



بیست و پنجمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران و یازدهمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. ۱۱-۹ بهمن ۱۳۹۷



## تأثیر نانوذرات طلا بر رفتار خطی و غیر خطی سلول های بدخیم پستان رده ی سلولی mda-mb-231

سیده سبا موسوی فرد<sup>۱</sup>، بهاره خاکسار جلالی<sup>۱</sup>، سمیه سلمانی شیک<sup>۱،۲</sup>، محمد حسین مجلس آرا<sup>۱،۳</sup>، محمد نبیونی<sup>۳</sup>

۱ آزمایشگاه فوتونیک، دانشکده فیزیک، دانشگاه خوارزمی، کرج

۲ پژوهشکده علوم کاربردی، دانشگاه خوارزمی، کرج

۳ گروه زیست سلولی مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران

چکیده- در این مقاله خواص اپتیک خطی و غیر خطی سلول های سرطان سینه ی انسان رده ی سلولی mda-mb-231 بررسی شده است. در ابتدا سلول ها با سه غلظت متفاوت نانوذرات کروی طلا تیمار شدند سپس در چیدمان زد-اسکن قرار گرفتند، نتایج نشان داد که جذب خطی و ضریب شکست غیرخطی آن ها در حضور نانو ذرات طلا افزایش می یابد.

کلیدواژه- سرطان سینه، روش Z-Scan، ضریب شکست غیر خطی، ضریب جذب، نانوذره طلا

## The effect of gold nanoparticles on the linear and nonlinear behavior of malignant breast cancer of mda-mb-231 cell line

Seyedeh Saba Mousavifard<sup>1</sup>, Bahareh Khaksar Jalali<sup>1</sup>, Somayeh Salmani Shik<sup>1,2</sup>, Mohammad Hossein Majles Ara<sup>1,2</sup>, Mohammad Nabiuni<sup>3</sup>

1 Photonic lab, Department of Physics, Kharazmi University, Karaj, Iran

2 Applied Sciences Research Center, Kharazmi University, Karaj, Iran

3 Department of Cell and Molecular, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

**Abstract-** In this paper, the linear and nonlinear optical characteristics of human breast cells of the mda-mb-231 cell line, have been investigated. At first, the cells were treated by three different concentrations with spherical gold nanoparticles, then they were placed in a Z-Scan Setup. The results showed that their linear absorption and nonlinear refractive index increased in the presence of gold nanoparticles.

**Keywords:** Absorption coefficient, Breast cancer, Gold nanoparticle, Nonlinear refractive index, Z-Scan Technique

## مقدمه

سرطان پستان رایج ترین سرطان در میان زنان است و تقریباً ۱/۳ از کل سرطان های موجود در زنان را تشکیل می دهد و بعد از سرطان ریه نیز شایع ترین سرطان در جهان می باشد [۱]. بر اساس آمار های ایران، در کشور ما از هر ۱۵-۱۰ زن، احتمال ابتلای یک زن به سرطان پستان وجود دارد و سن بروز این سرطان در زنان ایران یک دهه کمتر از زنان کشور های توسعه یافته است [۲]. در سال های گذشته شاهد پیشرفت سریع فناوری نانو در حوزه ی پزشکی بوده ایم. و در این میان نانوذرات طلا با خواص نوری منحصر به فرد، و با اندازه ی مناسب در زیست شناسی مولکولی و پزشکی بسیار مورد توجه و استفاده بوده اند. از طرفی در مقیاس نانو، مواد ویژگی های نوری، الکترونیکی و خواص مغناطیسی ویژه ای از خود نشان می دهند که در مقیاس بزرگ دیده نمی شود. ترکیب این ویژگی های منحصر به فرد با اندازه ی مناسب علت ورود نانوساختارها به زیست شناسی است. نانوذرات کروی طلا به دلیل سمی نبودن، پایداری شیمیایی، زیست سازگار بودن و قابلیت سنتز آسان نسبت به سایر اشکال نانو ذرات طلا (قفسه ای، میله ای، هسته پوسته و ... ) بیشترین بررسی ها را در این زمینه به خود اختصاص داده اند [۳و۴].

از این رو در این مقاله از نانوذره ی کروی طلا با اندازه ی 20 nm استفاده نموده ایم، لازم به ذکر است که هدف نهایی از انجام این کار درمان سرطان سینه با استفاده از نانوذرات طلا می باشد لذا در این راستا نیازمند دانستن اطلاعات اپتیکی نظیر میزان جذب نور و اندازه گیری ضریب شکست غیر خطی در سلول سرطانی در حضور نانو ذرات طلا هستیم.

