



## استفاده از گلوتامیک اسید، تریپتوفان و فنیل آلانین به منظور تولید نانوذره‌های کلاهک‌دار طلا

داود زارع<sup>۱\*</sup> (M.Sc.)، عظیم اکبرزاده<sup>۲</sup> (M.Sc.)، شهرام تنگستانی‌نژاد<sup>۱</sup> (M.Sc.)، محمد برخی<sup>۳</sup> (M.Sc.)، نسیم برارپور<sup>۲</sup> (M.Sc.)، کامیار خوشنویسان<sup>۴</sup> (M.Sc.)  
 ۱- دانشگاه اصفهان- دانشکده علوم- گروه شیمی. ۲- انستیتو پاستور ایران- بخش پایلوت بیوتکنولوژی. ۳- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج- گروه تحقیقات نانو. ۴- دانشگاه اصفهان- دانشکده مهندسی- گروه بیوتکنولوژی.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۳/۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۶/۶

### چکیده

**مقدمه:** مطالعه و بررسی نانوذره‌های طلائی که با استفاده از آمینواسیدها تولید می‌شوند از زمینه‌های بسیار جالب و کاربردی محسوب می‌شوند. آمینواسیدها در این پژوهش هم نقش کاهنده‌ی کاتیون‌های طلا را دارند و هم عاملی برای کلاهک‌دار کردن نانوذره‌های طلا می‌باشند. در واقع اتصال محکم گروه‌های آمینی در آمینواسیدها و پروتئین‌ها به سطوح نانوذره‌های طلا به کاربردهای پزشکی این مواد هیبریدی دلالت دارد.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش نانوذره‌های طلا با استفاده از کاهش محلول حاوی کاتیون‌های طلا با غلظت بهینه ۰/۰۰۵ مولار توسط آمینواسیدهای گلوتامیک اسید، فنیل آلانین و تریپتوفان با غلظت بهینه ۰/۰۲۵ مولار تهیه و عامل‌دار شدند.

**نتایج:** پس از شناسایی این ذره‌ها توسط طیف سنج UV-Vis، غلظت محلول کاتیون‌های طلا و آمینواسیدها بهینه شده و اندازه‌ی ذره‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری و تفرق دینامیکی نور به ترتیب ۵-۲۰، ۱۰-۲۰ و ۲۰-۳۰ نانومتر تعیین شدند که مناسب برای فعالیت‌های بیولوژیکی می‌باشند.

**نتیجه‌گیری:** با مقایسه داده‌های حاصل از محاسبات کوانتومی و تجربی مشخص شد آمینواسیدهایی که به‌صورت آنیون به نانوذره‌های طلا متصل می‌شوند از استحکام بیشتری برخوردارند. نانوذره‌های طلائی کلاهک‌دار شده توسط گلوتامیک اسید از آنجایی که دارای گروه‌های کربوکسیلی آزاد هستند، بستر مستعد و مناسبی برای اتصال عوامل زیستی مختلف به این ذره‌ها را فراهم می‌کنند.

**واژه‌های کلیدی:** نانوذره‌های طلا کلاهک‌دار شده، گلوتامیک اسید، فنیل آلانین، تریپتوفان.

Original Article

Knowledge & Health 2011;5(4):20-26

## Using Glutamic Acid, Phenylalanine and Tryptophan to Synthesize Capped Gold Nanoparticles

Davood Zare<sup>1\*</sup>, Azim Akbarzadeh<sup>2</sup>, Shahram Tangestaninejad<sup>1</sup>, Mohammad Barkhi<sup>3</sup>, Nasim Bararpour<sup>2</sup>, Kamyar Khoshnevisan<sup>4</sup>

1- Dept. of Chemistry, Faculty of Science, Isfahan University, Isfahan, Iran. 2- Pilot of Biotechnology Dept. Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran. 3- Nano Research Group, Agricultural Biotechnology Research Institute, Karaj, Iran. 4- Dept. of Biotechnology Engineering, Faculty of Engineering, Isfahan University, Isfahan, Iran.

### Abstract:

**Introduction:** The study and investigation of gold nanoparticles produced by amino acid is one of the interesting and applied issues in nanotechnology. In this study, amino acids were used to reduce gold cations as well as an agent to cap gold nanoparticles. In fact, strong bond of amino groups to amino acid and protein on the gold nanoparticles surface indicate the medical applications of these materials.

**Methods:** In this study, gold nanoparticles were prepared and functionalized by using solution reduction containing gold cations with optimum concentration (0.005 M), and also prepared by using glutamic acid, phenylalanine and tryptophan with optimum concentration (0.025 M).

**Results:** The investigation of optimum condition for gold solution and amino acids and also determination of gold nanoparticles were done by UV-Vis. The nanoparticles size were reported 5-20, 10-20 and 20-30 nm respectively by transmission electron microscopy and dynamic light scattering techniques, which is appropriate for biological activities.

**Conclusion:** The comparison of the data from experimental and quantum calculations demonstrated that amino acids have strong band when they are conjugated by anion state. Free carboxylic groups of capped gold nanoparticles with glutamic acid are one of the suitable and capable beads for binding to biological agents.

