نانوبیوتکنولوژی شده است. این زمینه نه تنها به کاربرد سیستم های زیستی برای تولید نانو ساختارهای مورد استفاده میپردازد، بلکه به ظهور و بکارگیری ابزارهایی برای تولید و دستکاری نانو ساختارها جهت مطالعه ی روندها و ساختارهای زیستی اساسی می پردازد [۱]. این شاخه ی جدید را می توان نقطه اشتراک فوتونیک، بایوفوتونیک و نانوتکنولوژی معرفی نمود ((شکل ۱)) که زمینه ی گسترده ی علم نوین و نانوتکنولوژی بیومدیكال است. به کارگیری این زمینه ی خاص در داروسازی یک راهکار پرتوان برای تشخیص و درمان بیماری محسوب می شود [۱و۲].



شکل ۱: نمایش شماتیک تداخل زمینه های مختلف و بوجود آمدن نانوبیوفوتونیک

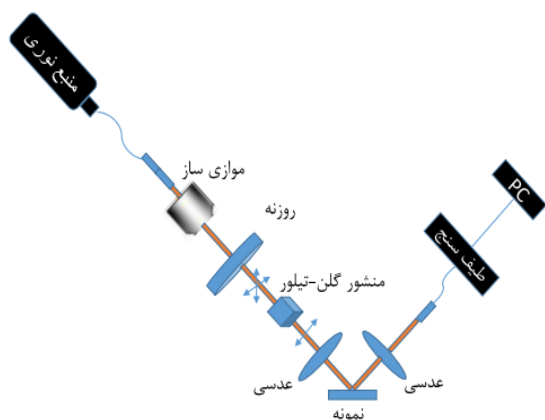
- ۱ Phosphate buffered saline
- ۲ osmolarity
- ۳ Western blot
- ۴ immunofluorescence
- ۵ ELISA

از سوی دیگر، درک فرایندهای بیولوژیکی در سطح نانو، یک نیروی محرک قوی در توسعه فناوری نانو است [۳]. چرا که اندام های زنده معمولا از سیستم هایی با ابعاد

تولید شده اند. از سوی دیگر، محلول PBS با استفاده از رایج ترین روش به شرح زیر آماده شده اند. در گام اول حل کردن ۰,۰۸ گرم NaCl، ۰,۰۰۲ گرم KCl، ۰,۰۱۴۲ گرم Na_2HPO_4 و ۰,۰۰۲۴ گرم KH_2PO_4 در ۸ میلی لیتر آب مقطر و سپس اندازه گیری PH و تنظیم آن با HCl به مقدار ۷,۴ و در نهایت ۱۰ میلی لیتر با آب مقطر به حجم رسانده شد. نانوتوری های یک بعدی به عنوان نمونه های پلاسمونی تهیه شده در محیط PBS بدون حضور نانوذرات طلا و با حضور ۱۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر از نانوذرات غوطه ور شده است.

۲-۲ روش طیف سنجی:

بیضی سنجی یک تکنیک اندازه گیری نوری مبتنی بر تغییرات حالت قطبش به محض بازتاب از صفحه ی نمونه است. نتیجه ی اندازه گیری های بیضی سنجی دو پارامتر ψ و Δ می باشد که زوایای اندازه گیری نامیده می شوند. این دو پارامتر اطلاعاتی را راجع به عملکرد اپتیکی و ریخت شناسی ماده ی مورد بررسی شامل لایه های بالایی به ما می دهد. اگرچه بیضی سنجی یک روش غیر مستقیم است که در آن مدل سازی ریاضیاتی اعمال می شود تا بتوان اطلاعاتی را مربوط به ساختار نمونه ی مورد بررسی بدست آورد. طیف سنجی از نمونه ها به ازای زاویه ی برخوردی ۴۵ درجه و همچنین به ازای قطبش های نور فرودی S و P با چیدمان شکل ۲ به عمل آمده است.



شکل ۲: چیدمان طیف سنجی بازتابی از نمونه ی محلول.

قادرند براساس تشدیدهای پلاسمونی سطحی در نواحی مرئی و نزدیک فروسرخ به عنوان المانهای درمانی نوری گرمایی^۱ (PTT) و یا جستجوگر در تصویرنگاری های زیستی موجودات زنده و آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گیرند. نانوذرات پلاسمونیک به محض قرار گرفتن در معرض نور در طول موج های تشدید خود، به دلیل تبدیل انرژی فوتون به گرما، گرمای ایجاد شده را به محیط اطراف نانوذرات منتقل می کنند [۸]. بطور مثال از آنها می توان به منظور تحریک نوری گرمایی فعالیت های نورونی مغزی استفاده کرد [۹]. در سال ۲۰۱۴، جی وونگ لی و همکارانش توانسته اند از نانومیله های طلا به عنوان واسطه برای جلوگیری از فعالیت نورونی با تحریک لیزری نزدیک فروسرخ استفاده کنند [۱۰]. در سال ۲۰۱۷ من کیو^۲ و همکارانش موفق شده اند از اثر فوتوگرمایی نانوذرات کربن برای افزایش تحریک نورونی عصب سیاتیک موش به کمک لیزر ۹۸۰ نانومتری فروسرخ استفاده نمایند [۱۱].

در این مقاله، با توجه به اهمیت PBS در فرآیندهای زیستی، تاثیر حضور نانوذرات طلا در این محیط را بررسی کرده ایم تا بتوان آن را به عنوان یک محیط مناسب جهت تیمار فوتوگرمایی در نظر گرفت.

