

داود زارع^۱ - عظیم اکبرزاده^۲ - شهرام تنگستانی نژاد^۳ - مجید مقدم^۴ - نسیم برازپور^۵ - مریم فرحناک^۶

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 از 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 ضد مورفین با تزریق ۴۰۰ µg/ml واکسن مورفین به ۹ خرگوش به صورت زیر جلدی پس از ۹۰ روز خالص سازی شد. بررسی ایمنی، مصنوعیت زایی و تولید آنتی‌بادی باروش ایمونودیفیوژن انجام شد. نانوذره‌های کلوییدی طلا ابتدا با بافر فسفات سالین سوسپانسیونی شده و سپس با پروتئین آنتی‌بادی ضد مورفین به مدت ۱۱۵ ساعت در آنکوباتور ۴°C آنکوبه 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 ۲۰ nm 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 نانوذره‌های کونژوگه شده با آنتی بادی ضد مورفین می‌تواند به عنوان ماده مؤثر روش‌های تشخیص سریع مورفین قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: کونژوگه کردن؛ آنتی‌بادی ضد مورفین؛ نانوذره‌های طلا؛ گلوتامیک اسید

افق دانش؛ فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد (دوره ۱۴؛ 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 پالوت بیوتکنولوژی - انستیتو پاستور ایران
تلفن: ۰۹۱۲۲۰۸۶۸۷۲ - نمابر: ۰۲۱-۶۶۴۶۵۱۳۲ - 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

به عنوان عامل نامیده در واکنش اسید-بیس یون می‌تواند 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.

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 طلا (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 ۱۰۰ میلی‌لیتری 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 طیفسنجی فرا بنفش - مرئی^۶ (طیف سنج ساخت شرکت شیمادزو^۷ و مدل ۱۶۰۱ می‌باشد)، تفرق دینامیکی نور^۸ (از دستگاه زتا-سایزر^۹

امروزه تحقیق‌ها و کاربردهای فناوری نانو^۱ 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^۲، یک فلز زرد رنگ، نرم، خنثی با ساختار مکعب مراکز وجوه پر^۳ و دمای ذوب^۴ ۱۰۶۸°C است. هم‌چنین بی‌اثر^۴ 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، کاتالیزرها، 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 نانوذره‌های طلا در تولید نانو بارکد اشاره کرد، که به عنوان پایه‌ی روش نوین تشخیصی^۵ BCA^۵ 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

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

بررسی ایمنی، مصنوعیت‌زایی و تولید آنتی‌بادی نیز با روش ایمونودیفیوژن^۶ مورد پژوهش قرار گرفتند. ۹۰ روز پس از تزریق، تولید آنتی‌بادی به حداکثر رسید و برای خالص سازی ایمنوگلوبولین G خون خرگوش‌هایی که بیش‌ترین دوز تزریق را داشتند استفاده شد.

پس از خون‌گیری، خون‌ها به مدت ۲ ساعت در یخچال باقی مانده و پس از تشکیل لخته، با اپلیکاتور از جداری 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 20°C نگه داری شد.

خالص سازی آنتی‌بادی ضد مورفین با روش کاپریلیک اسید از خون خرگوش‌های خوب ایمن شده انجام گرفت.
مرحله پنجم: کونزوگه کردن نانوذره‌های طلا به آنتی‌بادی ضد مورفین

پس از تولید شناسایی و سوسپانسیون کردن نانوذره‌های طلا و هم‌چنین خالص سازی آنتی‌بادی، به منظور کونزوگه کردن این ذره‌ها $30\mu\text{l}$ از نانوذره‌های طلا با $10\mu\text{l}$ آنتی‌بادی ضد مورفین (با غلظت 5mM) در یک لوله‌ی اپندورف ریخته شده به آرامی مخلوط می‌شود و سپس به مدت ۱۱۵ ساعت در آنکوباتور با دمای 4°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 طیف‌سنجی UV-Vis، DLS و TEM. نتایج حاصل از این آزمون نشان داد که نانوذره‌های کلوییدی طلا دارای بیشینه جذبی در طول موج 525nm ایجاد کرد. این عدد بیان‌گر تشکیل نانوذره‌های طلاست (۹-۱۱) (شکل ۱).

