



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 کلوئیدی 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 دهد. 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. Moshaii^{a*}, M. Nikkhaa^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 نقره مطابق با روش کرایتون^۱ سنتز می شود [۶]. در این روش NaBH_4 به عنوان کاهنده AgNO_3 و AgNO_3 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 انتهای ۱ میلی لیتر از NaBH_4 با غلظت ۵ میلی مولار به محلول اضافه می شود. محلول نهایی به رنگ زرد روش 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 الیگونوکلئوتید سنتز شده و مکمل آن در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- ساختار RssDNA و FssDNA (Has-mir-96) 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

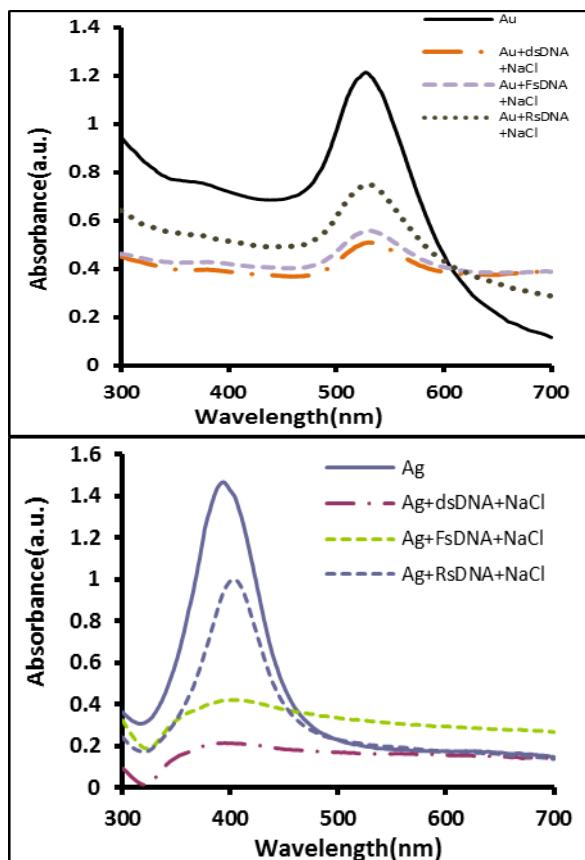
پیک پلاسمونیک نانوذرات فلزی در محدوده UV-Vis می باشد. افزودن نمک به محلول منجر به لخته شدن نانوذرات فلزی می شود که متناظر با کاهش شدت پیک پلاسمونیک و پهن شدگی آن می شود. جذب الیگونوکلئوتید روی نانوذرات باعث تغییر دادن مقاومت نانوذرات در برابر القای لخته شدگی نمک می شود [۵] که این اثر به صورت تغییر در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

¹ Creighton

حافظتی ندارد و پس از افزودن نمک نانوذرات لخته شده و پیک پلاسمونیک آن از بین می‌رود.

در شکل ۳ با افزایش غلظت رشته‌های RssDNA و dssDNA و FssDNA مربوط به رشته RssDNA به صورت یک خط شیب دار می‌باشد 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 می‌رود. در حالیکه منحنی مربوط به افزایش غلظت رشته‌های FssDNA به صورت یک خط بدون شیب بوده و افزایش غلظت این دو رشته تاثیری در شدت پیک پلاسمونیک ندارد.



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

میزان الیگونوکلئوتید در محلول‌های کلوئیدی نقره و طلا به ترتیب برابر با $4/7$ میکرو مolar و $3/3$ میکرو مolar می‌باشد. همچنین در محلول نقره میزان نمک NaCl و فسفات بافر 170 میلی مolar و $5/5$ میلی مolar می‌باشد. آزمایش‌ها با کلوئید طلا شامل 500 میکرولیتر کلوئید طلا و 250 میکرولیتر فسفات بافر 10 میلی مolar که شامل نمک $2/0$ مolar می‌باشد.

