



بیست و ششمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران و
دوازدهمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران،
دانشگاه خوارزمی،
تهران، ایران.
۱۶-۱۵ بهمن ۱۳۹۸



کنترل جریان عبوری از غشاء لیپیدی با استفاده از گرمایش حاصل از برانگیختی لیزری نانوذرات طلا

میرحسین سید نظری^۱، پوریا قاسمی^۱، سیده مهشاد حسینی^۱، فاطمه عارف نیا^۱، جواد فحانیک بابائی^۲،
افسانه الیاسی^۲ و محمد اسماعیل زیبائی^{۱*}

^۱پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
^۲گروه نوروفیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

[*m_zibaye@sbu.ac.ir](mailto:m_zibaye@sbu.ac.ir)

چکیده - در این مقاله، ما از دستکاری دمایی غشاء دولایه‌ای لیپیدی برای کنترل برگشت‌پذیر مقاومت الکتریکی و مقدار جریانی که از غشاء لیپیدی با تفکیک‌پذیری pA عبور می‌کند، استفاده کردیم. برای این آزمایش، گرمایش توسط تابش به نانوذراتی که اطراف غشاء را احاطه کرده اند با نور لیزر در فرکانس تشدید پلاسمونی‌شان بدست می‌آید. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که نانوذرات طلا با تبدیل نور به حرارت موضعی، ایجاد منابع حرارتی موضعی و بسیار کوچک، منجر به افزایش نفوذپذیری غشاء لیپیدی می‌شوند. تمام فرآیندها با میکروسکوپ میدان روشن و تجهیزات پیچ - کلمپ کنترل می‌شود. این رویکرد از کنترل سیستم‌های زیستی و عملکردهای سلولی با تفکیک‌پذیری فضایی - زمانی بالا می‌تواند برای تحریک نوری سیستم‌های عصبی استفاده شود.

کلید واژه- تحریک نوری، گرمایش پلاسمونیک، غشاء فسفولیپیدی، نانوذرات طلا

Controlling of Current Across Lipid Membranes using Laser-Induced Gold Nanoparticle Heating

Mir Hossein seyed Nazari¹, Pouria Ghasemi¹, Seyedeh Mahshad Hosseini¹, Fatemeh Arefnia¹,
Javad Fahanik Babaei², Afsaneh Eliassi² and Mohammad Ismail Zibaii^{1,*}

¹Laser and Plasma Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran

²Department of Physiology, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran

Abstract- In this paper, we used temperature manipulation a bilayer lipid membrane (BLM) to reversibly control the electrical resistance and the amount of current that flows through the bilayer membrane with pA resolution. For this experiment, heating is achieved by irradiating AuNPs that are surrounded by the bilayer membrane with laser light at their plasmon resonance frequency. Obtained results show that the AuNPs convert light into local heating, creating small and localized heat sources, lead to the formation of a small pore in the lipid membrane and ultimately allowing increasing the permeability of BLMs. The whole process is monitored with bright field microscopy and patch-clamp equipment. This approach of controlling biological systems and cellular function with high Spatio-temporal resolution can be used for neuronal photostimulation.

Keywords: Optical stimulation, Plasmonic heating, Phospholipid membrane, Gold nanoparticle

۱- مقدمه

غشاء سلولی به عنوان یک سد محافظ بین محیط داخل و خارج سلولی، مانع از نفوذ ترکیباتی از قبیل دارو و مولکول‌های باردار به داخل سلول می‌شود. از سوی دیگر تبادلات یونی بین محیط داخل و خارج سلولی توسط کانال‌های غشایی خاص و پروتئین‌های انتقالی که می‌توانند به واسطه لیگاندهای شیمیایی، ولتاژ یا دما فعال شوند، تنظیم می‌گردد. برای کنترل مکانیسم‌های گذار می‌توان از روش‌های فیزیکی و شیمیایی استفاده کرد. رویکردهای بیوشیمیایی علی‌رغم پتانسیل بالقوه در کنترل فعالیت‌های سلولی به واسطه نور، نیاز به دستکاری‌های ژنتیکی سلول‌های هدف دارد. از سوی دیگر رویکردهای فیزیکی با اینکه فاقد دستکاری ژنتیکی سلول‌های هدف می‌باشد، برای تولید حرارت به منظور کنترل عملکرد سلول مستلزم توان نسبتاً بالای از نور لیزر می‌باشد که می‌توان آسیب‌های سلولی را در پی داشته باشد [۱].