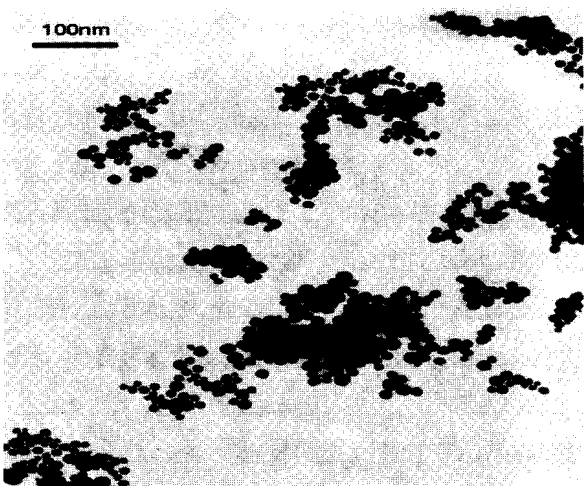
مدل ۳۰۰۰ ساخت شرکت مال‌ورن^۱ استفاده شده است) و میکروسکوپ الکترونی عبوری^۲ (میکروسکوپ مورد استفاده مدل JEOL-JEN 2010 است) به شناسایی نانوذره‌های تولید شده بررسی و آن‌ها پرداخته می‌شود.

مرحله سوم: سوسپانسیون کردن نانوذره‌های کلوییدی طلا
در مرحله سوم از روش‌های تحقیق، نانوذره‌های طلا تولید شده به منظور آماده سازی جهت کونزوگه شدن به آنتی‌بادی ضد مورفین، توسط بافر فسفات سالین^۳ سوسپانسیون می‌شوند. نحوه‌ی انجام این کار بدین صورت است که ابتدا بافر فسفات سالین (PBS) با $\text{pH}=7.4$ از انحلال ۸ گرم سدیم کلرید، $2/82$ گرم هیدروژن فسفات دارای ۱۲ آب و $1/42$ گرم مونو سدیم فسفات دارای دو آب در یک لیتر آب مقطر یون زدایی شده تهیه می‌شود. سپس، 2ml از آن با 2ml 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.

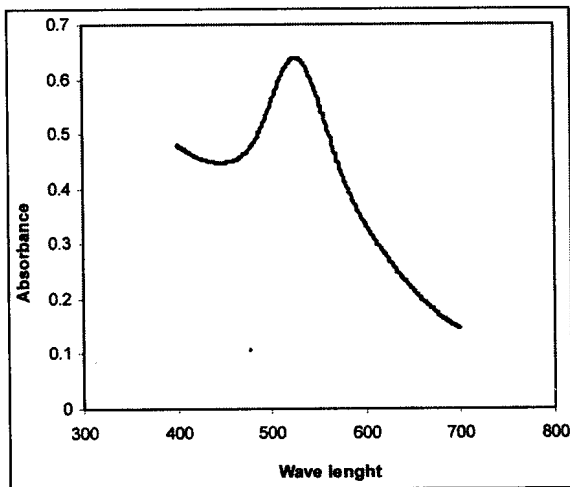
مرحله چهارم: تولید و خالص سازی آنتی‌بادی ضد مورفین
واکسن مورفین در سال ۱۳۷۴ شمسی توسط دکتر عظیم اکبرزاده به ثبت رسید؛ این واکسن دارای ماده مؤثر مورفین-۶- سوکسینات- سرم آلبومین گاوی^۴ (M-6-S-BSA) بوده و آلومینیم هیدروکسید در این واکسن نقش یاور^۵ را ایفا می‌کند که با ماده مؤثر واکسن در حالت محلول مخلوط می‌شود. این واکسن در حضور اجوانت (آلومینیوم هیدروکسید) پس از تزریق تولید آنتی‌بادی بر علیه مورفین خواهد کرد (۱۵-۱۲).