۳-بحث و نتایج

در شکل ۱ پیک پلاسمونیک کلوئیدی نانوذرات طلا و نقره خالص، طیف نانوذرات پس از افزودن رشته FssDNA و رشته مکمل آن RssDNA که حاصل پیوند زنی این دو رشته می‌باشد، ثبت شده است. افزودن نمک به کلوئید منجر به لخته شدگی کلوئید می‌شود. حضور هر رشته DNA اثر مقاومتی متفاوتی را در برابر لخته شدگی نمک از خود نشان می‌دهد. برای داشتن دیدگاه بهتری از اندرکنش بین نانوذرات فلزی و رشته‌های DNA، طیف نانوذرات طلا و نقره را در حضور نمک و بافر و رشته DNA با توالی 22 تابی از یک نوع باز A, T, C و G بررسی شده است. نتایج به دست آمده از شکل ۲ نشان می‌دهند 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 شکل‌های مربوط به کلوئیدهای طلا و نقره دیده می‌شود که نتایج برای طلا و نقره یکسان است و تنها تفاوت در شدت پیک LSPR و نسبت نرخ جذب در محل پیک به زمینه می‌باشد.

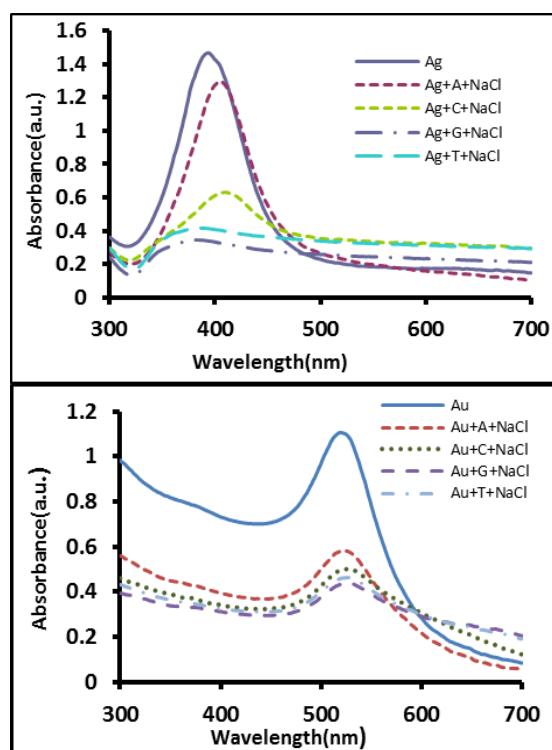
جدول ۲ درصد مشارکت بازهای مختلف را در رشته‌های FssDNA و RssDNA نشان می‌دهد. از اطلاعات این جدول دیده می‌شود که باز نوع A بیشترین سهم را در رشته RssDNA و باز مکمل آن، باز نوع T، بیشترین انتظار می‌رود که علاوه بر اینکه رشته‌های FssDNA و RssDNA هر دو رشته تکی محاسبه شده اما اثر FssDNA پوششی RssDNA متفاوت از FssDNA باشد و برای RssDNA یک اثر محافظتی 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 تقریبا بدون اثر پوششی بوده و مانند رشته dssDNA رفتار می کند. نتایج نشان می دهد که از بین چهار نوع باز که در ساختار DNA وجود دارد باز نوع A بیشترین اثر حفاظتی و باز نوع G کمترین اثر محافظتی را دارد. بنابراین ساختار بازی DNA شدیدا 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

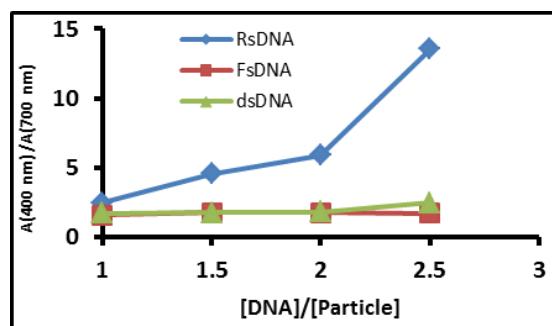
- [1] M. Westphalen, U. Kreibig, J. Rostalski, H. Lüth, D. Meissner, "Metal cluster enhanced organic solar cells," *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, p.97–105, 2000.
- [2] T. Luo, L. Pang, W. Zhang, M. Chen, "Localized surface plasmonic resonant based on bowtie type metallic nanostructure," in SPIE BiOS, p. 82340O–82340O, 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 nanoparticlebased 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 کلوئید نقره بر حسب غلظت های مختلف رشته های تکی و دوگانه