**Keywords:** Capped gold nanoparticles, Glutamic acid, Phenylalanine, Tryptophan.

Conflict of Interest: No

Received: 23 May 2010

Accepted: 28 August 2010

\*Corresponding author: D. Zare, Email: Zare\_davood@yahoo.com

## مقدمه

نانوذره‌های فلزی امروزه مورد توجه و علاقه خاصی قرار گرفته‌اند و این توجه روز به روز بیش‌تر شده است. علت این موضوع را می‌توان ویژگی‌های منحصر به فرد اندازه این ذرات یعنی اندازه‌ی نانو ( $10^{-9}$  m) دانست. خصوصیت‌های فیزیکی- شیمیایی و الکترواپتیکی (Optoelectronic) از این ویژگی‌ها به‌شمار می‌آیند (۱ و ۲). کارایی و پتانسیل کاربردی این ذره‌ها در کاتالیست‌ها و استفاده از آن‌ها به‌عنوان نشان‌گرهای (Marker) میکروسکوپ الکترونی بسیار مورد توجه است (۳، ۴ و ۵). نانوذره‌های طلا از دسته نانوذره‌هایی هستند که پیشینه‌ای طولانی در استفاده از آن‌ها وجود دارد. از شیشه‌گران قرون وسطی گرفته تا پژوهشگران پیشرفته‌ترین مراکز علمی امروز دنیا، همگی به ویژگی‌های این ذره علاقه‌ی ویژه‌ای داشته و دارند. «فارادی» را اولین فردی می‌توان دانست که نانوذره‌های طلا (که به شکل امروزی مورد استفاده است) را در حالت محلول تهیه کرده است. اما امروزه نانوذره‌های طلا با روش‌های مختلف در هر دو حالت محلول‌های آبی و محلول‌های غیر قطبی آلی تهیه می‌شوند (۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰).

با گسترش فرآیندهای نوین تولید نانوذره‌های طلا، بررسی اندازه، تک ذره‌ای بودن (Monodispersity) شکل و خصوصیت‌های شیمی سطح (Surface Chemistry) این ذره‌ها به‌طور همزمان در حال انجام می‌باشد (۱۱). توانایی سوار کردن (Modulate) و اتصال دادن لیگاندهای مختلف روی سطح نانوذره‌های طلا سبب شده است که کاربردهای بسیار گسترده‌ای از نانوذره‌های طلا در زمینه‌ی انواع واکنش‌های آلی، سنسورها (معدنی و بیولوژیکی)، تشخیص‌های زیستی، دارو و DNA رسانی و تصویربرداری ایجاد شود (۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴). با این که اتصال گروه‌های گوگردار به نانوذره‌های طلا و در ادامه وصل کردن لیگاندهای مختلف به آن (نانوذره‌های طلا) بسیار جالب، کاربردی و مورد استفاده است (۱۱، ۱۲ و ۱۵)، اما اتصال گروه‌های آمینی به طلا نیز به همین قوت می‌تواند مورد توجه باشد. در واقع اتصال الکیل آمین‌ها به نانوذره‌های طلا، می‌تواند انتقال نانوذره‌های طلا را به حلال‌های آلی آسان کند (۱۶). همچنین اتصال محکم گروه‌های آمینی در آمینواسیدها و پروتئین‌ها به سطوح نانوذره‌های طلا، به کاربردهای پزشکی این مواد هیبریدی (Hybrid materials) دلالت دارد (۱۷ و ۱۸). در راستای کلاهدار کردن نانوذره‌های طلا، جوشی و همکارانش در پژوهش‌های خود موفق شدند نانوذره‌های تولید شده با سدیم بور هیدرات را توسط آمینواسید لیزین کلاهدار نمایند (۱۹). هم‌چنین بارگاو و همکارانش توانستند نانوذره‌های طلایی را که با سدیم سیترات تهیه کرده بودند به تیروزین و تریپتوفان متصل کنند (۲۰). از سوی دیگر، سی و همکاران (۲۱) در پژوهش‌های خود نشان دادند که

پپتیدهای حاوی تیروزین در کاهش کاتیون‌های طلا و تولید نانوذره‌های طلا می‌توانند نقش کلیدی داشته باشند.

در این پژوهش نانوذره‌های طلا نه تنها با آمینواسیدهای مختلف کلاهدار می‌شوند بلکه عامل کاهنده در تولید نانوذره‌های طلا نیز همین آمینواسیدها (این آمینواسیدها گلوتامیک اسید، فنیل آلانین و تریپتوفان می‌باشند). هم‌چنین به‌منظور شناسایی و بررسی اندازه و شکل نانوذره‌های تولید شده از تکنیک‌های مختلفی از جمله طیف‌سنجی ماوراء بنفش-مرئی (Ultra violet spectroscopy = UV-Vis)، تفرق دینامیکی نور (Dynamic light scattering = DLS)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (Transmission electron microscopy = TEM) و الکتروفورز ژلی و برای بررسی نتایج آزمایش‌ها نیز از داده‌ها و نتایج بررسی‌های نظری به‌دست آمده از مطالعات کوانتمی و محاسباتی، که با نرم‌افزارهای مختلف صورت گرفته، استفاده شده است.

