بیست و چهارمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک و
دهمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
۱۰ الی ۱۲ بهمن ۹۶ - دانشگاه شهرکرد
24th Iranian Conference on Optics and Photonics (ICOP 2018) and
9th Iranian Conference on Photonics Engineering and Technology (ICPET 2018)
Jan 30 - Feb 1 , 2018 - Shahrekord University

اندازه گیری نیروی وارد بر ذره نانومتری طلا در عبور از غشای آبدانک

رایحه رضایی[۱]، یونس فرهنگی باروجی[۲] و فائقه حاجی‌زاده[۱]

دانشکده فیزیک دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان[۱]
موسسه نیلز بور، دانشگاه کوپنهاگ، دانمارک[۲]

آبدانک‌ها یا غشاءهای فسفولیپیدی مصنوعی را به دلیل اندازه مناسب و شباهت ترکیبات سازنده‌شان، می‌توان به عنوان مدل مناسبی از غشاء سلول زنده در نظر گرفت. انبرک نوری ابزاری مناسب برای مطالعه‌ی غشای سلول‌های زیستی است که در این نوع مطالعات معمولا از ذرات دی‌الکتریک در ابعاد میکرومتری به عنوان دستگیره استفاده می‌شود. اما برای مطالعات درون سلولی، بهتر است از ذرات کوچکتر و در ابعاد نانومتر استفاده شود. نانوذرات فلزی مانند طلا، به دلیل اندازه‌ی مناسب و خاصیت زیست‌سازگاری، ابزار مناسبی برای بررسی‌های درون سلولی هستند. در فرآیند رایج ساخت آبدانک، امکان تولید آبدانک‌هایی از مرتبه‌ی چند ده نانومتر نیز وجود دارد که با روش میکروسکوپی نوری معمولی به خوبی قابل مشاهده نیستند. در این مقاله ابتدا برای بهبود کیفیت تصویر میکروسکوپی، با برچسب‌گذاری آبدانک‌ها توسط مولکول‌های فلوئورفور و استفاده از نوردهی فلوئورسانس، توانستیم آبدانک‌هایی با اندازه‌های زیر یک میکرومتر را نیز مشاهده کنیم. سپس با تله‌اندازی نانوذرات طلای ۱۰۰ نانومتری و ورود آن به غشای آبدانک، نیروی اعمال شده به غشاء را مورد مطالعه قرار دادیم.

کلید واژه- آبدانک، انبرک نوری، میکروسکوپی فلوئورسانسی، نانوذرات فلزی

Measurement of force needed to inject a gold nanoparticle into a vesicle membrane

Rayehe Rezaei[1] , Younes Farhangi Barooji[2] , and Faegheh hajizadeh[1]

[1]Department of physics, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences (IASBS), Zanjan

[2]Niels Bohr Institute, University of Copenhagen, Denmark

Vesicles or artificial membranes are very similar to the cell membrane in size and structure, so it provides a good condition to study membrane's response in presence of external agents in the scale of real cells. Optical tweezers is a well-known technique which is used to study cell's membrane. Usually, in these studies, dielectric micrometric particles are used as a handle. However, for intracellular study, it is better to use nanometric particles. Metallic nanoparticles are a good biocompatible candidate to be used for intracellular manipulation because of their size and chemical properties. Usually, in the process of vesicle preparation, nanometric vesicles are made and they are not clearly visible in the usual optical microscopy method. In this article to measure the force needed to inject a gold nanoparticle into a vesicle membrane, at the first, we used fluorescence microscopy to observe nanovesicles. Then, we trapped a 100 nm Au nanoparticle and is entered into the vesicle to measure the force.

Keywords: Fluorescent microscopy, Optical tweezers,Vesicle, Trapped metallic nanoparticles

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-05]

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد

۱. مقدمه

غشاء سلول از مولکول‌های لیپیدی و پروتئین‌ها ساخته شده است، که با برهمکنش غیرکوالانسی کنار هم نگه داشته می‌شوند. آبدانک یک غشاء دولایه‌ای ساخته شده از مولکول‌های فسفولیپیدی است که اندازه آن در ابعاد چند ده نانومتر تا چند صد میکرومتر است. آبدانک‌های غول پیکر در اندازه‌هایی به قطر ۵ تا ۳۰۰ میکرومتر مدل سلولی خوبی برای انجام آزمایش‌های زیستی هستند [۱]. ایجاد یک تصویر میکروسکوپی مناسب در بررسی‌هایی مانند، هم‌جوشی سلول‌ها، مطالعه‌ی دارورسانی هدفمند، بررسی رفتار و تغییر شکل مولکول‌های لیپیدی اهمیت زیادی دارد. بنابراین در آزمایشگاه‌های زیستی از روش‌های میکروسکوپی متفاوت، جهت افزایش نمایانی و کیفیت تصویر استفاده می‌شود.

