اتصال آنتی‌بادیِ ضدمورفین به نانوذره‌های طلای تهیه شده با گلوتامیک اسید

Archive of SID

داود زارع[1] - عظیم اکبرزاده[2] - شهرام تنگستانی‌نژاد[3] - مجید مقدم[4] - نسیم برارپور[5] - مریم فرحناک[6]

چکیده

زمینه و هدف: نانوذره‌های طلا یکی از پرکاربردترین نانوذره‌های فلزی در زمینه‌های مختلف به ویژه نانوپزشکی و نانوزیست‌فناوری به شمار می‌رود. هدف از این پژوهش تولید نانوذره‌های طلا با اندازه بسیار کوچک با استفاده گلوتامیک اسید می‌باشد و پس از آن نانوذره‌های تولیدی به آنتی بادی ضد مورفین متصل می‌شود.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی نانوذره‌های طلا با روش کاهش شیمیایی، با استفاده از گلوتامیک اسید تهیه و پوشش دار شدند. تشکیل این ذره‌ها و اندازه‌ی آن‌ها پس از تولید با طیف‌سنجی فرابنفش- مرئی، تفرق دینامیکی نور و میکروسکوپ الکترونی عبوری تعیین شد. آنتی‌بادی ضدمورفین با تزریق ۴۰۰ µg/ml واکسن مورفین به ۹ خرگوش به صورت زیر جلدی پس از ۹۰ روز خالص سازی شد. بررسی ایمنی، مصونیت زایی و تولید آنتی‌بادی باروش ایمونودیفیوژن انجام شد. نانوذره‌های کلوییدی طلا ابتدا با بافرفسفات سالین سوسپانسیونی شده و سپس با پروتئین آنتی‌بادیِ ضد مورفین به مدت ۱۱۵ ساعت در انکوباتور ۴°C انکوبه و کونژوگه شدند؛ شناسایی نانوذره‌های متصل شده به پروتئین، توسط الکتروفورز ژلی سدیم دودسیل سولفات و طیف سنجی فرابنفش- مرئی انجام شد.

یافته‌ها: این ذره‌ها دارای بیشینه جذب در طول موج ۵۲۵ nm بوده و اندازه‌ی آن‌ها حدود ۲۰nm است. نوارهای ایجاد شده در SDS-PAGE مربوط به نانوذره‌های کونژوگه شده در مقایسه با نوارهای نمونه‌ی استاندارد به سمت بالا جابه‌جا شده است.

نتیجه گیری: گلوتامیک اسید قادر به تولید نانوذره‌های طلا بوده و با توجه به غیرسمی بودن آمینواسیدها، ذره‌های تولیدی با این روش، مورد مناسبی برای کاربردهای پزشکی و زیست فناوری خواهد بود؛ همچنین نانوذره های کونژوگه شده با آنتی بادی ضد مورفین می‌تواند به عنوان ماده مؤثر روش های تشخیص سریع مورفین قرار گیرد.

کلیدواژه ها: کونژوگه‌کردن؛ آنتی‌بادیِ ضدمورفین؛ نانوذره های طلا؛ گلوتامیک اسید

افق‌دانش؛ فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد (دوره۱۴؛ شماره ۴؛ زمستان سال ۱۳۸۷)

دریافت: ۱۳۸۷/۱۱/۷ اصلاح نهایی: ۱۳۸۷/۱۲/۱۱ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۲/۲۱

۱- **نویسنده مسؤول:** کارشناس ارشد شیمی معدنی، انستیتو پاستور ایران

آدرس: تهران - خیابان پاستور- خیابان ۱۲ فروردین- بخش پایلوت‌بیوتکنولوژی - انستیتو پاستور ایران

تلفن: ۰۹۱۲۲۰۸۶۸۷۲ نمابر: ۶۶۴۶۵۱۳۲-۰۲۱ پست الکترونیکی: zare_davood@yahoo.com

۲- دانشیار، دکتری بیوشیمی بالینی، انستیتو پاستور ایران

۳- استاد، دکتری شیمی معدنی، دانشگاه اصفهان

۴- دانشیار، دکتری شیمی معدنی، دانشگاه اصفهان

۵- کارشناس ارشد شیمی تجزیه، انستیتو پاستور ایران

۶- دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی آلی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