در مقیاس نانو، ذرات دارای فعالیت‌ها و برهم‌کنش‌های خاص و ویژه‌ای هستند. این ذرات معدنی در صورت برهم‌کنش با برخی مواد خاص (مولکول‌هایی که از یک سر به نانوذره متصل باشند و یک سر با گروه عاملی آزاد داشته باشند) می‌توانند به بسیاری از زیست مولکول (Biomolecules) (مانند آمینواسیدها، پروتئین‌ها و آنتی‌بادی‌ها) متصل شوند و ایجاد کاربردهای تشخیصی و درمانی جالبی نمایند. از این رو برهم‌کنش‌های میان نانوذره‌های طلا و آمینواسیدها به‌عنوان نخستین گام، از اهمیت به‌سزایی برخوردار است.

## مواد و روش‌ها

## مواد شیمیایی:

تتراکلروآئوریک اسید سه‌آبه، گلوتامیک اسید، سدیم گلوآمات، فنیل آلانین، تریپتوفان، مواد الکتروفورز ژلی سدیم دودسیل سولفات سدیم (شامل متانول، استیک اسید گالسیال، تریس‌هیدروکسی آمینومتان هیدروکلراید، کماسی بلو G (Coomassie Blue G)، اکریل آمید، بیس اکریل آمید، سدیم دودسیل سولفات، آمونیوم پرسولفات، گلیسرول و مرکاپتواتانول) که همگی از شرکت مرک آلمان تهیه شده‌اند. در ضمن آب مقطر یون‌زدایی شده‌ی مورد مصرف از واحد آب مقطر انستیتو پاستور ایران تأمین شده است.

## تهیه محلول نانوذره‌های طلا کلاهدار شده‌ی آمینی:

نانوذره‌های طلا به روش کاهش نمک طلا (III) در حضور آمینو اسید (فنیل آلانین، تریپتوفان و گلوتامیک اسید) تهیه می‌شوند. برای این منظور محلول ۵mM تتراکلروآئوریک اسید در آب مقطر یون‌زدایی شده، حرارت داده شد؛ پس از رسیدن محلول به نقطه‌ی جوش خود، محلول آمینواسید (که قبلاً در آب مقطر یون‌زدایی شده حل شده و غلظت آن ۲۵mM است) روی آن افزوده و گرم کردن آن‌قدر ادامه می‌یابد تا رنگ محلول از بی‌رنگ به صورتی مایل به سرخ تغییر کند (این تغییر رنگ نشانه تولید نانوذره‌های طلا و انجام واکنش است)؛ سپس محلول به

پس از شناسایی نانوذره‌های تولید شده توسط آمینواسیدها و تعیین اندازه‌ی آن‌ها، مرحله بعد انجام آزمون SDS-PAGE برای نانوذره‌های تولید شده توسط گلوتامیک اسید و سدیم گلوآمات بود. همان‌گونه که در شکل ۴ نشان داده شده است، نانوذره‌هایی که توسط سدیم گلوآمات تهیه و عامل‌دار شده‌اند به سمت قطب مثبت جابجایی داشته‌اند که نشان می‌دهد این ذرات دارای بار سطحی منفی هستند.

جدول ۱- اندازه‌ی نانوذره‌های طلای حاصل شده با غلظت‌های مختلف محلول طلا و آمینواسید توسط آنالیز DLS

محلول طلا				
۹mM	۷mM	۵mM	۳mM	
۵۵	۴۰	۲۶	۳۴	گلوتامیک اسید (nm)
۶۰	۳۹	۲۹	۳۶	فنیل آلانین
۷۲	۵۸	۴۱	۵۵	تریپتوفان
غلظت آمینواسیدها				
۳۵mM	۳۰mM	۲۵mM	۱۵mM	
۳۳	۳۰	۲۶	۱۵	گلوتامیک اسید (nm)
۲۵	۲۸	۲۹	۲۵	فنیل آلانین
۴۷	۴۴	۴۱	۵۰	تریپتوفان

## بحث

نتایج UV-Vis حاصل از محلول کلئیدی نانوذره‌های طلای تولید شده توسط آمینواسیدهای مختلف، بیان‌گر تولید نانوذره‌های طلاست (۲۲، ۲۳ و ۲۴). بیشینه جذب هر یک از این ذره‌ها همان‌طور که در شکل ۱ مشخص است ۵۲۵، ۵۳۳ و ۵۴۵ نانومتر به ترتیب مربوط به نانوذره‌های تولید شده با گلوتامیک اسید، فنیل آلانین و تریپتوفان می‌باشند. از آنجایی که نانوذرات طلا را می‌توان نوعی کلاستر بی‌شکل طلا در نظر گرفت پس با توجه به تئوری پیوند و اوربیتال مولکولی و همچنین آرایش الکترونی طلا می‌توان گفت که هر چه تعداد اتم‌های طلای متصل شده به یکدیگر بیشتر باشد، فاصله بین بالاترین تراز الکترونی از الکترون (HOMO) و پایین‌ترین تراز الکترونی خالی از الکترون (LUMO) در ترازهای الکترونی کاهش یافته و انتقالات الکترونی راحت‌تر صورت می‌پذیرند. در نتیجه با مقدار کمتری انرژی می‌توان الکترون را از HOMO به LUMO انتقال داد (شکل ۲). با این توضیح و اینکه می‌دانیم هرچه انتقالات الکترونی با مقدار انرژی کم‌تر صورت