برای اعمال نیرو و دستکاری‌های زیستی در ابعاد درون سلولی باید از ابزاری مناسب استفاده کرد. انبرک نوری یک ابزار کار آمد برای نگه داشتن ذره در یک موقعیت ثابت است و قابلیت اندازه‌گیری نیرو و فاصله در ابعاد پیکو نیوتون و نانومتر را دارد [۲]. در دو دهه‌ی اخیر آزمایش‌های زیادی انجام شده که طی آن با اندازه‌گیری نیروی تله، اطلاعاتی از خواص فیزیکی غشاء به دست آمده است. برای مثال، اخیرا در مطالعات زیستی و دستکاری سلولی با تله‌اندازی ذرات میکرومتری دی‌الکتریک و چسباندن آن‌ها به اجزای زیستی، از آن‌ها به عنوان دستگیره‌ای جهت نگه‌داشتن سلول و یا کشیدن دنباله از غشاء استفاده می‌شود. اما برای مطالعات درون سلولی بهتر است از ذرات زیست سازگار و کوچکتر در ابعاد نانومتر بهره برد تا ادامه‌ی حیات موجود زنده با اختلال روبه‌رو نشود. اندازه و جنس نانوذرات طلا، سبب شده ابزار مناسبی برای ورود به سلول زنده شناخته شود. نکته‌ی دیگر اینکه تابش مناسب نور به این ذرات فلزی، افزایش دما و انتقال گرمای موضعی به مجاورت نانو ذره را نتیجه خواهد داد [۳]. یک گروه تحقیقاتی از این ویژگی جهت از بین بردن سلول‌های سرطانی بهره بردند [۴]. تابش گرما از نانو ذره‌ی طلا در تله‌ی نوری می‌تواند گرمای لازم برای انبساط غشاء و ترکیب دو سلول را فراهم آورد [۵].

در این مقاله، آبدانک‌هایی با برچسب فلوئورسانس تولید شد تا با استفاده از روش میکروسکوپی فلوئورسانس، غشاء و همچنین آبدانک‌های بسیاز ریز از مرتبه‌ی چند ده تا چند صد نانومتر که لیپوزوم نام دارند را به خوبی مشاهده کنیم. در ادامه با تله‌اندازی نانوذارت طلای ۱۰۰ نانومتری و وارد کردن آن‌ها به غشا آبدانک توسط انبرک نوری، نیروی اعمال شده به غشا را مورد مطالعه قرار دادیم.

۲. آزمایش

اساس کار انبرک نوری بر پایه‌ی نور لیزر کانونی شده در نمونه است. در چیدمان این آزمایش لیزر Nd:Yag با طول موج ۱۰۶۴ نانومتر، توسط عدسی شیئی با گشودگی عددی ۱/۳ و بزرگنمایی ۱۰۰ برابر، بر روی نمونه کانونی می‌شود. جابه‌جایی نمونه توسط دستگاه پیزوالکتریک با دقت چند ده نانومتری انجام می‌گیرد. پراش نور لیزر عبوری از نمونه، توسط عدسی چگالنده میکروسکوپ، جمع شده و پس از برخورد به یک آینه‌ی دورنگی به سمت فوتودیود چهارتایی هدایت می‌شود. ثبت تغییرات ولتاژ ناشی از افت و خیز ذره در تله نوری توسط فوتودیود، اولین گام جهت اندازه‌گیری نیرو است. اطلاعات بیشتر در مورد چیدمان آزمایش را می توان در مرجع [۶] یافت.