۲-۲-۱ شرح آزمایش

۲-۱ آماده سازی نمونه ها

برای آماده سازی نمونه ها در ابتدا از روش لایه نشانی گرمایی استفاده کردیم بدین منظور طلا به ضخامت ۳۰ نانومتر روی توری یک بعدی با تناوب ۷۵۰ نانومتر لایه نشانی شده است. نانوذرات طلا به ابعاد ۵۰ نانومتر با کمک روش کند و سوز^۳ لیزری در محیط آب و با استفاده از هماهنگ اول لیزر YAG به طول موج ۱۰۶۴ نانومتر

^۱ Photo thermal therapy

^۲ Jee Woong Lee

^۳ Man Q. Wang

^۴ Laser ablation in liquids

محیط بافر فسفات به کمک حضور نانوذرات طلا به عنوان محیط جاذب جهت کاربردهای تیمار فوتوگرمایی معرفی شده است. به همین دلیل، بستره ی پلاسمونی نانوتوری طلا در محیط بافر فسفات در حضور غلظت های مختلف نانوذرات طلا مورد تحلیل قرار گرفته و نتایج حاکی از پاسخ چندطول موجی در نمونه با غلظت ۴۰۰ میکرولیتر از نانوذرات تولید شده است. بهره گیری همزمان از پلاسمون های سطحی انتشاری و جایگزیده به این ترتیب می تواند راندمان تیمار فوتوگرمایی در چند طول موج را افزایش دهد.

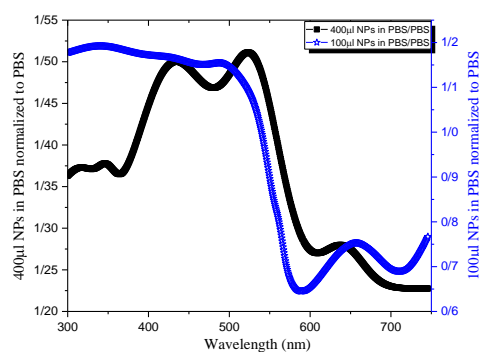
در این آزمایش، پس از طیف سنجی، نمودار شدت بازتابی به ازای هر سه محلول ذکر شده برحسب طول موج رسم شده است.

3- بحث و نتیجه گیری

نمودار طیف بازتابی نمونه های طلا روی توری یک بعدی به ازای زاویه ی ۴۵ درجه در سه محلول و قطبش S در شکل ۳ رسم شده است. همانطور که در این شکل مشاهده می شود، با افزایش غلظت نانوذرات، طول موج تحریکی پلاسمونی نانوذرات طلا به کمک بستره ی توری در طول موج ۵۴۰ نانومتر تشکیل می شود.

مراجع

- [1] Rosa, João Pedro Maurício. "Nanobiophotonics for biomolecular diagnostics." (2013).
- [2] Ilev, Ilko K., Stephen A. Boppart, Stefan Andersson-Engels, Beop-Min Kim, Lev Perelman, and Valery Tuchin. "Introduction to the issue on biophotonics." *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics* 20, no. 2 (2014): 4-7.
- [3] Salata, Oleg V. "Applications of nanoparticles in biology and nanoparticles in biology and medicine." *Journal of nanobiotechnology* 2, no. 1 (2004): 3.
- [4] [www.iitk.ac.in/biomaterialslab/Bacteria Culture_related_Info.pdf](http://www.iitk.ac.in/biomaterialslab/Bacteria_Culture_related_Info.pdf)
- [5] <https://www.protocolsonline.com/recipes/phosphate-buffered-saline-pbs/>
- [6] https://rockland-inc.com/store/Water-and-Molecular-Biology-Solutions-MB-008-O4L_23106.aspx
- [7] Panyala, Nagender Reddy, Eladia María Peña-Méndez, and Josef Havel. "Gold and nano-gold in medicine: overview, toxicology and perspectives." *Journal of Applied Biomedicine (De Gruyter Open)* 7, no. 2 (2009).
- [8] Bodelón, G., Costas, C., Pérez-Juste, J., Pastoriza-Santos, I., & Liz-Marzán, L. M. (2017). Gold nanoparticles for regulation of cell function and behavior. *Nano Today*.
- [9] Eom, K., Im, C., Hwang, S., Eom, S., Kim, T. S., Jeong, H. S., ... & Kim, S. J. (2016). Synergistic combination of near-infrared irradiation and targeted gold nanoheaters for enhanced photothermal neural stimulation. *Biomedical optics express*, 7(4), 1614.
- [10] Lee, J. W., Jung, H., Cho, H. H., Lee, J. H., & Nam, Y. (2018). Gold nanostar-mediated neural activity control using plasmonic photothermal effects. *Biomaterials*, 153, 59-69.
- [11] Wang, M. Q., Xia, N., Wu, X. Y., Hu, N., Zheng, X. L., & Hou, W. S. (2017, May). 980nm infrared neural stimulation of sciatic nerve enhanced by carbon nanoparticles. In *Neural Engineering (NER), 2017 8th International IEEE/EMBS Conference on* (pp. 215-218). IEEE.



شکل ۳: طیف بازتاب نمونه محلول شامل دو غلظت مختلف نانوذرات و نرمال شده به محیط بدون نانوذرات.

در طول موج ۶۴۰ نانومتر، در هر دو نمونه، مد تحریک پلاسمونی بستره ی توری در هر دو غلظت ظاهر شده است که خارج از انتظار نیست. از سوی دیگر، قله ی ظاهر شده در طول موج ۴۰۰ نانومتر که به تنهایی به نانوذرات طلا و یا توری وابسته نیست، را می توان نتیجه ای از برهم نهدی امواج پلاسمون سطحی انتشاری در توری و امواج پلاسمونی جایگزیده در نانوذرات دانست که موجب پاسخ چند طول موجی نمونه با غلظت بیشتر نانوذرات شده است. چرا که این پاسخ به ازای غلظت کمتر نانوذرات ظاهر نشده است.

نتیجه گیری