آزمایش مصنوعیت‌زایی 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 $400\mu\text{g/ml}$ از واکسن مورفین تزریق می‌شود و جهت

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



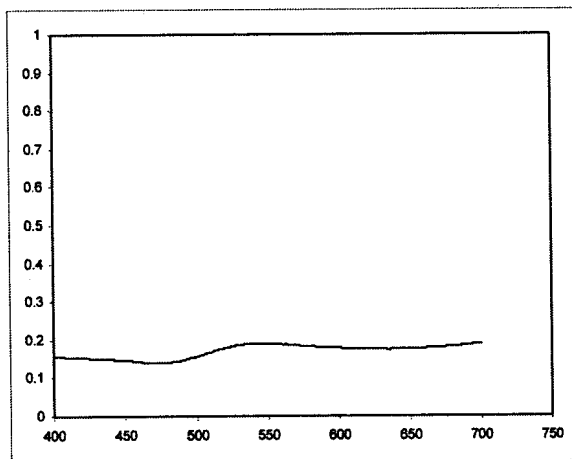
شکل ۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذره‌های طلائی تهیه شده با گلوتامیک اسید



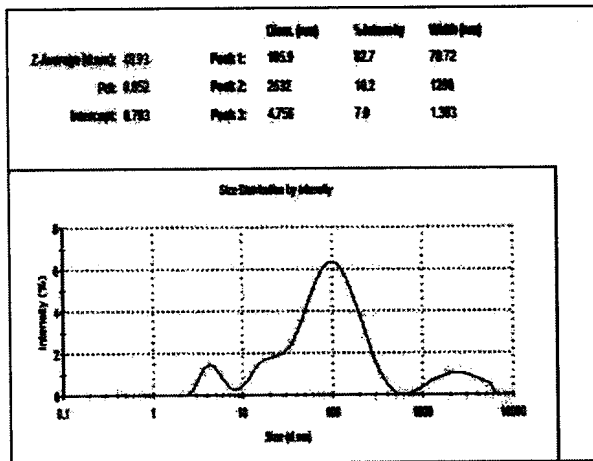
شکل ۱: طیف UV-Vis نانوذره‌های طلائی تهیه شده توسط گلوتامیک اسید

در مرحله سوم از روش تحقیق، نانوذره‌های طلا توسط PBS سوسپانسیون 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 سوسپانسیون شدن این ذره‌ها است (شکل ۴).

پس نانوذره‌های طلا توسط زتاسایزر مورد آنالیز DLS قرار گرفتند که نتیجه حاصل شده نشان داد که قطر میانگین ذره‌های طلا تقریباً ۴۹nm است (شکل ۲).



شکل ۴: طیف UV-Vis حاصل از نانوذره‌های سوسپانسیونی طلا در مرحله پنجم، پس از کونژوگه کردن نانوذره‌های طلا و آنتی‌بادی، با استفاده از طیف‌سنجی UV-Vis و الکتروفورز زلی پلی‌آکریل‌آمید^۱ (SDS-PAGE) نمونه‌ها مورد تحلیل و آزمایش



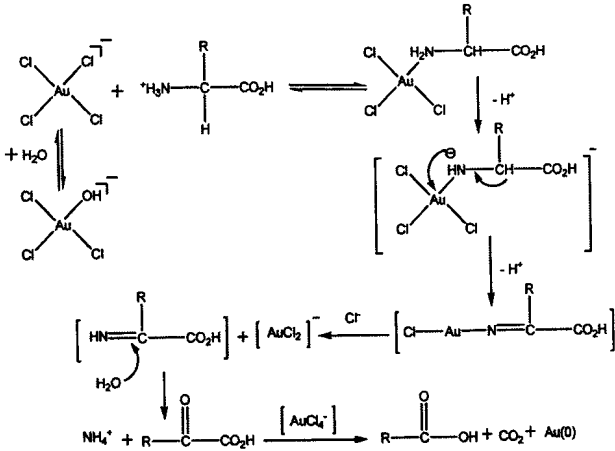
شکل ۲: آنالیز DLS نانوذره‌های طلا توسط زتاسایزر

پس از آنالیز TEM مشخص گردید این ذره‌ها دارای قطر تقریبی ۲۰nm هستند (شکل ۳).