www.SID.ir

مقدمه

امروزه تحقیق‌ها و کاربردهای فناوری نانو[1] به شکل گسترده‌ای در حال توسعه می‌باشد. یکی از مهمترین شاخه‌های فناوری نانو، نانوذره‌ها بوده که در این میان نانوذره‌های طلا از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. سؤال این است که چه ویژگی‌هایی طلا را به عنوان یک ماده‌ی ایده‌آل برای چنین کاربردهای گسترده‌ای مطرح می‌کند؟ طلا به شکل انبوه و توده[2]، یک فلز زرد رنگ، نرم، خنثی با ساختار مکعب مراکز وجوه پر[3] و دمای ذوب $1068C^{\circ}$ است. هم‌چنین بی‌اثر[4] بودن طلا و مقاومت آن در برابر اکسایش سطحی یکی از ویژگی‌های مهم این ماده است. اما این ویژگی‌ها لزوماً در نانوذره‌های طلا مشاهده نمی‌شوند. طلا در مقیاس نانو، ویژگی‌هایی را بروز می‌دهد که آن را به فلز مهمی در فرآیندهای فناوری نانو تبدیل می‌کند. از سوی دیگر امروزه به اثبات رسیده است که نانوذره‌های طلا در تعدادی از واکنش‌های مهم تجاری، به‌عنوان کاتالیزگر کاربرد دارد. این نانو ذره‌ها در زمینه‌هایی چون کشاورزی، الکترونیک، کاتالیزگرها، رنگ‌ها، پوشش‌دهی سطوح و تولید داروهای زیستی کاربردهای متعددی دارد. با توجه به این ویژگی‌های بی‌نظیر، کاربردهای جدید فناوری نانو با استفاده از طلا در حال گسترش است (۶-۱). یکی از این کاربردهای مهم نانوذره‌های طلا، پزشکی است؛ تحقیق‌های اخیر صورت گرفته توسط دانشمندان علوم زیستی، شیمی و پزشکی نتیجه‌های بسیار جالبی را ایجاد نموده‌اند؛ که می‌توان به استفاده از نانوذرهای طلا در تولید نانو بارکد اشاره کرد، که به عنوان پایه‌ی روش نوین تشخیصی BCA[5] به شمار می‌رود؛ در این روش از کونژوگه‌های طلا و آنتی بادی استفاده می‌شود (۸-۷).

این پژوهش به دنبال چند هدف بوده است؛ ابتدا تهیه نانوذرات طلا؛ نانوذره‌های طلا تا به حال به روش‌های مختلفی تهیه شده‌اند ولی استفاده از آمینو اسیدها به عنوان عامل کاهنده در واکنش اکسایش-کاهش یون‌های طلا روشی جدید و قابل توجه می‌باشد؛ زیرا از یک سو آمینواسید ماده‌ای غیر سمی و سالم بوده (در مقایسه با سایر کاهنده‌ها مانند هیدرازین، ترکیبات بور هیدرات و سدیم سیترات) و از سوی دیگر این ماده نه تنها سبب کاهش یون‌های طلا می‌شود بلکه نقش پوشش دهندگی این ذره‌ها را نیز ایفا می‌کند که نکته‌ای حائز اهمیت در پایداری این نانوذره‌ها است. هدف دیگر اتصال نانوذره‌های طلا به آنتی بادی ضد مورفین است که می‌تواند به عنوان ماده مؤثر مفید برای روش‌های تشخیص سریع مورفین استفاده شود.

Archive of SID

روش تحقیق

روش تحقیق این پژوهش شامل چند مرحله است که جداگانه توضیح داده می‌شود:

مرحله اول: تهیه نانوذره‌های طلا

نانوذره‌های طلا به روش کاهش نمک طلای (III) در حضور آمینو اسید گلوتامیک اسید تهیه می‌شوند. به این منظور ۲ml محلول ۵mM تتراکلروآئوریک اسید (که قبلاً در آب مقطر یون زدایی شده حل شده است)، در یک بالون ۱۰۰میلی‌لیتری حاوی ۵۰ml آب مقطر یون زدایی شده اضافه شده و بالون روی گرم‌کن- هم‌زن قرار داده می‌شود. پس از رسیدن محلول به نقطه‌ی جوش خود، ۳ml از محلول گلوتامیک اسید (که قبلاً در آب مقطر یون زدایی شده حل شده و غلظت آن ۲۵mM است) روی آن افزوده و گرم کردن آن قدر ادامه می‌یابد تا رنگ محلول از بی‌رنگ به صورتی مایل به سرخ تغییر کند (که نشانه تولید نانوذره‌های طلا و انجام واکنش است)؛ سپس محلول به سرعت در حمام آب/ یخ قرار داده می‌شود.

مرحله دوم: شناسایی نانوذره‌های طلا

در این مرحله با استفاده از روش‌های طیف سنجی فرا بنفش- مرئی[6] (طیف سنج ساخت شرکت شیمادزو[7] و مدل ۱۶۰۱ می‌باشد)، تفرق دینامیکی نور[8] (از دستگاه زتا-سایزر[9]

1- Nanotechnology
2- Balk
3- Face centered cubic
4- Noble
5- Bio Barcode Amplification (BCA)

6- Ultra violet spectroscopy (UV-Vis)
7- Shimadzu
8- Dynamic Light Scattering (DLS)
9- Zeta-sizer

www.SID.ir

مدل ۳۰۰۰ ساخت شرکت مال‌ورن[1] استفاده شده است) و میکروسکوپ الکترونی عبوری[2] (میکروسکوپ مورد استفاده مدل JEOL-JEN 2010 است) به شناسایی نانوذره‌های تولید شده بررسی و آن‌ها پرداخته می‌شود.

