



بیستمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران
و ششمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
۸ تا ۱۰ بهمن ماه ۱۳۹۲ - دانشگاه صنعتی شیراز



بررسی اثرات پلاسمونیک نانوذرات فلزی در حضور رشته های تک و دوگانه DNA

ناهید فرخاری، احمد مشاعی، مریم نیکخواه و سارا عباسیان

گروه فیزیک^۱ و گروه نانوبیوتکنولوژی^۲، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، بزرگراه جلال آل احمد

چکیده - در این تحقیق جذب رشته های مختلف DNA به نانوذرات کلئیدی طلا و نقره بررسی شده است و طیف پلاسمونیک نانوذرات در حضور رشته های مختلف نوکلئوتید اندازه گیری شد. نشان داده شد که میزان جذب رشته های مختلف DNA به نانوذرات شدیداً به نوع رشته DNA وابسته است و از بین بازهای مختلف DNA، باز نوع A بیشترین اثر چسبندگی و باز نوع G کمترین چسبندگی را به نانوذرات طلا و نقره نشان می دهند. همچنین با افزایش غلظت DNA، جذب DNA به نانوذرات نقره سبب افزایش اثر محافظتی نانوذرات در برابر القای لخته شدگی نمک می شود.

کلید واژه - تشدید پلاسمون سطحی، نانوذرات طلا و نقره، رشته تک و دوگانه DNA

Investigating the plasmonic properties of noble metals nanoparticles in presence of single and double strand DNAs

N. Farkhari^a, A. Moshajj^{a*}, M. Nikkhaah^b, S. Abbasian^a

^aDepartment of Physics, Tarbiat Modares University, Tehran

^bDepartment of Nanobiotechnology, Tarbiat Modares University, Tehran

Abstract: In this paper, we have investigated the adsorption properties of different strands of a DNA to the colloidal nanoparticles. We measured the plasmonic spectrums of the nanoparticles under the presence of different oligonucleotids. It is shown that the quality of the adsorption of different strands of DNAs on the nanoparticles strongly depends on the sequence of the DNAs. Between the different bases of a DNA, the base (A) has the best and the base (G) has the worst attachment to the nanoparticles. It is also shown that with increment of the DNA concentration, the adsorption of the silver nanoparticles to the DNAs increases leading to a more protection of the nanoparticles against salt-induced aggregation.

Keywords: Surface plasmon resonance; Gold and silver nanoparticles; Single and double strand DNAs

۱- مقدمه

نانوذرات فلزی به دلیل تشدید الکترونیهای رسانش آنها که LSPR نامیده می شود خواص اپتیکی منحصر به فردی را از خود نشان می دهند. مهمترین خصوصیت آنها جذب و پراکندگی انتخابی فوتون هاست که در حالت توده دیده نمی شود [۱]. خصوصیت مهم دیگر وجود یک میدان الکتریکی افزایش یافته در نزدیک نانوذره است. شدت و فرکانس پیک LSPR به شکل، سایز و جنس نانوذره و محیط اطراف آن وابسته است [۲]. وابستگی شدید پیک LSPR به محیط اطراف، نانوذرات را برای کاربرد حسگری مناسب می کند [۳]. اینگونه حسگرها به دلیل سادگی، ارزان بودن و حساسیت بالا برای آشکارسازی مولکولهای شیمیایی و زیستی مثل DNA استفاده می شود [۴]. برهم کنش فلز و مولکول هدف می تواند مقاومت نانوذرات را در برابر القای لخته شدگی نمک تغییر دهد که این اثر به صورت یک تغییر در شدت و فرکانس پیک LSPR مشاهده می شود. اینگونه حسگرها رو عمدتاً حسگرهای تجمعی می نامند. از آنجائیکه رنگ محلول تغییر می کند این حسگرها را حسگرهای رنگ سنجی نیز می نامند.

پیک پلاسمونیک نانوذرات فلزی در محدوده UV-Vis می باشد. افزودن نمک به محلول منجر به لخته شدن نانوذرات فلزی می شود که متناظر با کاهش شدت پیک پلاسمونیک و پهن شدگی آن می شود. جذب الیگونوکلوئوتید روی نانوذرات باعث تغییر دادن مقاومت نانوذرات در برابر القای لخته شدگی نمک می شود [۵] که این اثر به صورت تغییر در شدت و پیک LSPR آشکار می گردد.