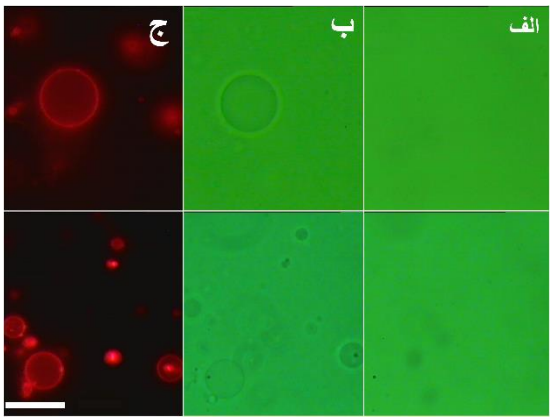
برای مشاهده‌ی نمونه‌های زیستی که اندازه‌هایی از مرتبه‌ی میکرومتر و کوچتر دارند، از روش‌هایی مانند، میکروسکوپی تباین فاز و میکروسکوپی فلوئورسانس استفاده می‌شود. در میکروسکوپی فلوئورسانس، بسته به اینکه ماده فلوئورفور چه طول موجی را جذب و بازتاب کند، فیلترها و آینه‌های متفاوتی در مسیر نوردهی و تصویرسازی، به‌کار می‌روند [۷]. ما در این آزمایش از ماده‌ی فلوئورفور Texas Red DHPE استفاده کردیم. طول موج برانگیختگی این ماده ۵۸۳ نانومتر و طول موج تابشی آن ۶۰۱ نانومتر است. این ماده از شرکت Invitrogenخریداری شد. در این آزمایش آبدانک‌هایی با ۰/۳ درصد Texas Red تولید شد. در این مرحله آبدانک‌ها با استفاده از مولکول‌های لیپیدی PC از روش الکتروفرمیشن تولید شدند [۸].

شکل ۱ تصاویر آبدانک با برچسب فلوئورسانس را که در آزمایشگاه انبرک نوری دانشگاه تحصیلات تکمیلی زنجان تولید شده است، نشان می‌دهد. در این شکل نمایانی تصویر در سه روش میکروسکوپی نوری متفاوت میدان روشن، تباین فازی و فلوئورسانسی مقایسه می‌شوند. اساس کار میکروسکوپی میدان روشن، همچون میکروسکوپی نوری

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-05]

معمولی است، اما در میکروسکوپی تباین فازی، از یک حلقه‌ی فازی قبل از چگالنده‌ی نوری و یک عدسی شیئی فازی استفاده می‌شود. رنگ سبز در تصویر میکروسکوپی میدان روشن و تباین فازی ناشی از حضور یک فیلتر سبز در مسیر نوردهی است. مطابق شکل ۱ در میکروسکوپی فلوئورسانس غشا آبدانک با کیفیت بهتری نمایش داده می‌شود. همچنین آبدانک‌های بسیار کوچک از مرتبه‌ی چند ده تا چند صد نانومتر، که لیپوزوم نام دارند [۸] و نمونه‌های ریز آن‌ها در میکروسکوپی تباین فازی قابل دیدن نیستند در میکروسکوپی فلوئورسانسی به وضوح دیده می‌شوند. به تله افتادن این لیپوزوم‌ها به همراه نانوذرات طلا، سبب ایجاد خطا در اندازه‌گیری نیرو می‌شود، به همین دلیل استفاده از میکروسکوپی فلوئورسانسی کمک کرد که تا حدودی از عدم حضور ذرات مزاحم در تله‌ی نوری مطمئن شویم. در صورت استفاده از روشی غیر از میکروسکوپی فلوئورسانسی، انجام آزمایش‌های اینچنینی با خطای زیادی همراه بود. در این بررسی از نانوذرات طلای ۱۰۰ نانومتری در تله نوری استفاده کردیم، تا نیروی لازم برای ورود یک نانوذره به غشاء را اندازه‌گیری کنیم. به‌منظور دستکاری آبدانک با استفاده از انبرک نوری، باید آبدانک را در محلی ثابت چسباند تا در صورت نزدیک شدن لیزر، به سمت آن کشیده نشود. به همین منظور برای رقیق کردن نمونه، از محلول قطبی متفاوت و با وزن مولکولی سبک‌تر نسبت به محلول قطبی درون آبدانک استفاده کردیم، تا آبدانک‌ها در محفظه‌ی نمونه ته‌نشین شوند. محلول قطبی که جهت تورم‌دهی در مرحله تولید آبدانک استفاده می‌شد، ساکاروز با وزن مولکولی $\frac{gr}{mol}$ ۳۴۲/۲۷۹ و غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار بود. سوربیتول با وزن $\frac{gr}{mol}$ ۱۸۲/۱۷۰ (و غلظتی مشابه، جهت ایجاد تعادل در فشار اسمزی) گزینه‌ی مناسبی بود که برای محلول قطبی محیط بیرون آبدانک به کار برده شد. برای چسباندن آبدانک از نمک PBS استفاده شد. در مرحله‌ی بعدی در محیطی که حاوی نانوذرات طلا و آبدانک است، بعد از