مرحله سوم: سوسپانسون کردن نانوذره‌های کلوییدی طلا

در مرحله سوم از روش‌های تحقیق، نانوذره‌های طلا تولید شده به منظور آماده سازی جهت کونژوگه شدن به آنتی بادی ضد مورفین، توسط بافر فسفات سالین[3] سوسپانسیونی می‌شوند. نحوه‌ی انجام این کار بدین صورت است که ابتدا بافر فسفات سالین (PBS) با PH=۷/۴ از انحلال ۸ گرم سدیم کلرید، ۲/۸۲ گرم سدیم هیدروژن فسفات دارای ۱۲ آب و ۱/۴۲ گرم مونو سدیم فسفات دارای دو آب در یک لیتر آب مقطر یون زدایی شده تهیه می‌شود. سپس، ۲ml از آن با ۲ml محلول کلوییدی طلا در یک لوله درپوش‌دار مخلوط می‌شود، به محض مخلوط کردن این محلول‌ها با هم، رنگ محلول طلا از صورتی به بی‌رنگ (مایل به خاکستری) تغییر می‌یابد.

مرحله چهارم: تولید و خالص سازی آنتی‌بادیِ ضد مورفین

واکسن مورفین در سال ۱۳۷۴ شمسی توسط دکتر عظیم اکبرزاده به ثبت رسید؛ این واکسن دارای ماده مؤثر مورفین-۶- سوکسینات- سرم آلبومین گاوی[4] (M-6-S-BSA) بوده و آلومینیم هیدروکسید در این واکسن نقش یاور[5] را ایفا می‌کند که با ماده مؤثر واکسن در حالت محلول مخلوط می‌شود. این واکسن در حضور اجوانت (آلومینیوم هیدروکسید) پس از تزریق تولید آنتی‌بادی بر علیه مورفین خواهد کرد (۱۵-۱۲).

آزمایش مصونیت‌زایی در حیوان، شامل مطالعه روی ۹ خرگوش بود که چند دوز ماده مؤثر واکسن (M-6-S-BSA) در بافر فسفات همراه با اجوانت (آلومینیوم هیدروکسید) به صورت زیر جلدی تزریق شد. به هر خرگوش دوز ۴۰۰ µg/ml از واکسن مورفین تزریق می‌شود و جهت بررسی ایمنی، مصونیت‌زایی و تولید آنتی‌بادی نیز با روش ایمونودیفیوژن[6] مورد پژوهش قرار گرفتند. ۹۰ روز پس از تزریق، تولید آنتی بادی به حداکثر رسید و برای خالص سازی ایمنوگلوبولین G خون خرگوش‌هایی که بیش‌ترین دوز تزریق را داشتند استفاده شد.

Archive of SID

پس از خون‌گیری، خون‌ها به مدت ۲ ساعت در یخچال باقی مانده و پس از تشکیل لخته، با اپلیکاتور از جداره‌ی لوله جدا شده و با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس سرم به آرامی از روی لخته جمع آوری شد و پس از تقسیم در میکرو تیوب‌های مختلف، جهت انجام آزمون الایزا و حجم‌های بیش‌تر در لوله‌ی فالکون جهت رسم منحنی استاندارد تا زمان مصرف در ۲۰°C- نگه داری شد.

خالص سازی آنتی بادی ضد مورفین با روش کاپریلیک اسید از خون خرگوش های خوب ایمن شده انجام گرفت.

مرحله پنجم: کونژوگه کردن نانوذره‌های طلا به آنتی‌بادیِ ضد مورفین

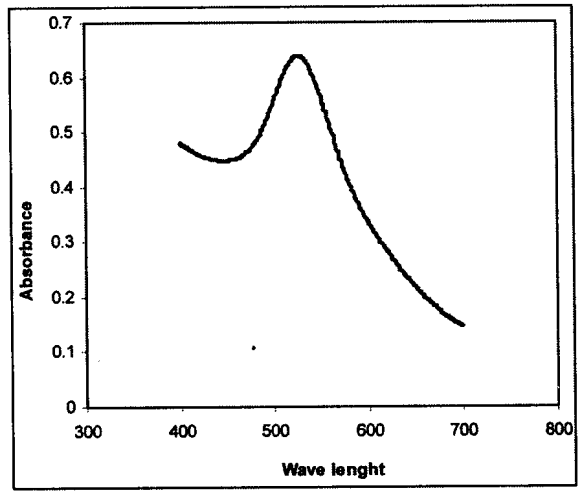
پس از تولید، شناسایی و سوسپانسیونی کردن نانوذره‌های طلا و هم‌چنین خالص سازی آنتی بادی، به منظور کونژوگه کردن این ذره‌ها ۳۰µl از نانوذره‌های طلا با ۱۰µl آنتی‌بادیِ ضد مورفین (با غلظت ۵mM) در یک لوله‌ی اپندورف ریخته شده به آرامی مخلوط می‌شود و سپس به مدت ۱۱۵ ساعت در انکوباتور با دمای ۴°C قرار داده می‌شود.