در این تحقیق تمایل جذب رشته های تک و دوگانه DNA به نانوذرات کلئیدی طلا و نقره بررسی شده است. با اندازه گیری پیک پلاسمونیک نانوذرات نشان داده شده است که تمایل جذب رشته های مختلف DNA شدیداً به نوع رشته وابسته است. برهم کنش نانوذرات با توالی های مختلف از یک نوع باز بررسی شد و نشان داده شد که باز نوع A بیشترین جذب و در نتیجه بهترین اثر پوششی را دارد و در مرتبه دوم باز نوع G بیشترین اثر حفاظتی را دارد. و در نتیجه خواص حفاظتی متفاوت رشته های مختلف DNA توجیه شد.

۲- روش تهیه مقاله

نانوذرات نقره مطابق با روش کرایتون^۱ سنتز می شود [۶]. در این روش NaBH_4 به عنوان کاهنده AgNO_3 و تری سدیم سیترات به عنوان پایدار کننده استفاده می شود. به ۹۷ میلی لیتر آب که در حمام یخ قرار گرفته است ۱ میلی لیتر AgNO_3 با غلظت ۱۰ میلی مولار اضافه می کنیم. سپس ۱ میلی لیتر تری سدیم سیترات ۳۰ میلی مولار و در انتها ۱ میلی لیتر از NaBH_4 با غلظت ۵ میلی مولار به محلول اضافه می شود. محلول نهایی به رنگ زرد روشن خواهد بود.

نانوذرات طلا بوسیله کاهش HAuCl_4 با تری سدیم سیترات سنتز می شوند [۷]. به ۱۰۰ میلی لیتر از محلول HAuCl_4 با غلظت ۱ میلی مولار همزمان با هم خوردن گرما می دهیم تا به نقطه جوش برسد. سپس ۱۰ میلی لیتر از تری سدیم سیترات با غلظت ۳۸/۸ میلی مولار به سرعت به محلول اضافه می شود. رنگ محلول از زرد به سیاه و سپس قرمز پر رنگ تغییر می کند. پس از تغییر رنگ محلول برای ۱۵ دقیقه گرما می بیند سپس حرارت قطع شده و همزمان با هم خوردن به دمای محیط می رسد.

برای بررسی اثر جذب رشته های مختلف DNA به نانوذرات در حضور نمک، طیف UV-Vis نانوذرات کلئیدی خالص و نانوذرات پس از افزودن محلول نمک و بافر و در حضور و غیاب رشته های مختلف DNA اندازه گیری شد. رشته الیگونوکلوئوتید سنتز شده و مکمل آن در جدول ۱ نشان داده شده است.

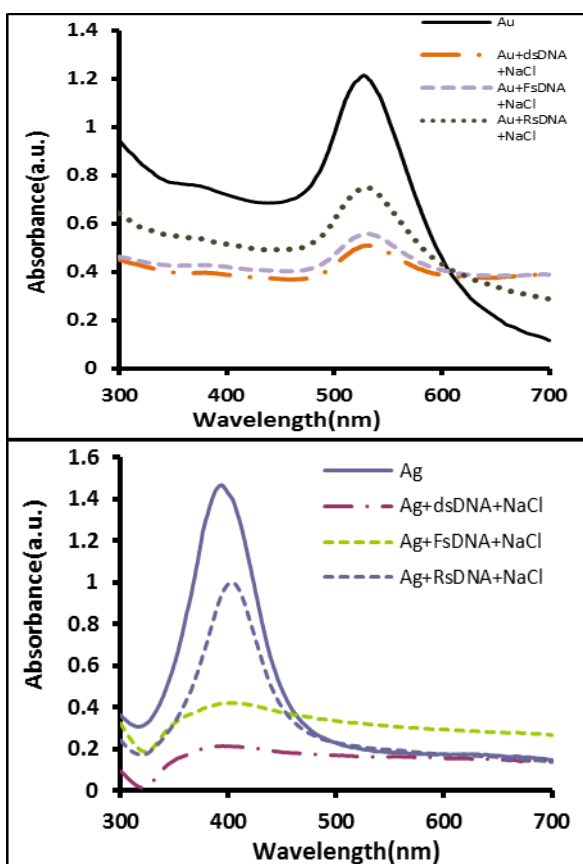
جدول ۱- ساختار RssDNA و FssDNA (Has-mir-96) استفاده شده در آزمایش ها

DNA Type	Sequences	length
R1ssDNA	5'-AGC AAA AAT GTG CTA GTG CCA AA-3'	23 mer
F1ssDNA	5'-TTT GGC ACT AGC ACA TTT TTG CT-3'	23 mer

¹ Creighton

حفاظتی ندارد و پس از افزودن نمک نانوذرات لخته شده و پیک پلاسمونیک آن از بین می رود.