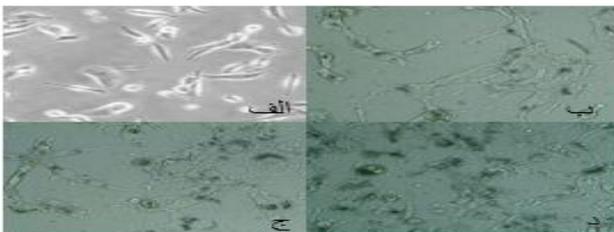
یکی از روش های متداول برای تشخیص خواص اپتیکی مواد استفاده از روش Z-Scan است که در این مقاله با

استفاده از این تکنیک ویژگی های اپتیکی سلول های سرطان رده ی سلولی mda-mb-۲۳۱، شامل ۰ (کنترل)، ۲۵، ۵۰ و  $100 \mu\text{g/ml}$  از نانو ذرات طلا مورد مطالعه قرار گرفته است.

## مواد و روش ها

### آماده سازی نمونه های سلولی:

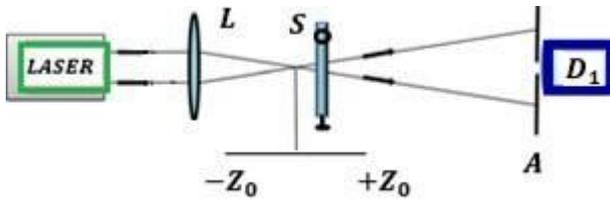
در این مقاله از سلول های سرطانی پستان نمونه ی انسانی در رده ی سلولی mda-mb-۲۳۱ استفاده شده است. رده ی سلولی mda-mb-۲۳۱ از بانک سلولی مرکز انستیتو پاستور خریداری شد. سلول های سرطانی در محیط کشت کامل شده ی DMEM (محیط مغذی و مناسب برای رشد سلول ها) در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه ی سانتیگراد و شرایط ۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی اکسید کربن نگهداری شدند. پس از آن از یک پلیت شش خانه مناسب تیمار کردن استفاده کردیم و در داخل هر چاهک از ظرف (پلیت) شش خانه تیغه های شیشه ای ضد عفونی شده (لامل استریل) قرار دادیم. سپس سلول ها شمارش شدند و به تعداد  $2/4 \times 10^4$  سلول در هر چاهک قرار داده شد. در ادامه پلیت به مدت ۲۴ ساعت جهت رسیدن به تراکم سلولی مناسب در داخل انکوباتور نگهداری شد (شکل ۱: الف). پس از این مرحله مایع روی سلولی برداشته شد و  $1 \text{ ml}$  محیط کشت کامل، شامل ۰ (کنترل)، ۲۵، ۵۰ و  $100 \mu\text{g/ml}$  از نانوذرات طلا (AuNPs) به هر چاهک اضافه شد (شکل ۱: ب، ج و د). پس از ۲۴ ساعت انکوبه کردن، سلول ها با الکل ۱۰۰٪ روی لامل ها تثبیت شدند.



شکل ۱: (الف) سلول های سرطانی پس از ۲۴ ساعت نگهداری در انکوباتور، بزرگنمایی  $100\times$ ، سلول های سرطانی تیمار شده با نانو ذرات طلا در غلظت: (ب) ۲۵، (ج) ۵۰، (د)  $100 \mu\text{g/ml}$ ، بزرگنمایی  $250\times$ .

## روش های اپتیکی

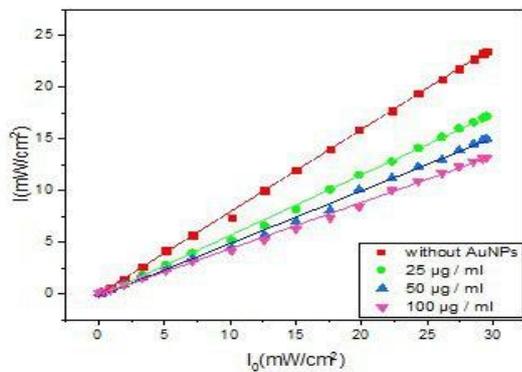
دریچه و  $W_a$  شعاع پرتو گاوسی در صفحه ی دریچه می باشد [۷].