یافته‌ها

در مرحله دوم از روش تحقیق، یعنی شناسایی نانو ذره‌های کلوییدی طلا، سه روش مورد استفاده قرار گرفت که عبارت است از طیف سنجی UV-Vis، DLS و TEM. نتایج حاصل از این آزمون نشان داد که نانوذره‌های کلوییدی طلا دارای بیشینه جذبی در طول موج ۵۲۵nm ایجاد کرد. این عدد بیان‌گر تشکیل نانوذره‌های طلاست (۱۱-۹) (شکل ۱).

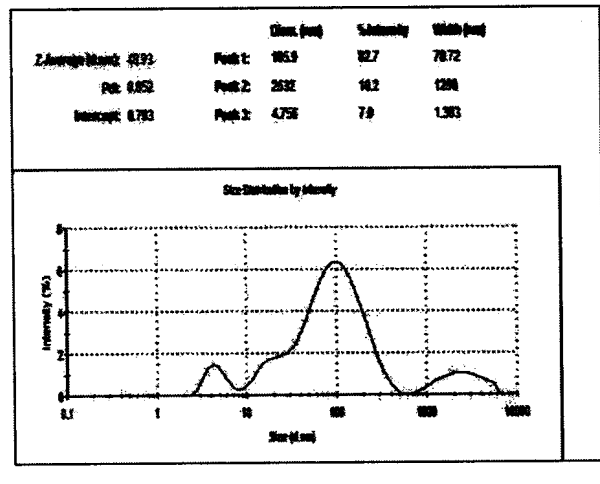
1- Malvern
2- Transmission Electron Microscopy (TEM)
3- Phosphate buffer saline
4- Bovine serum albumin
5- Adjuvant
6- Immunodiffusion

www.SID.ir



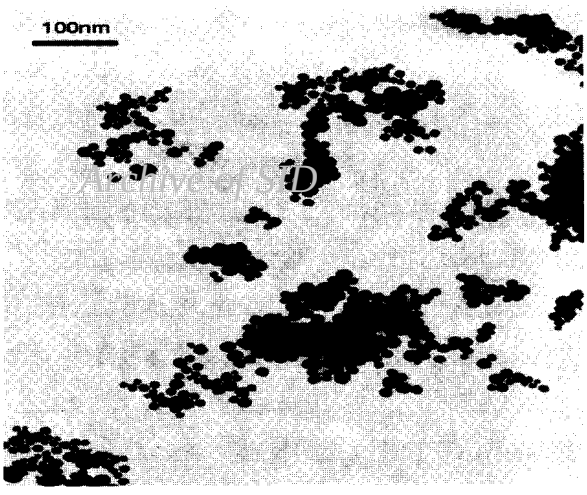
شکل ۱: طیف UV-Vis نانوذره‌های طلای تهیه شده توسط گلوتامیک اسید

سپس نانوذره‌های طلا توسط زتاسایزر مورد آنالیز DLS قرار گرفتند که نتیجه حاصل شده نشان داد که قطر میانگین ذره‌های طلا تقریباً ۴۹nm است (شکل۲).



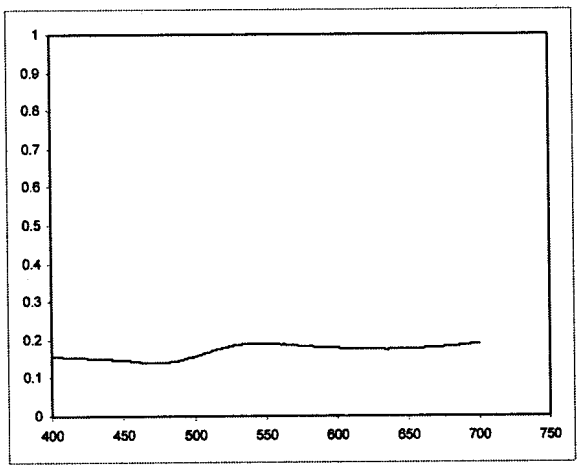
شکل۲: آنالیز DLS نانوذره‌های طلا توسط زتاسایزر

پس از آنالیز TEM مشخص گردید این ذره‌ها دارای قطر تقریبی ۲۰nm هستند (شکل۳).