در شکل ۳ با افزایش غلظت رشته های RssDNA و FssDNA در محلول می بینیم که نمودار مربوط به رشته RssDNA به صورت یک خط شیب دار می باشد که نشان دهنده این است که با افزایش غلظت این رشته محافظت نانوذرات در برابر القای لخته شدگی نمک افزایش یافته و شدت پیک بالاتر می رود. در حالیکه منحنی مربوط به افزایش غلظت رشته های FssDNA و dssDNA به صورت یک خط بدون شیب بوده و افزایش غلظت این دو رشته تاثیری در شدت پیک پلاسمونیک ندارد.



شکل ۱ - طیف جذب نانوذرات کلئیدی طلا و نقره در حضور نمک و رشته های تکی DNA (RssDNA, FssDNA) و رشته دوگانه (dssDNA)

میزان الیگونوکلئوتید در محلول های کلئیدی نقره و طلا به ترتیب برابر با ۴/۷ میکرو مولار و ۳/۳ میکرو مولار می باشد. همچنین در محلول نقره میزان نمک NaCl و فسفات بافر ۱۷۰ میلی مولار و ۵/۵ میلی مولار می باشد. آزمایش ها با کلئید طلا شامل ۵۰۰ میکرولیتر کلئید طلا و ۲۵۰ میکرولیتر فسفات بافر ۱۰ میلی مولار که شامل نمک ۰/۲ مولار می باشد.

۳- بحث و نتایج

در شکل ۱ پیک پلاسمونیک کلئیدی نانوذرات طلا و نقره خالص، طیف نانوذرات پس از افزودن رشته RssDNA و رشته مکمل آن FssDNA و رشته دوگانه که حاصل پیوند زنی این دو رشته می باشد، ثبت شده است. افزودن نمک به کلئید منجر به لخته شدگی کلئید می شود. حضور هر رشته DNA اثر مقاومتی متفاوتی را در برابر لخته شدگی نمک از خود نشان می دهد. برای داشتن دیدگاه بهتری از اندرکنش بین نانوذرات فلزی و رشته های DNA، طیف نانو ذرات طلا و نقره را در حضور نمک و بافر و رشته DNA با توالی ۲۲ تایی از یک نوع باز A, T, C و G بررسی شده است. نتایج به دست آمده از شکل ۲ نشان می دهند که رشته A بهترین چسبندگی و بیشترین اثر محافظتی، در مرتبه دوم رشته C و T و در نهایت رشته G کمترین چسبندگی و کمترین اثر محافظتی را در برابر القای لخته شدگی نمک دارد. از مقایسه شکل های مربوط به کلئیدهای طلا و نقره دیده می شود که نتایج برای طلا و نقره یکسان است و تنها تفاوت در شدت پیک LSPR و نسبت نرخ جذب در محل پیک به زمینه می باشد.

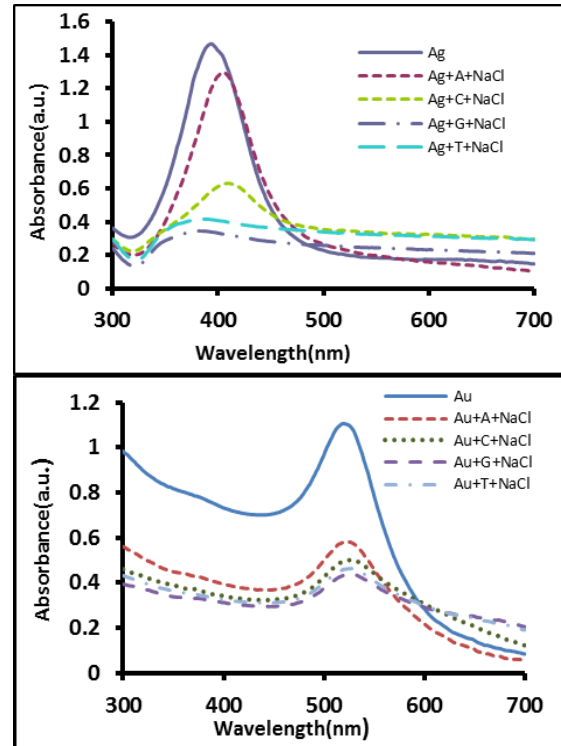
جدول ۲ درصد مشارکت بازهای مختلف را در رشته های RssDNA و FssDNA نشان می دهد. از اطلاعات این جدول دیده می شود که باز نوع A بیشترین سهم را در رشته RssDNA و باز مکمل آن، باز نوع T، بیشترین سهم را در رشته FssDNA دارد. مطابق با این نتایج انتظار می رود که علاوه بر اینکه رشته های RssDNA و FssDNA هر دو رشته تکی محسوب شده اما اثر پوششی RssDNA متفاوت از FssDNA باشد و برای رشته RssDNA یک اثر حفاظتی خوب در برابر لخته شدگی نمک دیده شود در صورتیکه رشته FssDNA اثر