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

بحث

تتراکلروآئوریک اسید بر اثر انحلال در آب تولید یون یک بار منفی تترا کلرو طلا خواهند کرد؛ این آنیون حاوی کاتیون طلا (III) بوده که این کاتیون می‌بایست طی یک فرایند اکسایش-کاهش به طلا (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 طلا (III) به طلا (۰) می‌شود. در مورد نحوه اکسایش آمینواسیدها پژوهش‌هایی در مقالات محققان وجود دارد که از آن جمله می‌توان به مکانیسم ارائه شده در مورد گلايسين اشاره کرد که در این جا جهت روشن شدن نحوه کاهش طلا (III) توسط گلوتامیک اسید استفاده شده است (۱۶) (شکل ۷).

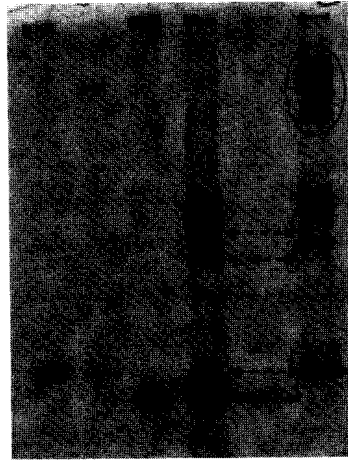


R = -CH₂-CH₂-COOH

شکل ۷: مکانیسم کاهش یون طلا (III) در حضور گلوتامیک اسید

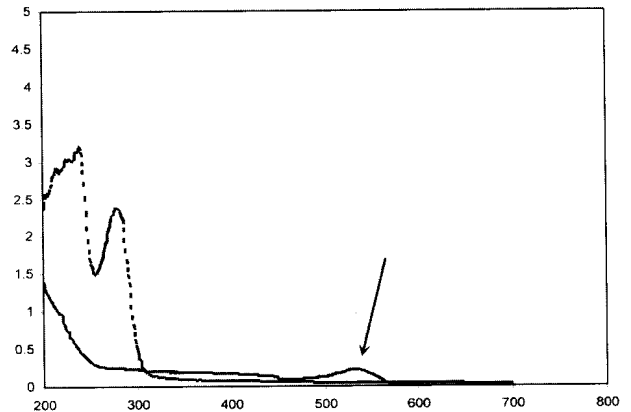
همان‌طور که در مکانیسم مشاهده می‌شود نانوذره‌های طلا طی یک فرایند اکسایش-کاهش تولید می‌شوند. این ذره‌ها به صورت کلویید در محلول خواهند بود و سبب رنگی شدن محلول می‌شوند. همین عامل موجب می‌شوند که طیف-سنجی UV-Vis یکی از روش‌های ساده برای شناسایی نانوذره‌های کلوییدی طلا باشد و همان‌طور که گفته شد این ذره‌ها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

قرار گرفتند؛ نتایج SDS-PAGE نشان داد که نوارهای مربوط به نانوذره‌های کونژوگه شده اندکی بالاتر از لکه‌های نمونه استاندارد آنتی‌بادی 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 آنتی‌بادی 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 ۵).



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

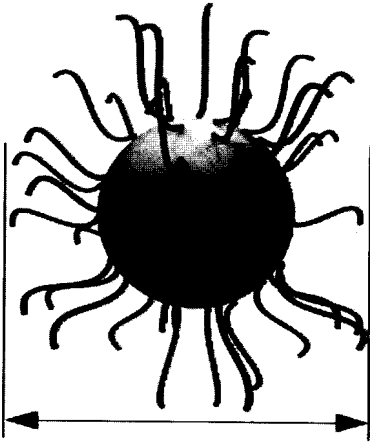
* توضیح: وجود فلش‌ها در این شکل نشان دهنده‌ی بالاتر رفتن باند مربوط به نمونه‌های کونژوگه شده نسبت به نمونه استاندارد (آنتی‌بادی خالص) است، که بیان‌گر افزایش وزن مولکولی ذره‌های کونژوگه شده است و ظاهر شدن چند لکه جدید با وزن مولکولی‌های خیلی بالا نیز حاکی از کونژوگه شدن تعداد بیشتر آنتی‌بادی و نانوذره‌های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