شکل 1: تصویر برداری از دو نمونه آبدانک خاص(هر کدام در یک سطر) با سه روش میکروسکوپی الف) میدان روشن، ب) تباین فازی و ج) فلوئورسانس. همانطور که در شکل نیز مشخص است روش میکروسکوپی میدان روشن برای مشاهده‌ی این نمونه‌ی زیستی مناسب نیست. در روش تباین فازی آبدانک تا حد خوبی نمایان می‌شود. اما در روش میکروسکوپی فلوئورسانسی علاوه بر آبدانک‌های کوچک، لیپوزوم‌ها نیز قابل مشاهده هستند. مقیاس خطی در این شکل ۱۰ میکرومتر است.

پیدا کردن آبدانک مناسب و قرار دادن آن در نزدیکی کانون لیزر، مدتی زمان لازم است تا نانوذره‌ای تله‌اندازی شود. سپس با دستگاه پیزوالکتریک این ذره را به داخل آبدانک برده و طی این جابه‌جایی به صورت هم‌زمان با یک برنامه‌ی نوشته شده در نرم افزار Labview با نرخ ۲۲ KHz، افت و خیز ذره از محل تعادل در تله‌ی نوری را به شکل تغییرات ولتاژ ذخیره کردیم. جابه‌جایی پیزو، بسته به اندازه آبدانک از ۱۰ تا ۲۵ میکرومتر، متغیر بود و با سرعت ثابت $\frac{\mu m}{s}$ ۰/۲ صورت گرفت. داده‌هایی که با ماهیت تغییرات ولتاژ (V) ذخیره شده بودند، با استفاده از روابطی که در ادامه توضیح داده می‌شود، به نیرو تبدیل شدند. در انبرک نوری، تله‌ی نوری مانند یک فنر عمل می‌کند. زمانی که نیروی خارجی به ذره درون تله وارد می‌شود، ذره مقداری از محل تعادل خود جابه جا شده و تله‌ی نوری نیرویی بازگرداننده متناسب با اندازه جابه‌جایی ذره از مرکز تله، به آن وارد می‌کند که با رابطه $f = -k.x$ قابل محاسبه است x جابه‌جایی ذره از تله و k ضریب سختی تله‌ی نوری است که از روابط زیر بدست می‌آید:

$$k = 2\pi\gamma f_c$$

از طرفی میزان جابه‌جایی در تله‌ی نوری با ضریب β به شکل $x = \beta \times V$ به ولتاژ مربوط می‌شود. γ ضریب اصطکاک و f_c فرکانس گوشه‌ی ذره در تله است که با برنامه‌ای در نرم افزار Matlab ، برای هر ذره‌ی خاص، به

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد

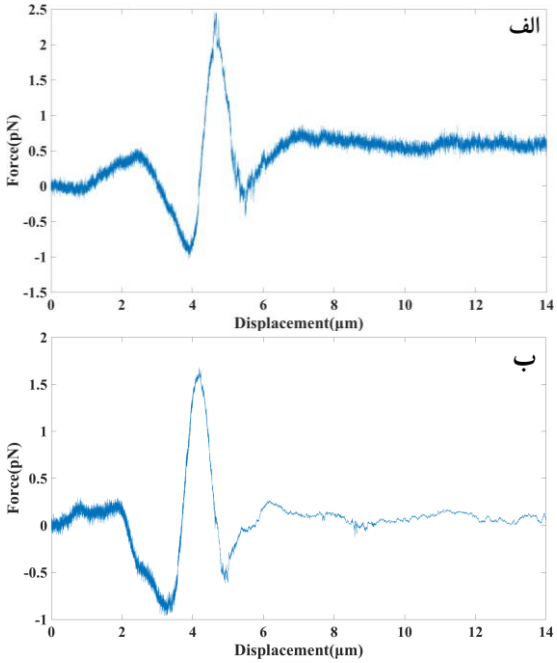
[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-05]

صورت جداگانه محاسبه می‌شود.

$$\gamma = 6\pi\eta a \quad \text{و} \quad \beta = \sqrt{\frac{K_B T}{\gamma} D_v}.$$

در این رابطه $\eta = 10^{-9}\frac{pN.s}{nm^2}$ گرانروی سیال(آب)، a شعاع ذره به اندازه‌ی ۵۰ نانومتر، $K_B T = 4pN.nm$ و D_v ضریب پخش ذره است.