۴- نتیجه گیری

در این مقاله با سنتز نانوذرات طلا و نقره و اندازه گیری طیف پلاسمونیک آنها، اثر حفاظتی رشته های مختلف DNA در برابر القای لخته شدگی نمک بررسی شد. رشته RssDNA بیشترین اثر حفاظتی را دارد و FssDNA با وجود تک رشته بودن تقریباً بدون اثر پوششی بوده و مانند رشته dsDNA رفتار می کند. نتایج نشان می دهند که از بین چهار نوع باز که در ساختار DNA وجود دارد باز نوع A بیشترین اثر حفاظتی و باز نوع G کمترین اثر حفاظتی را دارد. بنابراین ساختار بازی DNA شدیداً در میزان چسبندگی، اثر حفاظتی و مقاومت DNA در برابر القای لخته شدگی نمک نقش داشته و می توان آن را پیش بینی کرد. و در نهایت نشان داده شد که غلظت DNA بر میزان جذب آنها توسط نانوذرات تاثیر گذار است.

مراجع

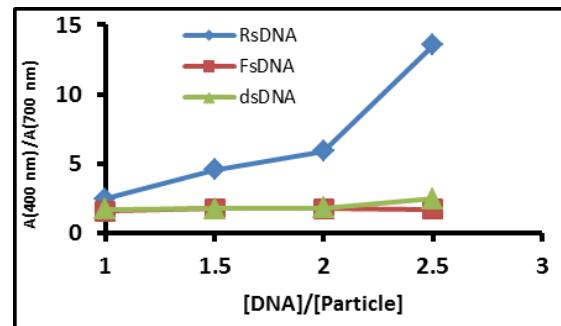
- [1] M. Westphalen, U. Kreibig, J. Rostalski, H. Lüth, D. Meissner, "Metal cluster enhanced organic solar cells," Sol. Energy Mater. Sol. Cells, p.97-105, 2000.
- [2] T. Luo, L. Pang, W. Zhang, M. Chen, "Localized surface plasmonic resonant based on bowtie type metallic nanostructure," in SPIE BiOS, p. 823400-823400, 2012.
- [3] X. Lang, L. Qian, P. Guan, J. Zi, M. Chen, "Localized surface plasmon resonance of nanoporous gold," Appl. Phys. Lett, p. 93701, 2011.
- [4] J. Ling, Y. Sang, C. Z. Huang, "Visual colorimetric detection of berberine hydrochloride with silver nanoparticles," J. Pharm. Biomed. Anal., p. 860-864, 2008.
- [5] L. Wang, J. Zhang, X. Wang, Q. Huang, D. Pan, S. Song, and C. Fan, "Gold nanoparticle based optical probes for target-responsive DNA structures," Gold Bull., p. 37-41, 2008.
- [6] R. Lévy, Z. Wang, L. Duchesne, R. C. Doty, A. I. Cooper, M. Brust, D. G. Fernig, "A Generic Approach to Monofunctionalized Protein-Like Gold Nanoparticles Based on Immobilized Metal Ion Affinity Chromatography," ChemBioChem, p. 592-594, 2006.
- [7] M. D. Musick, C. D. Keating, M. H. Keefe, M. J. Natan, "Stepwise construction of conductive Au colloid multilayers from solution," Chem. Mater., p. 1499-1501, 1997.



شکل ۲- طیف جذب نانوذرات طلا و نقره در حضور رشته های حاوی یک نوع تک باز A, C, G, T و نمک

جدول ۲- درصد مشارکت بازهای مختلف در رشته DNA

FssDNA	RssDNA	
17.4%	43.5%	A
43.5%	17.4%	T
21.7%	17.4%	C
17.4%	21.7%	G



شکل ۳- نرخ جذب در طول موج ۴۰۰ نانومتر به جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر برای کلونید نقره بر حسب غلظت های مختلف رشته های تکی و دوگانه