شکل ۶: طیف‌های UV-Vis مربوط به آنتی‌بادی ضد مورفین خالص (نقطه چین) 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 آنتی‌بادی دوباره ایجاد شده است.

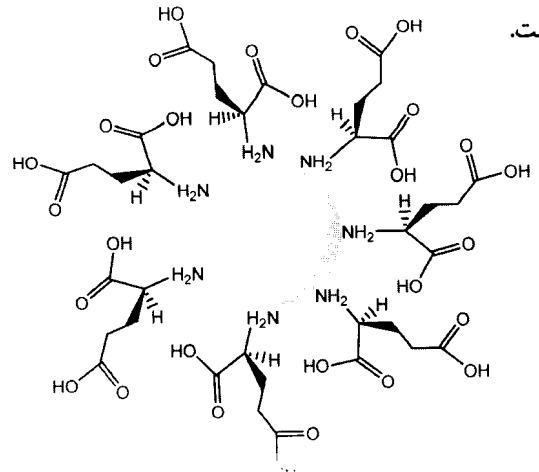
اندازه‌گیری می‌شود که اطراف هر ذره را مولکول‌های گلوتامیک اسید پوشانده است (شکل ۹).



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 به روشنی مشخص خواهد بود.

پس از کونژوگ شدن نانوذره‌های طلا با پروتئین همان‌طور که در شکل ۵ نیز مشاهده می‌شود نوارهای مربوط به الکتروفورز نمونه کونژوگ 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؛ همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با مقایسه نانوذره‌های کونژوگ 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 کونژوگ شده‌اند، 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 کونژوگ در شکل ۶ می‌توان مشاهده کرد که باندهای جذبی مربوط به آنتی‌بادی خالص که در محدوده ۲۰۰-۳۰۰nm وجود دارد در نمونه آنتی‌بادی کونژوگ شده جا به جا شده و به سمت طول موج‌های

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 دهنده 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 (شکل ۸). این کار نه تنها موجب پایداری بیشتر نانوذره‌های طلا می‌شود بلکه سبب اتصال (کونژوگ شدن) راحت‌تر پروتئین به نانوذره‌های می‌شود. گروه کربوکسیل موجود در موقعیت گامای گلوتامیک اسید محل مناسبی جهت کونژوگ شدن پروتئین به این نانوذره‌ها است.



شکل ۸: نمایی از اتصال گلوتامیک اسیدهای اضافی به نانوذره طلا پس از تأیید تولید نانوذره‌های طلا، گام بعدی اندازه‌گیری 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

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 می‌توان 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 (شکل ۸).

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 به‌ویژه آقای دکتر محمد ارجمند، خانم دکتر روحی و آقای شهباز محمدی جهت همکاری بی‌دریغ و انجام آنالیزهای مختلف ابراز می‌داریم.

کوتاهتر سوق پیدا کرده است (باند‌های جذبی در نمونه کونژوگه جابجایی آبی^۱ پیدا کرده‌اند).

نانوذره‌های 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 (شکل ۴). 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 نانوذره‌های طلا دوباره در ۵۲۸ nm ظاهر گردیده که البته نسبت به حالت خالص اندکی جابجایی سرخ^۲ 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 کاهنده‌ها از بین خواهد رفت. از سوی دیگر گلوتامیک اسید در تهیه نانوذره‌ها نه تنها عامل کاهنده کاتیون‌های طلاست بلکه مقدار اضافی این آمینو اسید به‌عنوان پوشش دهنده و

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.

- 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.
- 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.