تعامل نانوذرات پلاسمونیک با امواج الکترومغناطیسی می‌تواند یک روش موثر برای کنترل‌پذیری بالا به منظور گرمایش غشاء در مقیاس نانومتر باشد. نانوجاذب‌های مشابه نانو ذرات طلا با دارا بودن ویژگی‌های از قبیل پایداری عالی، نفوذپذیری در بافت بدون اختلال در عملکرد آن توجهات بسیاری را در حوزه مطالعات بالینی به خود جلب کرده است [۲، ۳]. زمانی که این نانوذرات تحت تابش در محدوده فرکانس تشدید پلاسمونی خود قرار می‌گیرند به سرعت دمایشان افزایش یافته و این گرمایش پلاسمونیک نانوذرات طلا در مجاورت غشاء منجر به ایجاد روزه‌های در غشاء می‌شود که در نتیجه افزایش نفوذپذیری در غشاء را به همراه دارد. لازم به ذکر است که تغییرات دمای حاصل از این

فرآیند در حد چند درجه سانتی‌گراد بوده که کمتر از آستانه تحمل غشاء لیپیدی بوده و آسیب آنچنانی به غشاء وارد نمی‌کند. در این پژوهش، ما به بررسی الگوهای تعامل نانوذرات طلا با ابعاد ۱۰ و ۵۰ نانومتر با غشاهای لیپیدی مصنوعی و نحوه تاثیرگذاری گرمایش پلاسمونی موضعی نانوذرات بر روی جریان‌های غشایی می‌پردازیم.

۲- تحریک نوری غشاء فسفولیپیدی

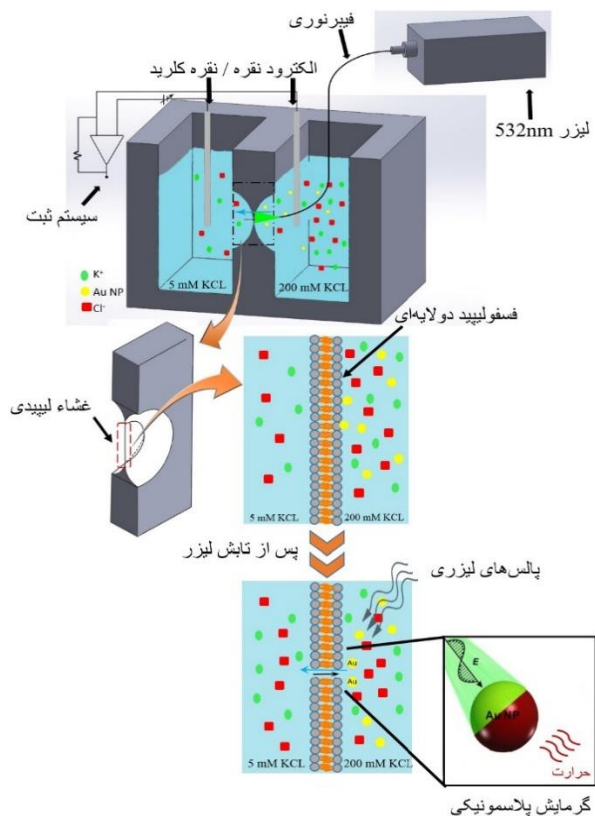
۲-۱ ایجاد غشاء فسفولیپیدی

غشاهای لیپیدی مصنوعی از قبیل Black Lipid, BLM، مدل مناسبی برای بررسی کانال‌های یونی در یک مقیاس کوچک اما با شرایط آزمایشی کاملاً کنترل‌پذیر هستند. غشاهای دولایه‌ای لیپیدی، لایه‌های شناور آزاد هستند که بین دو محفظه با ترکیبات مشخص تشکیل می‌شوند. آزمایشات BLM با استفاده از یک محفظه تفلون کوچک با دو بخش مجزا، سیس و ترنس، که بواسطه دیافراگم کوچکی از هم جدا می‌شوند، انجام می‌شود. بر روی این دیافراگم غشای لیپیدی تشکیل می‌گردد. هر یک از محفظه‌ها با غلظت‌های مشخص KCL به عنوان الکترولیت پر می‌شوند. اندازه‌گیری جریان‌های غشایی از طریق الکتردهای نقره/ نقره کلرید درج شده در دو سوی محفظه صورت می‌پذیرد. این سیستم بصورت گسترده‌ای برای مطالعات غشای سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد زیرا به طور همزمان امکان دسترسی به محلول و کنترل هر دو طرف را فراهم می‌سازد و شبیه‌ساز مناسبی از شرایط فیزیولوژیکی است [۴].