شکل۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذره‌های طلای تهیه شده با گلوتامیک اسید

در مرحله سوم از روش تحقیق، نانوذره‌های طلا توسط PBS سوسپانسیونی شدند؛ در این مرحله جهت اطمینان از تشکیل سوسپانسیون طلا، از نمونه طیف UV-Vis گرفته شد که مشاهده شد باند جذبی موجود در ۵۲۵nm از بین رفته است که دلیلی بر سوسپانسیونی شدن این ذره‌ها است (شکل۴).



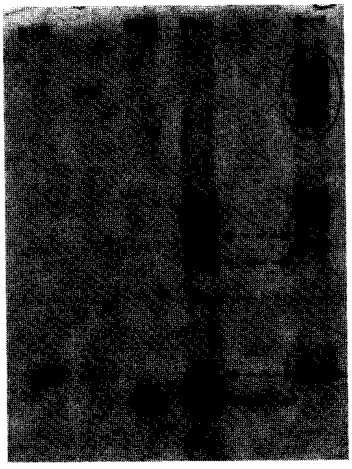
شکل۴: طیف UV-Vis حاصل از نانوذره‌های سوسپانسیونی طلا

در مرحله پنجم ، پس از کونژوگه کردن نانوذره‌های طلا و آنتی بادی، با استفاده از طیف سنجی UV-Vis و الکتروفورز ژلی پلی آکریل آمید[1] (SDS-PAGE) نمونه‌ها مورد تحلیل و آزمایش

1- Sodium Dodecyl Sulphate-PolyAcrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

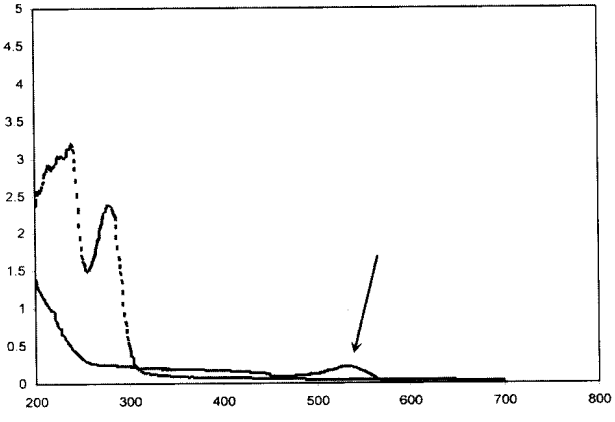
www.SID.ir

قرار گرفتند؛ نتایج SDS-PAGE نشان داد که نوارهای مربوط به نانوذره‌های کونژوگه شده اندکی بالاتر از لکه‌های نمونه استاندارد آنتی‌بادیِ قرار گرفته است. هم‌چنین از محلول نانوذره‌های کونژوگه شده طیف UV-Vis در محدوده ۷۰۰-۲۰۰nm گرفته شد که در مقایسه با طیف UV-Vis آنتی‌بادیِ خالص، پیک‌ها جابه‌جا شده و باند مربوط به نانوذره‌های طلا که در نمونه سوسپانسونی طلا از بین رفته بود، دوباره در ۵۲۸nm ظاهر شده است (شکل ۶و۵).



شکل ۵: تصویر ژل SDS-PAGE حاصل از کونژوگه شدن نانو ذره‌های طلا و آنتی‌بادی (۱) و آنتی بادی خالص (نمونه استاندارد) (۲)

* توضیح: وجود فلش‌ها در این شکل نشان دهنده‌ی بالاتر رفتن باند مربوط به نمونه‌های کونژوگه شده نسبت به نمونه استاندارد (آنتی بادی خالص) است، که بیان‌گر افزایش وزن مولکولی ذره‌های کونژوگه شده است و ظاهر شدن چند لکه جدید با وزن مولکولی‌های خیلی بالا نیز حاکی از کونژوگه شدن تعداد بیشتر آنتی بادی و نانوذره‌های طلاست.



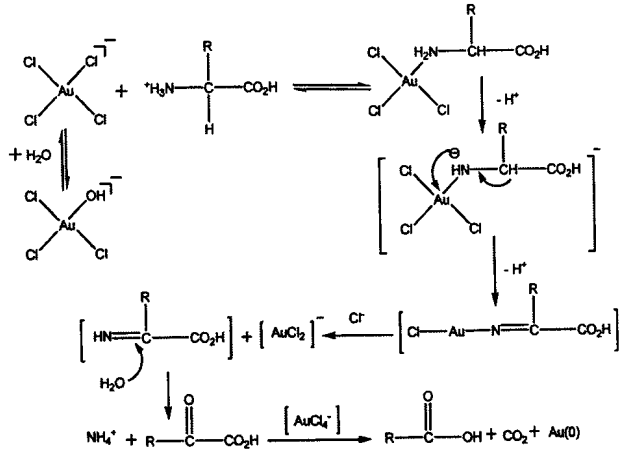
شکل۶: طیف‌های UV-Vis مربوط به آنتی‌بادی ضد مورفین خالص (نقطه‌چین) و نانوذره‌های کونژوگه شده با آنتی‌بادی

