

CZU: 615.471:61:57:535.375.5

DOI: 10.46727/c.v1.18-19-03-2023.p259-261

NANOTUBURI DE CARBON CU UN SINGUR PERETE DECORATE CU NANOPARTICULE DE AUR PENTRU APLICAȚII ÎN IMAGISTICA RAMAN A CELULELOR

SINGLE-WALLED CARBON NANOTUBES DECORATED WITH GOLD NANOPARTICLES FOR APPLICATIONS IN RAMAN IMAGING OF CELLS

*Alexandru Rotaru, dr., Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” din Iași, Romania;
Institutul de Cercetare, Inovare și Transfer Tehnologic, UPS „Ion Creangă” din Chișinău
Victor Ciornea, dr., conf. univ., UPS „Ion Creangă” din Chișinău*

*Alexandru Rotaru, PhD, Institute of Macromolecular Chemistry „Petru Poni” from Iași, Romania;
Institute for Research, Innovation and Technology Transfer, UPS “Ion Creanga” from Chisinau,
ORCID: 0000-0002-1280-9515, rotaru_a@yahoo.com.com
Victor Ciornea, PhD, lecturer, UPS “Ion Creanga” from Chisinau,
ORCID: 0009-0000-6704-8728*

Abstract. *Single-walled carbon nanotubes (SWNTs) are 1D structures with unique physical and chemical properties that are promising for use in a variety of fields, including biomedicine. However, their low solubility in water makes them difficult to use for biomedical applications. To overcome this, different methods have been developed to make them soluble, including wrapping them in polymers or biopolymers, or chemically modifying them. SWNTs also have unique optical properties, such as photoluminescence in the NIR and strong resonant Raman signatures, making them useful as nanoprobes in biomedical imaging and phototherapies. By decorating SWNTs with noble metal nanoparticles, such as gold nanoparticles (AuNPs), the composite material can exhibit an excellent surface-enhanced Raman scattering (SERS) effect, which has potential applications in cell imaging. The presentation describes a new and easy way to decorate SWNTs with AuNPs using synthetic DNA, which strongly enhances their Raman signal. One of the benefits of this method is the presence of free DNA around the SWNT-AuNPs, which allows for further modification of the nanocomposite using complementary DNA strands containing molecules of interest.*

Keywords: *Carbon nanotubes, DNA, Gold nanoparticles, surface-enhanced Raman scattering (SERS), cell imaging.*

Introducere

Nanotuburile de carbon cu un singur perete (single-walled carbon nanotubes (SWNT)) au atras un interes semnificativ în domeniul medicinei bio-orientate cu potențialele aplicații în detectarea biologică, administrarea de medicamente, fototerapie și imagistica biomedicală [1]. Aceste aplicații se datorează structurii unidimensionale unice a SWNT care prezintă semnale Raman distinctive pentru imagistica Raman. Aplicațiile nanotuburilor de carbon nemodificate sunt limitate datorită coeficientului de extincție molar relativ scăzut și, prin urmare, de un timp relativ lung de achiziție spectrală. Împrăștirea Raman îmbunătățită de suprafață (surface-enhanced Raman scattering (SERS)) este un efect capabil să îmbunătățească puternic semnalele Raman ale moleculelor din apropierea suprafețelor de metal nobil sau a nanoparticulelor metalice. În studiul prezentat, raportăm utilizarea nanoparticulelor de aur (AuNP) funcționalizate cu multiple secvențe de ADN sintetic monocatenar, pentru a prepara nanocompozite funcționale SWNT-AuNP. Nanocompozitele SWNT-AuNPs au fost testate cu succes pentru imagistica SERS a celulelor canceroase HeLa [2].

Rezultate și discuții

În prima etapă, AuNP de 20 nm acoperite cu citrat obținute prin metoda standard Turkievich au fost supuse concentrării și stabilizării ulterioare cu sare dipotasică de bis(*p*-sulfonatofenil)fenilfosfină

[3]. Această procedură ne-a permis să obținem o soluție stoc de 1 μM de AuNP stabilizate cu fosfină, utilizate ulterior pentru funcționalizarea cu secvențe de ADN. Pentru a acoperi complet suprafața AuNP cu ADN monocatenar, secvența de ADN (T)40 modificată cu 3'-tiol a fost utilizată într-un exces de 200 de ori, incubată la temperatura camerei într-o soluție tampon 1xTAE (pH = 7.00) timp de 48 de ore. AuNP funcționalizate cu ADN (AuNPs-DNA) obținute au fost caracterizate prin TEM (Fig. 1.) și utilizate pentru funcționalizarea SWNT-urilor.