۲-۲ تحریک نوری نانوذرات طلا

برای تحریک نوری نانوذرات طلا و تاثیر گرمایش حاصل از

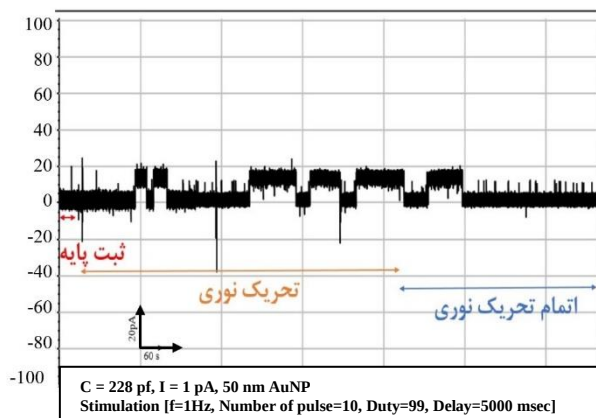
طلا با ابعاد ۵۰ نانومتری به ترتیب ۱۷ pA و ۱۰ است. در حالیکه با شرایط آزمایش مشابه نانوذرات طلا با ابعاد ۱۰ نانومتر به ترتیب منجر به عبور جریان غشای ۱۲ pA و ۸ می‌شوند. در شکل‌های ۳، ۴، ۵ و ۶ نتایج حاصل از آزمایشات



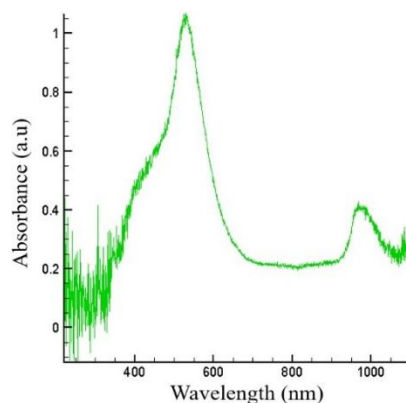
نشان داده شده است.

شکل ۲: طرحواره‌ای از چیدمان تجربی BML

شکل ۳: نتایج حاصل از تحریک غشای لیپیدی حاوی نانوذرات طلا با ابعاد ۵۰ نانومتر تحت تابش پالسی با فرکانس ۱ Hz



این فرآیند بر روی غشاء فسفولیپیدی از نانوذرات طلا با ابعاد ۱۰ و ۵۰ نانومتر و با غلظت ۲۰۰ ppm که از شرکت نانومبنا ایرانیان تهیه گردیده، استفاده شده است. برای اتصال نانوذرات طلا به غشاء لیپیدی هیچگونه فرآیند عامل‌دار کردنی صورت نگرفته است. تحریک نوری نانوذرات طلا با استفاده از یک لیزر دیود با طول موج ۵۳۲ nm انجام شده است که با محدوده تشدید پلاسمونی نانوذرات مورد استفاده هم‌پوشانی خوبی دارد. در شکل ۱ طیف جذب پلاسمونی برای نانوذرات ۵۰ نانومتری نشان داده شده است.



شکل ۱: طیف جذب پلاسمونی نانوذرات طلا ۵۰ نانومتری

توان نور تابشی بر روی غشاء فسفولیپیدی حاوی نانوذرات طلا در کلیه آزمایشات ۵۰ mW و نحوه تابش دهی به هر دو صورت پالسی، استفاده از کارت DAQ برای مدولاسیون خروجی لیزر، و پیوسته بود. پهنای زمانی و انرژی هر پالس بترتیب ۰/۹۹ s و ۴۹/۵ mJ است.

۳- نتایج تجربی

برای اندازه‌گیری جریان عبوری از غشاء لیپیدی از سیستم ثبت الکتروفیزیولوژی پچ-کلمپ استفاده شده است. شکل ۲ نمایشی از طرحواره‌ی چیدمان آزمایش می‌باشد. نتایج تجربی حاصل از گرمایش موضعی نانوذرات طلا بر روی غشاء لیپیدی بیانگر این موضوع می‌باشد که جریان عبوری از طریق غشاء با تابش‌های پیوسته و پالسی بر روی نانوذرات

نفوذپذیری و تبادلات یونی افزایش می‌یابد. از سوی دیگر نانوذرات با ابعاد کوچکتر نیز می‌توانند براحتی از غشاء پلاسمایی عبور کرده و با نفوذ به محیط داخل سلولی منجر به تاثیرگذاری بر مکانیسم‌های داخل سلولی گردند.

