

Ηλεκτροχημική ανίχνευση επιπτώσεων νανοδομών σε βιομόρια

Η εξέλιξη της νανοτεχνολογίας έχει δημιουργήσει πλήθος εφαρμογών για σκοπούς έρευνας αλλά και εμπορικής χρήσης σε τομείς όπως είναι τα ιατρικά εμφυτεύματα, η μεταφορά φαρμάκων, τα καλλυντικά. Παρόλα αυτά δεν είναι επαρκώς κατανοητές οι απειλές για την υγεία και το περιβάλλον. Τα αποτελέσματα των πιο πρόσφατων ερευνών εφιστούν την προσοχή στην χρήση προϊόντων νανοτεχνολογίας, όσον αφορά τις επιπτώσεις σε οργανισμούς και βιολογικά συστήματα, κυρίως για εφαρμογές στον ιατρικό τομέα και το πεδίο προϊόντων περιποίησης. Έχει δημιουργηθεί η ανάγκη μέτρησης και πρόβλεψης των επιπτώσεων της καθώς και η ανάπτυξη μεθόδων αξιολόγησης επιπτώσεων. Ένας διαδεδομένος δείκτης επιπτώσεων νανοδομών σε οργανισμούς είναι οι Δραστικές Ρίζες Οξυγόνου (Reactive Oxygen Species) οι οποίες περιλαμβάνουν τις ρίζες ανιόντων υπεροξειδίου $\cdot\text{O}_2^-$, ρίζες υδροξυλίου $\text{OH}\cdot$, υποχλωριώδες οξύ HClO κ.α. Οι Δραστικές Ρίζες Οξυγόνου μπορούν αποφέρουν δυσλειτουργίες προσβάλλοντας βιομόρια όπως σάκχαρα, αμινοξέα, φωσδολιπίδα, βάσεις DNA και οργανικά οξέα, τaráσσοντας την ισορροπία των αντιοξειδωτών καταλήγοντας σε αυτό που ονομάζεται οξειδωτικό στρες.

Δύο είδη νανοδομών με εξαιρετικές φυσικοχημικές ιδιότητες είναι οι κβαντικές τελείες CdS και τα νανοσωματίδια Au. Οι κβαντικές τελείες είναι ανόργανοι ημιαγωγιμοί νανοκρύσταλλοι με μέγεθος μικρότερο από το μήκος φράγματος του Bohr και άρα με ζεύγη ηλεκτρονίων-οπών που περιορίζονται σε μηδενικές διαστάσεις. Λόγω της δομής τους έχουν ευρύ φάσμα διέγερσης και εκπομπής ακτινοβολίας ως αποτέλεσμα των περισσότερων ενεργειακών επιπέδων που τους επιτρέπει να απορροφήσουν φωτόνια χαμηλότερης ενέργειας. Γεγονότα διέγερσης φθορισμού των κβαντικών τελειών μπορούν ωστόσο να επιφέρουν γένεση δραστικών ριζών οξυγόνου καθώς από τη διέγερση εκπέμπεται ηλεκτρόνιο στο κοντινό βιολογικό περιβάλλον αντιδρώντας με το μοριακό οξυγόνο (triple state) και σχηματίζοντας άλλες δραστικές μορφές οξυγόνου όπως το πολύ δραστικό οξυγόνο μονής κατάστασης (single state) και το ανιόν υπεροξειδίου. Από την άλλη τα νανοσωματίδια ευγενών μετάλλων όπως ο Au είναι δομές που οπτικά παρουσιάζουν το λεγόμενο πλασμαονικό φαινόμενο, όπου τα ελεύθερα d ηλεκτρόνια της ζώνης αγωγιμότητας ταλαντώνονται σε συντονισμό με έντονες αποκρίσεις στο φάσμα του ορατού. Σε αυτή τη περίπτωση οι επιπτώσεις και η γένεση δραστικών ριζών οξυγόνου εξαρτώνται από τα εκλυόμενα ιόντα Au. Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία για τις παραπάνω νανοδομές συνθέθηκαν και χαρακτηρίστηκαν δύο διαφορετικά μεγέθη αντιστοίχως με Δυναμική Σκέδαση

Φωτός. Χρησιμοποιήθηκαν κβαντικές τελείες CdS μεγέθους 3.7 nm και 10.5 nm και νανοσωματίδια Au 19 nm και 34 nm, μεγέθη που προσεγγιστικά βρίσκονται σε συμφωνία με εικόνες Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης. Έγινε συγκριτική μελέτη ανίχνευσης παραγωγής Δραστικών Ριζών ανιόντων υπεροξειδίου και υδροξειλίου με φαματοσκοπία υπεριώδους από τους ανιχνευτές 7 chloro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole (NBD Cl) και 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) υπό το σύστημα φωτοενεργοποιημένων νανοδομών από UV-C ακτινοβολία. Τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι οι οπτικές ιδιότητες που εξαρτώνται από το μέγεθος στην περίπτωση των κβαντικών τελειών βοήθησαν στην παραγωγή Δραστικών Ριζών Οξυγόνου, των ανιόντων υπεροξειδίου, στην περίπτωση των νανοσωματιδίων Au παρατηρήθηκαν μειωμένες.