شکل ۲: چیدمان زد-اسکن برای ارزیابی رفتار غیرخطی سلول های سرطانی رده ی ۲۳۱-mb-mda.

### نتایج تجربی

با توجه به آنچه که در شکل ۳ نشان داده شده است، توان عبوری از نمونه های تیمار شده با نانوذره در برابر نمونه ی کنترل کمتر است، بنابر این جذب خطی با افزایش غلظت نانوذرات در نمونه های سلولی به ترتیب نسبت به نمونه ی کنترل افزایش می یابد که این مقادیر در جدول ۱ آمده است.



شکل ۳: توان خروجی بر حسب توان ورودی برای نمونه های سلولی با غلظت های مختلف ۰ (کنترل)، ۲۵، ۵۰، و ۱۰۰  $\mu\text{g/ml}$  از نانوذرات طلا.

از طرفی با حرکت نمونه اطراف کانون توان عبوری از نمونه ها آشکارسازی شده و نمودار آن در شکل ۴ گزارش شده است. با کمک داده های این نمودار و همچنین معادله ی (۲) ضریب شکست غیر خطی نمونه ها محاسبه خواهد شد، که داده های حاصل از آن در جدول ۱ گزارش گردیده است.

برای آزمایش نمونه ها از یک لیزر پیوسته (CW) Nd:YAG با طول موج  $532\text{ nm}$  استفاده شد. که در ابتدا سلولهای سرطانی با نانو ذرات طلا و بدون آن توسط نور لیزر  $100\text{ mW}$  در یک رژیم خطی با استفاده از یک تنظیم ساده اپتیکی مورد بررسی قرار گرفتند و مطابق با معادله ی (۱)، قانون بیر لامبرت، مقدار جذب خطی یا چگالی نوری نمونه ها محاسبه شد.

$$I = I_0 e^{-\alpha L} \quad (1)$$

که در آن  $I_0$  شدت اولیه،  $\alpha$  ضریب جذب خطی نمونه و  $L$  طول نمونه می باشد.

سپس با استفاده از چیدمان اپتیکی جاروب محوری ( زد - اسکن) دریچه بسته رفتار غیرخطی نمونه ها مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می شود، یک باریکه ی لیزر پر شدت از میان یک عدسی با فاصله کانونی بزرگ عبور کرده و کانونی می شود، سپس نمونه ی مورد آزمون در محدوده ی کانونی باریکه ی کانونی شده حرکت می کند و با جابجایی نمونه حول نقطه کانونی، میزان شدت پالس های رسیده به نمونه بصورت تابعی از  $z$  تغییر می کند. در نهایت توان عبوری از نمونه برحسب مکان قرارگیری نمونه ثبت می گردد. ضریب شکست غیرخطی از معادله ی (۲) بدست می آید [۶و۵]:

$$n_2 = \frac{\lambda \Delta T_{P-V}}{2\pi L_{\text{eff}} (0.406)(1-S)^{0.25} I_0} \quad (2)$$

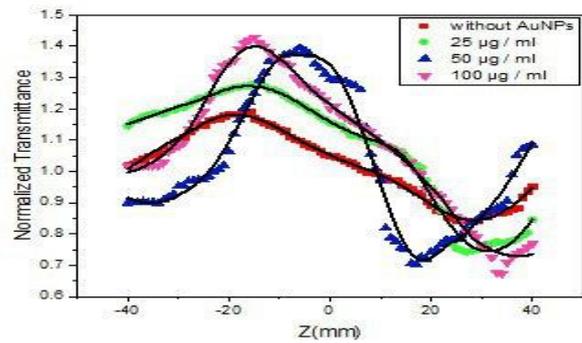
که در آن  $\lambda$  طول موج لیزر،  $\Delta T_{P-V}$  اختلاف بیشینه کمینه ی توان عبوری بهنجار شده،  $I_0$  شدت در نقطه ی کانونی،  $L_{\text{eff}} = \frac{(1-e^{-\alpha L})}{\alpha}$  طول موثر نمونه می باشد. از طرفی  $S = 1 - \exp\left(\frac{-2r_a^2}{w_a^2}\right)$  کسری از شدت نور ورودی در غیاب نمونه است که از دریچه عبور می نماید.  $r_a$  شعاع