۴- نتیجه‌گیری

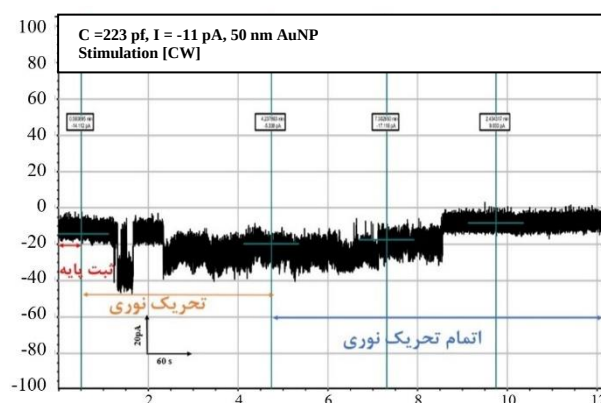
همانطور که نتایج حاصل از تحریک نوری غشاء لیپیدی نشان می‌دهد حضور نانوذرات طلا و تحت تابش قرار گرفتن این نانوذرات منجر به ایجاد جریان‌های یونی می‌شود. این تبادلات یونی در عدم حضور هر گونه کانال یونی اتفاق می‌افتد و بیانگر این موضوع می‌باشد که گرمایش حاصل از نانوذرات طلا موجب تشکیل روزنه‌های در غشاء لیپیدی و در نتیجه مبادلات یونی می‌شود. بطور کلی، این روش کنترل سیستم‌های بیولوژیکی و عملکرد سلولی با تفکیک‌پذیری فضایی - زمانی بالا، قابلیت کاربرد در کنترل سیستم‌های عصبی بدون دست‌ورزی ژنتیکی را دارد.

۵- سپاسگزاری

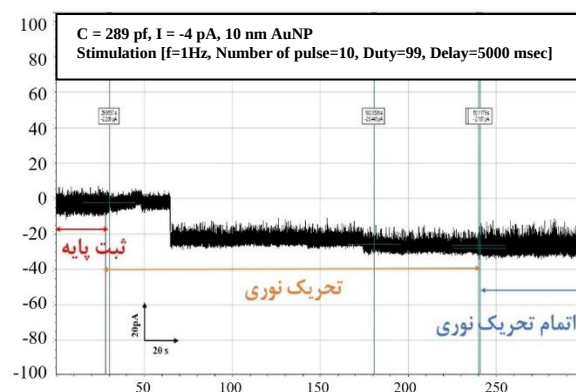
این مقاله با حمایت ستاد علوم و فناوری‌های شناختی انجام شده است.

۶- مراجع

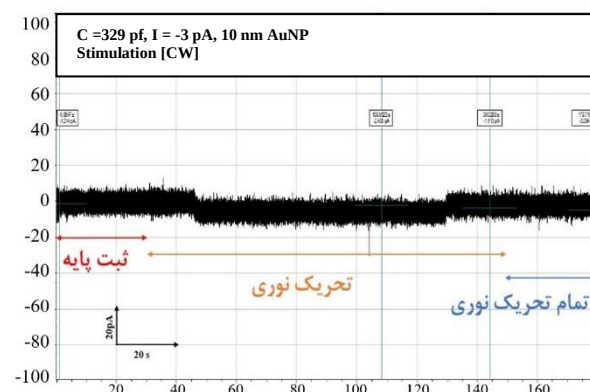
- [1] Urban P., Kirchner S.R., Mühlbauer Ch., Lohmüller Th., Feldmann J., "Reversible control of current across lipid membranes by local heating". Sci Rep, 2016.
- [2] Long N.N., Vu L.V., Kiem Ch.D., Doanh C.S., Nguyen C.Th., Hang Ph.Ti., Quynh L.M., "Synthesis and optical properties of colloidal gold nanoparticles." in Journal of Physics: Conference Series. 2009. IOP Publishing.
- [3] Qin, Z. and J.C. Bischof, "Thermophysical and biological responses of gold nanoparticle laser heating." Chem Soc Rev, 2012.
- [4] Broda J., Setzler J., Leifert A., Benz R., Simon U., Wenzel W., "Ligand-lipid and ligand-core affinity control the interaction of gold nanoparticles with artificial lipid bilayers and cell membranes." Nanomedicine, 2016.



شکل ۴: نتایج حاصل از تحریک غشاء لیپیدی حاوی نانوذرات طلا با ابعاد ۵۰ نانومتر تحت تابش پیوسته



شکل ۵: نتایج حاصل از تحریک غشاء لیپیدی حاوی نانوذرات طلا با ابعاد ۱۰ نانومتر تحت تابش پالسی با فرکانس ۱ Hz



شکل ۶: نتایج حاصل از تحریک غشاء لیپیدی حاوی نانوذرات طلا با ابعاد ۱۰ نانومتر تحت تابش پیوسته

در این ساختار بندی، حضور نانوذرات طلا و گرمایش جایگزیده آنها بصورت غیر مستقیم با سنجش میزان جریان غشایی پس از تابش لیزر تایید می‌شود. با افزایش ابعاد نانوذرات گرمایش حاصل از نانوذرات و در نتیجه میزان