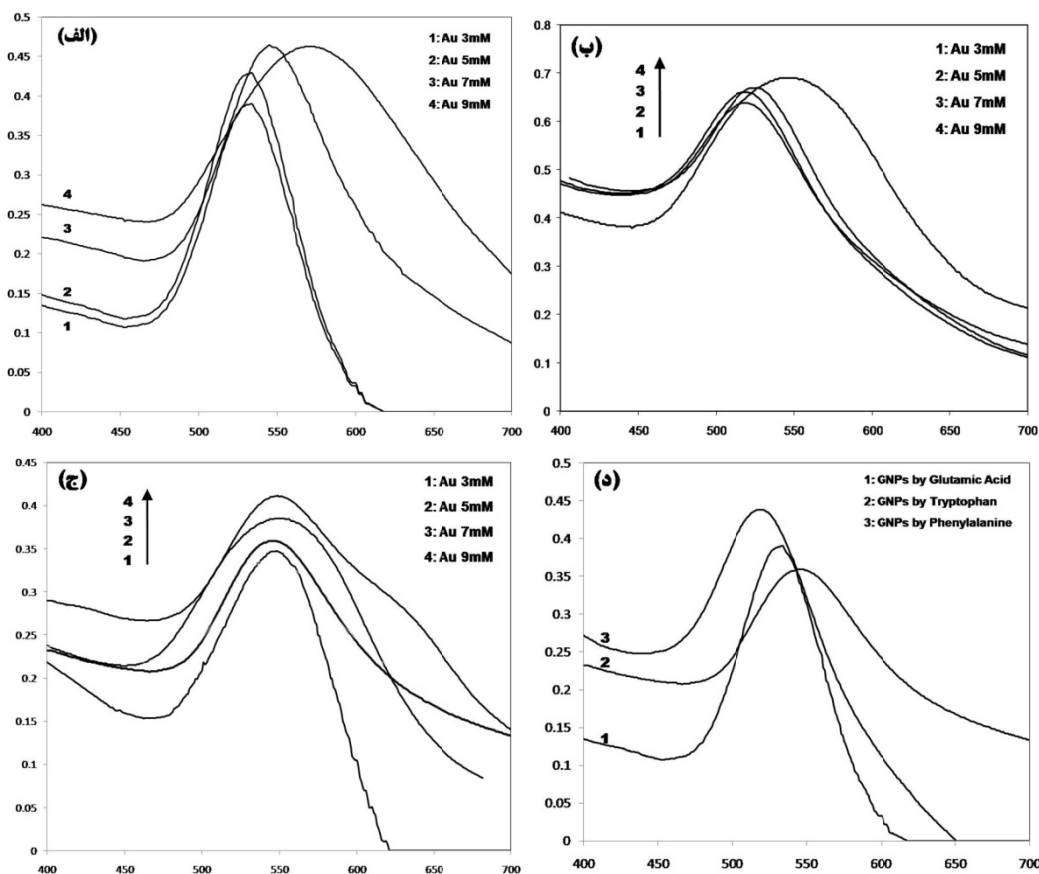
سرعت در حمام آب/ یخ قرار داده می‌شود. در این پژوهش به منظور بهینه کردن غلظت محلول طلا، نانوذره‌های طلا در شرایط غلظتی مختلف توسط هر یک از آمینواسیدهای ذکر شده تولید شدند. غلظت محلول طلا در این شرایط ۳mM، ۵mM، ۷mM و ۹mM بوده و غلظت هر آمینواسید ۲۵mM می‌باشد. در گام بعدی این ذرات با غلظت بهینه شده‌ی محلول طلا و غلظت‌های مختلف آمینواسید تهیه شدند (این غلظت‌ها عبارتند از ۱۵mM، ۲۵mM، ۳۰mM و ۳۵mM).

## روش‌های شناسایی نانوذره‌های طلا:

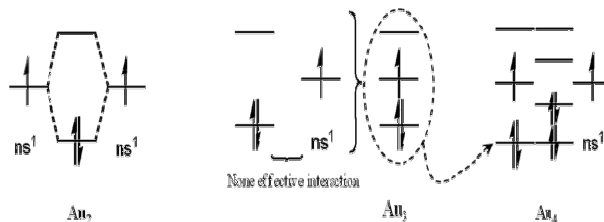
شناسایی و تعیین اندازه نانوذره‌های طلا و تعیین اندازه ذره‌ها با استفاده از روش‌های طیف سنجی فرا بنفش- مری (UV-Vis) [طیف سنج شیمادزو (Shimadzu) ژاپن مدل ۱۶۰۱]، تفرق دینامیکی نور (DLS) [زتا-سایزر (Zeta-sizer) مدل ۳۰۰۰ ساخت شرکت مال‌ورن (Malvern) انگلستان] و میکروسکوپ الکترونی عبوری (مدل JEOL-JEN 2010 ساخت شرکت فیلیپس هلند) صورت گرفته است. از تکنیک الکتروفورز ژلی دودسیل سولفونات (SDS-PAGE) نیز برای بررسی بار نانوذره‌های عامل‌دار شده توسط آمینو اسیدها، استفاده شده است.