* توضیح: پیکان نشان داده شده در شکل بالا بیان‌گر ظاهر شدن مجدد پیک مربوط به نانوذره‌های کلوییدی طلاست که پس از کونژوگه شدن با آنتی بادی دوباره ایجاد شده است.

www.SID.ir

بحث

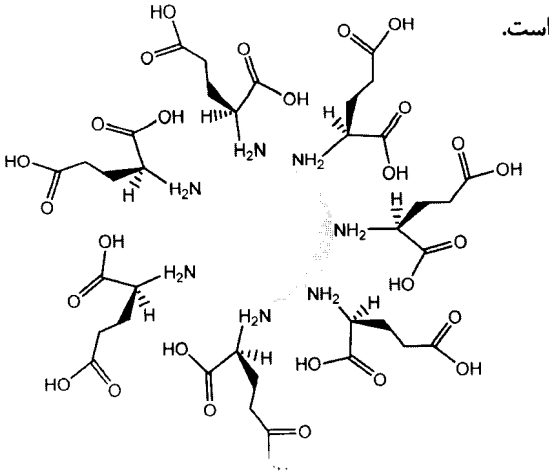
تتراکلروآئوریک اسید بر اثر انحلال در آب تولید یون یک بار منفی ترا کلرو طلا خواهند کرد؛ این آنیون حاوی کاتیون طلای (III) بوده که این کاتیون می‌بایست طی یک فرایند اکسایش-کاهش به طلای (۰) تبدیل شود. این کار توسط گلوتامیک اسید انجام می‌گیرد. گلوتامیک اسید یک آمینو اسید با دو گروه کربوکسیلیک اسید است که طی مکانیسم زیر اکسید شده، سبب کاهش یون‌های طلای (III) به طلای (۰) می‌شود. در مورد نحوه اکسایش آمینواسیدها پژوهش‌هایی در مقالات محققان وجود دارد که از آن جمله می‌توان به مکانیسم ارائه شده در مورد گلایسین اشاره کرد که در این‌جا جهت روشن شدن نحوه کاهش طلای (III) توسط گلوتامیک اسید استفاده شده است (۱۶) (شکل۷).



شکل۷: مکانیسم کاهش یون طلای (III) در حضور گلوتامیک اسید

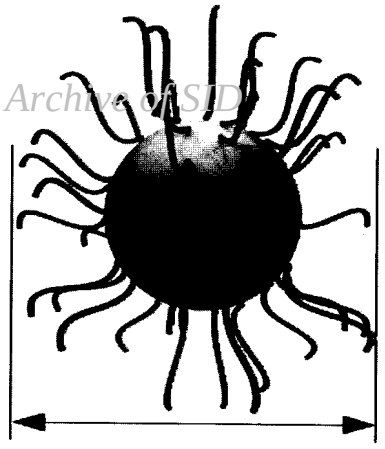
همان‌طور که در مکانیسم مشاهده می‌شود نانوذره‌های طلا طی یک فرآیند اکسایش- کاهش تولید می‌شوند. این ذره‌ها به‌صورت کلویید در محلول خواهند بود و سبب رنگی شدن محلول می‌شوند. همین عامل موجب می‌شوند که طیف- سنجی UV-Vis یکی از روش‌های ساده برای شناسایی نانوذره‌های کلوییدی طلا باشد و همان طور که گفته شد این ذره‌ها دارای بیشینه جذب در طول موج ۵۲۵nm هستند که با توجه به گزارش‌های دیگر، وجود چنین جذبی بیان‌گر تولید نانوذره‌های طلا است (۱۱-۹).