ما بعد از تله‌اندازی نانوذره و ورود آن به درون آبدانک و محاسبه‌ی نیرو، نمودار نیرو برحسب مکان را رسم کردیم.



شکل 2: الف و ب) نمودار نیرو بر حسب جابه‌جایی، برای ورود نانوذره‌ی ۱۰۰ نانومتری تله اندازی شده به آبدانک برای دو آزمایش متفاوت. توان درون نمونه ۳۰ میلی‌وات بود.

شکل۲ نمودار نیرو_جابه‌جایی را برای ورود دو نانوذره‌ی طلای ۱۰۰ نانومتری متفاوت، به داخل دو آبدانک مختلف نشان می‌دهد. قطر آبدانک‌ها در حدود ۲۰ میکرومتر بود. رفتار نیرو در هر دو آزمایش از یک الگو پیروی می‌کند. در این آزمایش توان لیزر درون نمونه ۳۰ میلی‌وات تنظیم شده بود. تعیین دما و میزان حرارت تولید شده در ابعاد نانومتری، کار آسانی نیست. طبق مشاهدات ما این میزان توان مصرفی، سبب تغییر شکل اساسی، ترکیدن و یا تخریب آبدانک نشد. ما انتظار داریم لحظه‌ی ورود نانوذره به غشا، از طرف غشا، نیرویی به نانوذره‌ی تله اندازی شده وارد شود. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، این افزایش نیرو از مرتبه‌ی ۲ پیکو نیوتن است. اما قبل از ورود نانوذره به غشاء با نیرویی منفی مواجه می‌شویم که احتمالا ناشی از کشیده شدن سطح غشاء به سمت تله‌نوری و افت و خیز غشاء در تله است. نوسانات نیرو در شکل ۲ب از مکان ۵ میکرومتر به بعد کاهش یافته است. عواملی از قبیل تفاوت گرانروی سیال داخل و خارج آبدانک و کشیده شدن دنباله‌ای از غشاء، می‌تواند در کاهش افت و خیز ذره در تله و در نتیجه، کاهش نوسانات نیرو موثر باشد، که برای بدست آوردن نتیجه‌ای دقیق‌تر، این مساله در دست بررسی است.

۳. نتیجه‌گیری

ما در این آزمایش از طریق ساخت آبدانک با برچسب فلوئورفور و به‌کار بردن میکروسکوپی فلوئورسانسی، نمایانی تصویر را افزایش داده و سعی کردیم با مشاهده‌ی لیپوزوم‌های ریز از عدم حضور آنها در تله‌ی نوری اطمینان حاصل کنیم و خطای این گونه بررسی‌ها را کاهش دهیم. از طرفی با وارد کردن نانوذره‌ی طلای ۱۰۰ نانومتری به دورن آبدانک، نیروی لازم برای عبور نانوذره‌ی فلزی از غشاء را مورد مطالعه قرار دادیم. نتایج اولیه‌ی این آزمایش، افزایش نیرو از مرتبه‌ی ۱-۲ پیکو نیوتن را نشان می‌دهد.

سپاسگزاری

با تشکر از مهسا سلامی که در مراحل مهم اولیه آزمایش کمک شایانی کردند.

مراجع

[1] Heimburg, T. R. (2007). Thermal biophysics of membranes.
[2] Hajizadeh, F., & Reihani, S. N. S. (2010). Optimized optical trapping of gold nanoparticles. *Optics express*, *18*(2), 551-559.
[3] Kyrsting, A., Bendix, P. M., Stamou, D. G., & Oddershede, L. B. (2010). Heat profiling of three-dimensionally optically trapped gold nanoparticles using vesicle cargo release. *Nano letters*, *11*(2), 888-892.
[4] Li, M., Lohmuller, T., & Feldmann, J. (2014). Optical injection of gold nanoparticles into living cells. *Nano letters*, *15*(1), 770-775.
[5] Rørvig-Lund, A., Bahadori, A., Semsey, S., Bendix, P. M., & Oddershede, L. B. (2015). Vesicle fusion triggered by optically heated gold nanoparticles. *Nano letters*, *15*(6), 4183-4188.
[6] Samadi, A., & Reihani, N. S. (2010). Optimal beam diameter for optical tweezers. *Optics letters*, *35*(10), 1494-1496.
[7] Murphy, D. B. (2002). Fundamentals of light microscopy and electronic imaging. John Wiley & Sons.
[8] Angelova, M. I., & Dimitrov, D. S. (1986). Liposome electroformation. *Faraday discussions of the Chemical Society*, *81*, 303-311.

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-05]