## نتایج

در این پژوهش نانوذره‌های طلا در شرایط غلظتی مختلف توسط هر یک از آمینواسیدهای ذکر شده، تولید شدند. از جمله بهترین روش‌های شناسایی و تعیین اندازه‌ی اولیه‌ی نانوذره‌های طلا روش طیف سنجی UV-Vis و DLS می‌باشند که نتایج این آزمایشات در شکل و جدول ۱ نشان داده شده است. با بررسی این نتایج و نمودارها، مشخص است که غلظت ۵mM، به دلیل کم‌ترین اندازه‌ی ذره و کوچک‌ترین طول موج، بهینه‌ترین غلظت برای محلول طلا در شرایط آزمایش می‌باشد. با بهینه کردن غلظت محلول طلا، گام بعدی بهینه نمودن شرایط غلظتی برای آمینواسیدها بود. با بررسی نتایج حاصل شده از این آزمایشات مشخص شد که غلظت ۲۵mM برای آمینواسیدها تولید کوچک‌ترین ذره‌ها را می‌کند. از این رو این دو غلظت (۵mM برای محلول طلا و ۲۵mM برای محلول آمینواسید) غلظت‌های بهینه در شرایط آزمایش بودند. جدول ۲ مقادیر DLS مربوط به نانوذره‌های طلای تهیه شده در شرایط بهینه و با استفاده از گلوتامیک اسید، سدیم گلوآمات، فنیل آلانین و تریپتوفان می‌باشد. پس از شناسایی و اندازه‌گیری اولیه نانوذره‌های تولید شده و بهینه کردن شرایط غلظتی، گام بعدی اندازه‌گیری دقیق ذره‌ها بوده است که این کار توسط آزمون TEM انجام گرفته است. نتایج حاصل از این آزمون همان‌گونه که در شکل ۳ نشان داده شده است، اندازه ذرات ۲۰-۲۵، ۲۰-۳۰ و ۳۰-۴۰ نانومتر (به ترتیب مربوط به نانوذره‌های تولید شده با گلوتامیک اسید، فنیل آلانین و تریپتوفان) را نشان داد.



آمده از آزمایش‌های DLS و TEM این ذره‌ها تأیید شد (شکل ۳ و جدول ۲). از سوی دیگر همین توضیحات و دلایل برای یافتن بهترین غلظت و شرایط بهینه برای محلول‌های طلا و آمینو اسیدها منطقی و قابل استناد می‌باشد. بررسی پژوهشگران شیمی نظری و محاسباتی نشان می‌دهد که برهم‌کنش بین نانوذره‌های طلا با آمینواسیدها در حالت آنیونی قوی‌تر از حالت خنثی و کاتیونی آن‌هاست. جدول ۳ که محاسبه‌های آن با استفاده از (Density functional theory) DFT به دست آمده است، نشان می‌دهد که برهم‌کنش آمینواسیدهای گلايسين و سبستين در حالت آنیونی با کلاسترهای طلا بیش از حالت‌های خنثی و کاتیونی است. با توجه به این پیش‌بینی، از گلوتامیک اسید، به‌عنوان آمینواسیدی که کوچک‌ترین نانوذره‌های طلا را تهیه کرده بود، آنیون تولید کرده و از آن (گلوتامات) در تهیه نانوذره‌های طلا و کلاهک‌دار کردن آن‌ها استفاده شد (۳۰). لوتامیک اسید، ترکیبی است که دارای دو گروه کربوکسیلیک اسید و



بگیرد، طیف UV-Vis حاصل از آن در طول موج‌های بلندتری پدیدار خواهد شد (۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸ و ۲۹)، می‌توان گفت هر چه تعداد اتم‌های طلا در کلاستر آن بیشتر باشد طیف UV-Vis مربوطه دارای طول موج بلندتری نسبت به طیف کلاسترهای طلا با تعداد اتم کم‌تر خواهد بود. از این رو می‌توان پیش‌بینی نمود که نانوذره‌های تولید شده با گلوتامیک اسید، با توجه به بیشینه جذب با طول موج کم‌تر، دارای اندازه ذره کوچک‌تری هم هستند که این پیش‌بینی با نتایج به دست

تولیدی را در حیطه‌ی روش‌های سبز (Green Method) و دوست‌دار محیط زیست تولید نانوذرات طلا قرار می‌دهند (۱۹ و ۲۰). همچنین دلیل اینکه از بین نانوذره‌های مختلف، نانوذراتی که توسط گلوتامیک اسید تهیه شده بودند انتخاب شد این است که این آمینواسید دارای دو گروه کربوکسیلیک اسید است که یک گروه آن به سطح نانوذره‌ها نزدیک می‌شود و گروه کربوکسیلیک دیگر آزاد باقی خواهد ماند (شکل ۶). از این رو نانوذره‌هایی که توسط این آمینواسید عامل‌دار می‌گردند از دسته موادی هستند که بستر مناسبی برای اتصال به زیست مولکول‌ها می‌باشند. همچنین با محاسبات کوانتومی و تجربی مشخص شد که آنیون گلوتامیک‌اسید به دلیل برهم‌کنش کووالانس با نانوذره‌های طلا اتصال قوی‌تری با طلا نسبت به حالت خنثی و کاتیون گلوتامیک‌اسید دارد. از این رو نانوذره‌های طلائی که با گلوتامات، کلاهیک‌دار شده‌اند بستر مناسبی برای برهم‌کنش با زیست مولکول‌ها، آنتی‌بادی‌ها و پروتئین‌ها به منظور کاربردهای زیستی و پزشکی دارد.