از نکات قابل توجه در این پژوهش مقدار اضافی گلوتامیک اسید (عامل کاهنده یون طلا) است. کاتیون طلا دارای سه بار مثبت بوده و جهت کاهش به طلای خالص نیاز به سه الکترون دارد؛ از سوی دیگر به ازای اکسایش هر مولکول گلوتامیک اسید یک الکترون آزاد می‌شود؛ با این توضیح نسبت سه به یک از گلوتامیک اسید به طلا جهت کاهش یون‌های طلا کافی می‌باشد؛ در حالی که نسبت مورد استفاده در این پژوهش ۷/۵ به ۱ است؛ علت این موضوع این است که، مقدار اضافی آمینواسید در این فرایند دو مزیت دارد؛ اول این که سبب کامل شدن واکنش کاهش شده و دوم این که به دلیل فعالیت بسیار بالای نانوذره‌های طلا، مقدار اضافی گلوتامیک اسید به‌عنوان پوشش دهنده‌ی ذره‌های طلا عمل کرده و نقش پایدار کننده را نیز ایفا می‌کند؛ این اتصال از طریق جاذبه بین جفت الکترون‌های غیر پیوندی در گروه آمین آمینواسید و اوربیتال‌های خالی طلا ایجاد خواهد شد (شکل۸). این کار نه تنها موجب پایداری بیشتر نانوذره‌های طلا می‌شود بلکه سبب اتصال (کونژوگه شدن) راحت‌تر پروتئین به نانوذره‌های می‌شود. گروه کربوکسیل موجود در موقعیت گامای گلوتامیک اسید محل مناسبی جهت کونژوگه شدن پروتئین به این نانوذره‌ها است.



شکل۸: نمایی از اتصال گلوتامیک اسیدهای اضافی به نانوذره طلا

پس از تأیید تولید نانوذره‌های طلا، گام بعدی اندازه‌گیری اندازه قطر این ذره‌ها بود که ابتدا روش DLS مورد استفاده قرار گرفت. در روش DLS قطر اندازه‌گیری شده، قطر دینامیکی ذره‌ها یا در واقع میانگین قطر ذره‌هایی اندازه‌گیری می‌شود که اطراف هر ذره را مولکول‌های گلوتامیک اسید پوشانده است (شکل۹).



شکل ۹: تصویر قطر اندازه‌گیری شده توسط زتاسایزر (۱۷)

در واقع قطر اندازه‌گیری شده با این روش قطر نانوذره‌های طلا با پوشش مولکول‌های گلوتامیک اسید خواهد بود. لذا اگر قطر نانوذره‌های طلا با روش DLS (۴۹nm) را با قطر ذره‌های اندازه‌گیری شده با روش TEM (تقریباً ۲۰nm) مقایسه شود، این موضوع به‌روشنی مشخص خواهد بود.

پس از کونژوگه شدن نانوذره‌های طلا با پروتیین همان‌طور که در شکل ۵ نیز مشاهده می‌شود نوارهای مربوط به الکتروفورز نمونه کونژوگه شده نسبت به نوارهای حاصل از نمونه استاندارد کاملاً جابه‌جایی داشته‌اند. علت این موضوع اتصال پروتئین به نانوذره‌های طلا و بالا رفتن وزن مولکولی آن‌ها است؛ همان طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با مقایسه نانوذره‌های کونژوگه شده و آنتی بادی خالص می‌توان این افزایش را به طور کاملاً محسوس دید؛ هم چنین برخی از نانوذره‌های طلا که با تعداد زیادی پروتئین کونژوگه شده اند، سبب ایجاد لکه‌های جدید با وزن مولکولی‌های بالا شده که در شکل ۵ با خطی که اطراف آن رسم شده کامل مشخص شده است. از سوی دیگر با مقایسه طیف UV-Vis آنتی‌بادی خالص با آنتی‌بادی کونژوگه در شکل ۶، می‌توان مشاهده کرد که باندهای جذبی مربوط به آنتی‌بادی خالص که در محدوده ۳۰۰-۲۰۰nm وجود دارد در نمونه آنتی‌بادی کونژوگه شده جا به جا شده و به سمت طول موج‌های

Archive of SID
www.SID.ir

کوتاهتر سوق پیدا کرده است (باندهای جذبی در نمونه کونژوگه جابجایی آبی[1] پیدا کرده‌اند).

نانوذره های طلا بر اثر سوسپانسیون شدن به هم‌دیگر چسبیده، رسوب می‌کنند و اندازه‌ی این ذره‌ها بزرگ‌تر خواهد شد؛ همین موضوع سبب می‌شود که به دلیل اندازه بزرگ و ایجاد تفرق، در طیف UV-Vis حاصل از آن جذبی مشاهده نشود (شکل۴). اما در اثر افزایش پروتئین به این ذره‌ها و کونژوگه شدن آنها این ذره‌ها دوباره از هم‌دیگر جدا شده و از نو در طیف UV-Vis جذب ایجاد می‌کنند که در شکل ۶ این جذب با یک پیکان نشان داده شده است و باند جذبی مربوط به نانوذره های طلا دوباره در ۵۲۸ nm ظاهر گردیده که البته نسبت به حالت خالص اندکی جابه‌جایی سرخ[2] داشته است و می‌توان علت آن را در درشت‌تر شدن نانوذره‌های طلا در حالت کونژوگه نسبت به حالت خالص دانست.