Οι αλληλεπιδράσεις των νανοδομών στο πραγματικό βιολογικό υλικό είναι αρκετά πολύπλοκες ώστε να απαιτείται να γίνει μελέτη για την αλληλεπίδραση με συγκεκριμένους βιολογικούς παράγοντες. Ένας

τέτοιος πολύ σημαντικός παράγοντας είναι ο σχηματισμός του φαινομένου της Πρωτεϊνικής Κορώνας που πρόκειται για το σχηματισμό πρωτεϊνών του βιολογικού μέσου ως κέλυφος κάλυψης της επιφάνειας των νανοδομών. Αυτό το κέλυφος φαίνεται ότι επιρεάζει τις φυσικοχημικές ιδιότητες και τις βιολογικές επιπτώσεις των νανοδομών. Η παρούσα εργασία προσπαθεί να ερευνήσει και τις δύο επιπτώσεις του φαινομένου. Παρατηρήθηκε η αύξηση της πλασμονική απόκριση των νανοσωματιδίων Au, ως αποτέλεσμα της μονοδιασποράς μετά το σχηματισμό της πρωτεϊνικής κορώνας. Με χρήση του NBD-Cl παρατηρήθηκε ότι μειώθηκε η παραγωγή ROS υπό την επίρροια της πρωτεϊνικής κορώνας για κβαντικές τελείες CdS και τα νανοσωματίδια Au. Η εξακρίβωση και η κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ νανοσωματιδίων και πρωτεϊνικής κορώνας είναι υψηλής σημασίας ζήτημα για την μεταφορά φαρμάκων και τις βιοεφαρμογές. Η παρατηρούμενη μείωση των δραστικών ριζών οξυγόνου δε μπορεί να θεωρηθεί ως αρνητική ή θετική, αλλά ως μια συνθήκη που χρήζει διαχειρίσεις για τις ιδιότητες των νανοδομών, τι επιπτώσεις, την συσώρευση και την οψονοποίησή τους.

Με τη χρήση ηλεκτροχημικού βιοαισθητήρα ποσοτικοποιήθηκε το επιζών dsDNA ύστερα από κατεργασία με τις νανοδομές υπό τη συνεχή συνθήκη φωτοενεργοποίησης σε ακτινοβολία UV-C 253.7 nm. Τα νανοσωματίδια Χρυσού παρά την απουσία γέννησης ανιόντων υπεροξειδίου, έχουν αυξημένη αρνητική επίπτωση στο dsDNA λόγω έκλυσης ανιόντων Au, αφού η καταστροφή του παρατηρείται μεγαλύτερη σε δομές μεγαλύτερου μεγέθους. Οι μικρότερου μεγέθους κβαντικές τελείες CdS καταστρέφουν το dsDNA περισσότερο καθώς τότε παρατηρούνται και περισσότερα ανιόντα υπεροξειδίου. Το αποτέλεσμα συνδέεται με εντονότερη απόκριση φθορισμού των μικρότερων κβαντικών τελειών, που διαφέρει τάξεις μεγέθους από τις μεγαλύτερες, και λόγω αυτής της απόκρισης παράγονται περισσότερα ανιόντα υπεροξειδίου. Σε όλες τις περιπτώσεις των νανοσωματιδίων και των κβαντικών τελειών η παρουσία κελύφους πρωτεϊνών μείωσε την ανίχνευση Δραστικών Ριζών Οξυγόνου καθώς και την καταστροφή του dsDNA, λόγω του διπλού ρόλου του κελύφους στην απορρόφηση των Δραστικών Ριζών αλλά και στην συγγένεια των ιστών που αλληλεπιδρούν. Η μελέτη των πρωτεϊνών που λαμβάνουν μέρος στην διαδικασία σχηματισμού της πρωτεϊνικής κορώνας καθώς και η κινητική σχηματισμού της είναι σημαντικό να μελετηθούν στο μέλλον.

Στην παρούσα εργασία αναπτύχθηκε ένα απλό και φθινό οπτικό-ηλεκτροχημικό πρωτόκολλο βιοαισθητήρα επιπτώσεων από νανοδομές. Οι ηλεκτροχημικές μετρήσεις Κυκλικής Βολταμμετρίας και Βολταμμετρίας Διαφορικού Παλμού παραγματοποιήθηκαν με χρήση ηλεκτροδίου πάστας οξειδίου του γραφίτη (B5). Ο συγκεκριμένος άνθρακας επιλέχθηκε ύστερα από χαρακτηρισμό κυκλικής βολταμμετρίας στο οξειδοαναγωγικό σύστημα οξειδοαναγωγικού συστήματος $K_3[Fe(CN)_6]$ για υπολογισμό της γεωμετρικής επιφάνειας, σε σειρά υλικών άνθρακα προτεινόμενων ως εναλλακτικών στην χρήση του συμβατικού Γραφίτη. Τα συγκεκριμένα υλικά ήταν οξείδια γραφίτη (GO, B5), ενεργός άνθρακας (B) και οξείδιο γραφίτη με προσμίξεις νανοσωματιδίων Αργύρου (Bax-Ag). Ακολούθησε χαρακτηρισμός