جدول ۲- مقادیر DLS مربوط به نانوذره‌های طلا تهیه شده با گلوتامیک اسید، سدیم گلوتامات، فنیل‌آلانین و تریپتوفان

نوع آمینواسید	اندازه‌ی نانوذره‌های طلا
سدیم گلوتامات	۲۴ nm
گلوتامیک اسید	۲۶ nm
فنیل آلانین	۲۹ nm
تریپتوفان	۴۱ nm

جدول ۳- مقادیر  $\Delta E$  مربوط به برهم‌کنش آمینواسیدهای گلیسین و سیستئین در حالت آنیونی، خنثی و کاتیونی با کلاسترهای طلا (۲۷)

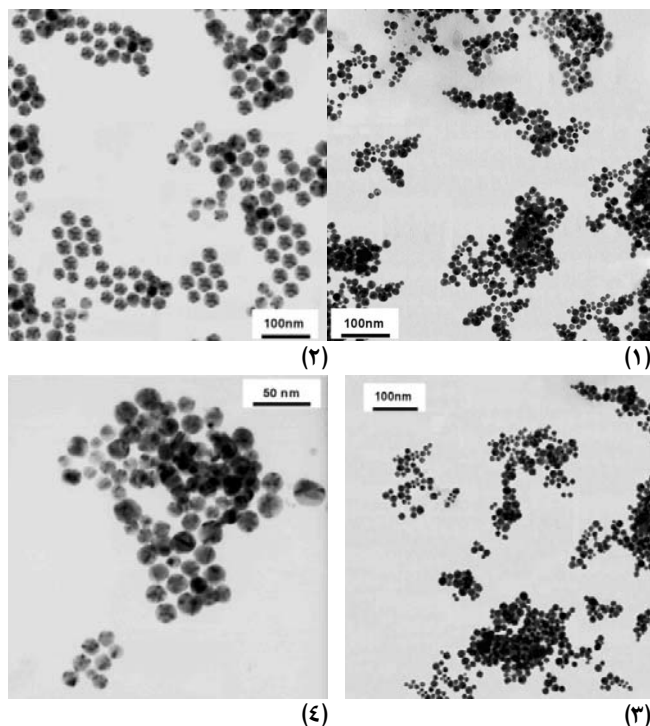
مولکول	انتقال بار	$\Delta E_{CT}$	$\Delta q_{CT}$
گلیسین (-)	$n_{N1} \rightarrow \sigma_{Au1-Au2}^*(\alpha)$	۲۲/۱۳	۰/۱۰۵۳
Au <sub>3</sub>			
گلیسین (-)	$n_{N1} \rightarrow \sigma_{Au1}^*(\beta)$	۲۷/۰۹	۰/۱۷۲۷
Au <sub>3</sub>			
گلیسین (+)	$n_{O1} \rightarrow \sigma_{Au1}^*(\alpha)$	۳۲/۰۲	۰/۲۱۲۶
Au <sub>3</sub>			
گلیسین (+)	$n_{O1} \rightarrow \sigma_{Au1}^*(\beta)$	۲۹/۵۸	۰/۱۹۶۴
Au <sub>3</sub>			
سیستئین (-)	$n_{Au1} \rightarrow \sigma_{N2-H1}^*(\alpha)$	۶/۵۵	۰/۰۲۲۲
Au <sub>3</sub>			
سیستئین (-)	$n_{Au1} \rightarrow \sigma_{N2-H1}^*(\beta)$	۳/۹۱	۰/۰۱۱۱
Au <sub>3</sub>			
سیستئین (-)	$n_{N1} \rightarrow \sigma_{Au1-Au2}^*(\alpha)$	۲۱/۴۵	۰/۰۹۵
Au <sub>3</sub>			
سیستئین (-)	$n_{N1} \rightarrow \sigma_{Au1}^*(\beta)$	۲۵/۶۰	۰/۱۵۷
Au <sub>3</sub>			
سیستئین (-)	$n_{O1} \rightarrow \sigma_{Au1}^*(\alpha)$	۲۹/۶۸	۰/۱۸۲
Au <sub>3</sub>			
سیستئین (+)	$n_{O1} \rightarrow \sigma_{Au1}^*(\beta)$	۲۷/۶۰	۰/۱۶۹
Au <sub>3</sub>			
سیستئین (+)	$n_{Au1} \rightarrow \sigma_{N2-H1}^*(\alpha)$	۱۴/۰۰	۰/۰۴۳
Au <sub>3</sub>			
سیستئین (+)	$n_{Au1} \rightarrow \sigma_{N2-H1}^*(\beta)$	۳/۶۳	۰/۰۱۳

یک گروه آمینی می‌باشد. در شرایط آنیونی یکی از گروه‌های کربوکسیلی H اسیدی خود را از دست می‌دهد.

این عامل سبب می‌شود که آمین موجود در ترکیب از طریق پیوند کووالانس به ذره‌های طلا متصل شود؛ در حالی که گلوتامیک اسید در حالت خنثی و کاتیونی بیش‌تر از طریق جاذبه‌های الکترواستاتیکی به ذره‌های طلا متصل می‌شوند. نتایج به‌دست آمده از الکتروفورز ژلی نانوذره‌های طلائی تهیه شده و کلاهیک‌دار شده با گلوتامیک اسید، همان‌گونه که در شکل ۴ نشان داده شده است، به میزان کم‌تری نسبت به نانوذره‌های کلاهیک‌دار شده با گلوتامات جابجایی به سمت پایین ژل (قطب +) دارند (۱۹).