نتیجه گیری

نانوذره‌های طلای تولید شده با اندازه‌ی تقریبی ۲۰ نانومتر با استفاده از آمینواسید تهیه شده و با توجه به استفاده از یک ماده‌ی غیر سمی و سالم در تهیه آن‌ها، برخی نگرانی‌ها در مورد خطرات ناشی از سمیت کاهنده ها از بین خواهد رفت. از سوی دیگر گلوتامیک اسید در تهیه نانوذره‌ها نه‌تنها عامل کاهنده کاتیون‌های طلاست بلکه مقدار اضافی این آمینو اسید به‌عنوان پوشش دهنده و پایدارکننده نانوذره‌ها خواهد بود و هم چنین با توجه به ساختار گلوتامیک اسید و وجود دو گروه کربوکسیلیک اسید، ساختاری ویژه پس از اتصال آن به نانوذره ایجاد خواهد شد که محل مناسبی جهت اتصال پروتئین‌ها خواهد بود و همان طور که در مقدمه نیز اشاره شد یکی از کاربردهای مهم نانوذره‌های طلا در پزشکی و زیست فناوری بوده که می توان به استفاده از نانوذره‌های عامل دار طلا در ایجاد روش‌های نوین تشخیصی اشاره کرد. نانوذره‌های طلای تهیه شده در این پژوهش با توجه به پوشش دار بودنشان توسط گلوتامیک اسیدهای اضافی، محل مناسبی جهت اتصال آنتی بادی خواهد بود و ماده مؤثر تولید شده (نانوذره طلا-گلوتامیک اسید-آنتی بادی ضد مورفین) با توجه به تعداد بسیار زیاد آنتی بادی متصل به یک نانوذره می‌تواند پیشنهاد مناسبی در تهیه کیت‌های تشخیص سریع مورفین قرار گیرد (شکل۸).

Archive of SID

تشکر و قدردانی

بدین وسیله 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 به ویژه آقای دکتر محمد ارجمند، خانم دکتر روحی و آقای شهباز محمدی جهت همکاری بی‌دریغ و انجام آنالیزهای مختلف ابراز می‌داریم.

References:

1- Watanabe K, Menzel D, Nilius N, Freund H-J. Photochemistry on Metal Nanoparticles. Chem. Rev. 2006; 106: 4301- 4320.

2- Salata O. Nanoparticles – known and unknown health risks. Journal of Nanobiotechnology 2004; 2: 1-12.

3- Mirkin C.A, Taton T.A. Materials Chemistry: Semiconductors Meet Biology. Nature 2000; 405: 626-627.

4- Yang P, Zhang W, Du Y, Wang X. Hydrogenation of nitrobenzenes catalyzed by platinum nanoparticle core-polyaryl ether trisacetic acid ammonium chloride dendrimer shell nanocomposite Journal of Molecular Catalysis A 2006. 260: 4-10.

www.SID.ir

1- Blue shift
2- Red shift

5- Daniel M.C, Astruc D. Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. Chem. Rev. 2004; 104: 293-346.

6-Thompson D.T. Using gold nanoparticles for catalysis. Nanotoday 2007; 2(4): 40-43.

7- Nam J, Thaxton C.S, Mirkin C.A. Nanoparticle-Based Bio-Bar Codes for the Ultrasensitive Detection of Proteins. Science 2003; 301: 1884-1886.

8- Klein L, Mirkin C.A. Nanoparticle-based detection in cerebral spinal fluid of a soluble pathogenic biomarker for Alzheimer's disease. PNAS 2005; 102(7): 2273-2276.

9- Humbert C, Busson B, Abid J-P, Six C, Girault H.H, 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.

10- Kumar Jena B, Raj C.R. 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.

11- Sardar R, Park J-W, Shumaker-Parry J.S. Polymer-Induced Synthesis of Stable Gold and Silver Nanoparticles and Subsequent Ligand Exchange in Water. Langmuir 2007; 23: 11883-11889.

12- Akbarzadeh A, Norouzian D, Farahmand B, Nouri Inanlou D. Rapid Latex agglutination inhibition reaction test for Morphine in urine. Current science 2002; 83(1): 57-60.

13-Akbarzadeh A, Mehraby M, Zarbakhsh M, Farzaneh H. Design and synthesis of a morphine-6-succinyl-bovine serum albumin hapten for vaccine development. Appli. Biochem.1999; 30: 139-145.

14- Akbarzadeh A. Production of antimorphine antibody. Asrar 1996; 1: 9-20.

15- Akbarzadeh A, Farahmand B. Production of morphine vaccine. Asrar 1999; 3:10-21.

16- Zou J, Guo Z, Parkinson J, Chen Y, Sadler P. Gold (III)-induced oxidation of glycine. Chem. Commun 1999, 1359-1360.

www.SID.ir

17- Dynamic Light Scattering (DLS), Malvern Instruments. viewed 2007-12-04, Available at http://www.malvern.co.uk/LabEng/technology/dynamic_light_scattering/dynamic_light_scattering.htm.