## نتیجه گیری

در این مقاله پس از ورود نانوذرات کروی طلا ۲۰ nm به سلول های سرطانی رده ی ۲۳۱-mb -mda، نمونه هایی با غلظت های مختلف ۰ (کنترل)، ۲۵، ۵۰ و  $\mu\text{g/ml}$  از ۱۰۰ نانوذرات طلا تهیه شدند و سپس مقادیر جذب خطی و ضریب شکست غیرخطی نمونه ها محاسبه گردید. محدوده ی تغییرات جذب خطی از ۲,۲۴ تا  $(1/\text{cm})$  تا ۸,۰۲ و تغییرات ضریب شکست غیرخطی از ۱,۸۳ تا  $(\text{cm}^2/\text{W}) \times 10^{-7}$  می باشد و هر دو روندی افزایشی را نشان می دهند، که به دلیل نزدیکی طول موج پیک طیف جذب نانوذرات طلا در ۵۳۲ nm و لیزر سبز رنگ ۵۳۲ nm استفاده شده می باشد.

## مرجع ها

- [1] Weiser, J., Shenkin, P. S., & Still, W. C. (1999). Approximate atomic surfaces from linear combinations of pairwise overlaps (LCPO). *Journal of Computational Chemistry*, 20(2), 217-230.
- [2] A. G. Wiechmann, L. Osborne, C. K., & Schiff, R. (2008). Crosstalk between the estrogen receptor and the HER tyrosine kinase receptor family: molecular mechanism and clinical implications for endocrine therapy resistance. *Endocrine reviews*, 29(2), 217-233.
- [3] Jain, P. K., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2007). Au nanoparticles target cancer. *nano today*, 2(1), 18-29.
- [4] Arvizo, R., Bhattacharya, R., & Mukherjee, P. (2010). Gold nanoparticles: opportunities and challenges in nanomedicine. *Expert opinion on drug delivery*, 7(6), 753-763.
- [5] Van Stryland, E. W., & Sheik-Bahae, M. (1998). Characterization techniques and tabulations for organic nonlinear materials, (eds.): MG Kuzyk, CW Dirk.
- [6] Sheik-Bahae, M., Said, A. A., & Van Stryland, E. W. (1989). High-sensitivity, single-beam n 2 measurements. *Optics letters*, 14(17), 955-957.
- [7] Sheik-Bahae, M., Said, A. A., Wei, T. H., Hagan, D. J., & Van Stryland, E. W. (1990). Sensitive measurement of optical nonlinearities using a single beam. *IEEE journal of quantum electronics*, 26(4), 760-769.

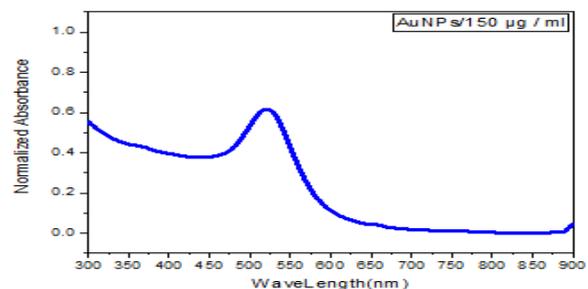


شکل ۴: نمودار جاروب محوری (زد-اسکن) در چپه بسته برای نمونه های سلولی با غلظت های مختلف ۰ (کنترل)، ۲۵، ۵۰ و  $\mu\text{g/ml}$  از ۱۰۰ نانوذرات طلا.

جدول ۱: مقایسه ی ضریب جذب خطی و نیز ضریب شکست غیر خطی در غلظت های مختلف.

غلظت $\mu\text{g/ml}$	$\alpha$ ( $1/\text{cm}$ )	$n_2$ $\times 10^{-7}$ ( $\text{cm}^2/\text{W}$ )
بدون نانوذره	۲,۲۴	۱,۸۳
۲۵	۵,۳۲	۳,۲۸
۵۰	۶,۷۱	۴,۴۹
۱۰۰	۸,۰۲	۵,۱۸

با توجه به داده های جدول ۱ مشاهده می شود که با افزایش غلظت نانوذرات در نمونه های سلولی، ضریب شکست غیرخطی به ترتیب نسبت به نمونه ی کنترل افزایش می یابد، که به دلیل انطباق پیک طیف جذب نانوذرات ۲۰ nm طلا با طول موج لیزر ۵۳۲ nm به کار برده شده در تست های اپتیکی می باشد. طیف جذب نانوذرات ۲۰ nm طلا در شکل ۵ آمده است.



شکل ۵: نمودار پیک جذب نانوذرات ۲۰ nm طلا با غلظت  $150 \mu\text{g/ml}$ .