آمینواسیدها پس از کاهش کاتیون‌های طلا اکسید می‌شوند. نکته‌ی قابل توجه این است که ترکیب حاصل از اکسید شدن آمینواسیدها [مانند پیرووات‌ها (Pyruvate)] هیچ‌گونه سمیت و خطری نداشته و حتی برخی از آن‌ها در علوم پزشکی از اهمیت به‌سزایی برخوردار هستند. در شکل ۵ شمای اکسید شدن فنیل آلانین و تریپتوفان آورده شده است (۳۰، ۳۱ و ۳۲).

با مقایسه نتایج حاصل از این پژوهش با سایر پژوهش‌های صورت گرفته در این زمینه می‌توان دریافت، با توجه به سمی نبودن کاهنده‌های مورد استفاده در این روش در مقایسه با سایر کاهنده‌های موجود (مانند سدیم بور هیدرات یا سایر کاهنده‌های دیگر)، نانوذره‌های



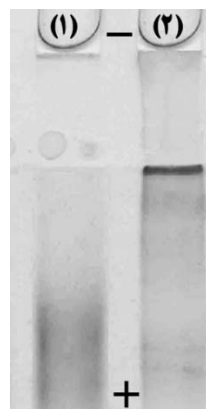
شکل ۳- تصاویر TEM نانوذره‌های طلائی تهیه شده با فنیل‌آلانین (۱)، تریپتوفان (۲)، گلوتامیک اسید (۳) و سدیم گلوتامات (۴)

### تشکر و قدردانی

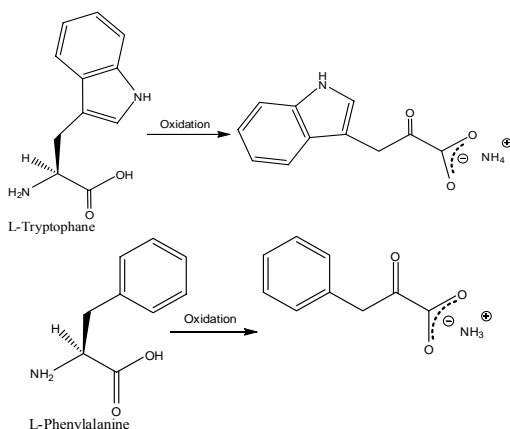
نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از اعضای بخش پایلوت بیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران، بخش نانوبیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران به‌ویژه آقای دکتر علمدار آشناگر و امیر عباس رحیمی، گروه بیوشیمی انستیتو پاستور ایران به‌ویژه آقای دکتر محمد ارجمند، خانم دکتر روحی و آقای شهباز محمدی جهت همکاری بی دریغ و انجام آنالیزهای مختلف ابراز می‌دارند.

### References

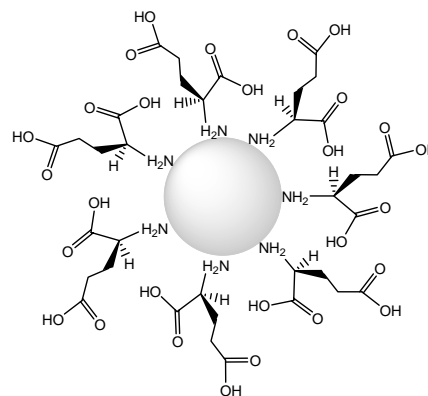
- Wang Y, Herron N. Nanometer-sized semiconductor clusters: materials synthesis, quantum size effects, and photophysical properties. *J Phys Chem* 1991;95:525-532.
- Colvin VL, Schlamp MC, Alivisatos AP. Light-emitting diodes made from cadmium selenide nanocrystals and a semiconducting polymer. *Nature* 1994;370:354-357.
- Haruta M, Kobayashi T, Sano H, Yamada N. Novel gold catalysts for the oxidation of carbon monoxide at a temperature far below 0 C. *Chem Lett* 1987;2:405-408.
- Ahmadi TS, Wang ZL, Green TC, Henglein A, El-Sayed MA. Shape-controlled synthesis of colloidal platinum nanoparticles. *Science* 1996;272:1924-1926.
- Maier SA, Brongersma ML, Kik PG, Meltzer S, Requicha AAG, Atwater HA. Plasmonics- a route to nanoscale optical devices. *Adv Mater* 2001;19:1501-1505.
- Turkevich J, Stevenson PC, Hillier J. Preparation of 2.5×10<sup>-4</sup> M gold colloids (Sodium citrate reduction method) *Discuss. Faraday Soc* 1951;11:55-59.
- Duff DG, Baiker A, Edwards PP. A new hydrosol of gold clusters. 1. formation and particle size variation. *Langmuir* 1993;9:2301-2309.
- Henglein A. Radiolytic preparation of ultrafine colloidal gold particles in aqueous solution: optical spectrum, controlled growth, and some chemical reactions. *Langmuir* 1999;15:6738-6744.
- Mizukoshi Y, Fujimoto T, Nagata Y, Oshima R, Maeda Y. Characterization and catalytic activity of core-shell structured gold/palladium bimetallic nanoparticles synthesized by the sonochemical method. *J Phys Chem B* 2000;104:6028-6032.
- Brust M, Walker M, Bethell D, Schiffrin DJ, Whyman R. Synthesis of thiolderivatised gold nanoparticles in a two-phase Liquid-Liquid system. *J Chem Soc Chem Commun* 1994;7:801-802.
- Ingram RS, Hostetler MJ, Murray RW. Poly-hetero- $\omega$ -functionalized alkanethiolate-stabilized gold cluster compounds. *J Am Chem Soc* 1997;119:9175-9178.
- Storhoff JJ, Mirkin CA. Programmed materials synthesis with DNA. *Chem Rev* 1999;99:1849-1862.
- Niemeyer CM. Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: biotechnology meets materials science. *Angew Chem Int Ed* 2001;40:4128-4158.
- Bielinska A, Eichman JD, Lee I, Baker JR Jr, Balogh L. Imaging {Au<sub>0</sub>-PAMAM} gold-dendrimer nanocomposites in cells. *J Nanopart Res* 2002;4:395-403.
- Johnson SR, Evans SD, Mahon SW, Ulman A. Alkanethiol molecules containing an aromatic moiety self-assembled onto gold clusters. *Langmuir* 1997;13:51-7.
- Leff DV, Brandt L, Heath JR. Synthesis and characterization of hydrophobic, organically-soluble gold nanocrystals functionalized with primary amines. *Langmuir* 1996;12:4723-4730.



شکل ۴- تصویر الکتروفورز ژلی مربوط به نانوذره‌های نانوذره طلا-گلوتامات (۱) و طلا-گلوتامیک اسید (۲)



شکل ۵- شمای اکسید شدن تریپتوفان و فنیل آلانین



شکل ۶- نمایی از اتصال گلوتامیک اسیدهای اضافی به نانوذره طلا

17. Selvakannan PR, Mandal S, Phadtare S, Gole A, Pasricha R, Adyanthaya SD, et al. Water-dispersible tryptophan-protected gold nanoparticles prepared by the spontaneous reduction of aqueous chloroaurate ions by the amino acid. *J Colloid Interface Sci* 2004;269:97-102.
18. Gole A, Dash C, Soman C, Sainkar SR, Rao M, Sastry M. On the preparation, characterization, and enzymatic activity of fungal protease-gold colloid bioconjugates. *Bioconjugate Chem* 2001;12:684-690.
19. Joshi H, Shirude P, Bansal V, Ganesh KN, Sastry M. Isothermal titration calorimetry studies on the binding of amino acids to gold nanoparticles. *J Phys Chem B* 2004;108:11535-11540.
20. Bhargava SK, Booth JM, Agrawal S, Coloe P, Kar G. Gold nanoparticle formation during bromoaurate reduction by amino acids. *Langmuir* 2005;21:5949-5956.
21. Si S, Bhattacharjee RR, Banerjee A, Mandal TK. A mechanistic and kinetic study of the formation of metal nanoparticles by using synthetic tyrosine-based oligopeptides. *Chem Eur J* 2006;12:1256-1265.
22. Humbert C, Busson B, Abid J-P, Six C, Girault HH, Tadjeddine A. Self-assembled organic monolayers on gold nanoparticles: A study by sum-frequency generation combined with UV-vis spectroscopy. *Electrochimica Acta* 2005;50:3101-3110.
23. Kumar JB, Raj CR. Synthesis of flower-like gold nanoparticles and their electrocatalytic activity towards the oxidation of methanol and the reduction of oxygen. *Langmuir* 2007;23:4064-4070.
24. Sardar R, Park J-W, Shumaker-Parry JS. Polymer-induced synthesis of stable gold and silver nanoparticles and subsequent ligand exchange in water. *Langmuir* 2007;23:11883-11889.
25. Alvarez MM, Khoury JT, Schaaff TG, Shafigullin MN, Vezmar I, Whetten RL. Optical absorption spectra of nanocrystal gold molecules. *J Phys Chem B* 1997;101:3706-3712.
26. Schaaf TG, Shafigullin MN, Khoury JT, Vezmar I, Whetten RL, Cullen WG, et al. Isolation of smaller nanocrystal Au molecules: robust quantum effects in optical spectra. *J Phys Chem B* 1997;101:7885-7891.
27. Zaitoun MA, Mason WR, Lin CT. Magnetic circular dichroism spectra for colloidal gold nanoparticles in xerogels at 5.5 K. *J Phys Chem B* 2001;105:6780-6784.
28. Melinger JS, Kleiman VD, McMorrow D, Grohn F, Bauer BJ, Amis E. Ultrafast Dynamics of gold-based nanocomposite materials. *J Phys Chem A* 2003;107(18):3424-3431.
29. Papavassiliou GC. Optical properties of small inorganic and organic metal particles. *Prog Solid State Chem* 1979;12:185-271.
30. Pakiari AH, Jamshidi Z. Interaction of amino acids with gold and silver clusters. *J Phys Chem A* 2007;111(20):4391-4396.
31. Mandal S, Phadtare S, Sastry M. Interfacing biology with nanoparticles. *Current Applied Physics* 2005;5:118-127.
32. Yoo EJ, Li T, Park HG, Chang YK. Size-dependent flocculation behavior of colloidal Au nanoparticles modified with various biomolecules. *Ultramicroscopy* 2008;108(10):1273-1277.