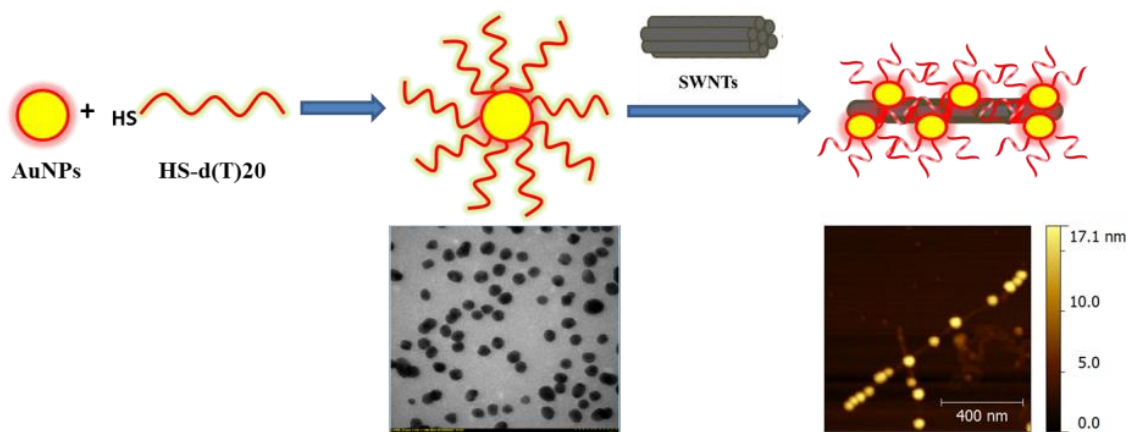


Fig. 1. Proiectarea nanoconjugatelor SWNT-AuNPs: funcționalizarea AuNP cu ADN (jos- imaginea TEM); decorarea SWNT individuale cu AuNP funcționale cu ADN (jos-imaginea AFM)

Așteptările noastre au fost ca, în timpul ultrasonificării, o parte din secvențele lungi de ADN atașate de AuNP să se înfășoare în jurul SWNT individuale, ducând la atașarea AuNP la suportul de carbon. Alicote din amestecul de reacție în timpul sonicării au fost colectate la fiecare 30 de minute și îmbunătățirea semnalului Raman a fost monitorizată prin măsurarea spectrelor sub excitație laser de 633 nm. În special, a fost observat picul benzii G la $\sim 1590\text{ cm}^{-1}$, fiind cea mai intensă caracteristică Raman a SWNT, folosită și ca măsură directă pentru distribuția SWNT în interiorul probelor biologice.

În continuare, celulele canceroase HeLa au fost incubate cu SWNT-AuNP proaspăt preparate timp de 24 de ore, spălate intens cu apă ultrapură și apoi fixate cu glutaraldehidă 2,5% înainte de imagistica Raman (Fig. 2.).

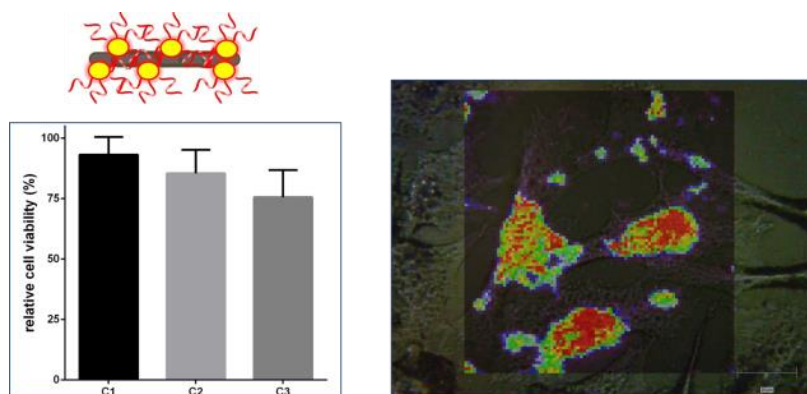


Fig. 2. Citotoxicitatea a SWNT-AuNPs (testul MTS) și imagistica Raman suprapusă cu imagistica optică a celulelor HeLa

Imaginile au fost efectuate folosind un laser de 633 nm (17 mW) ca sursă de lumină de excitație. În plus, a fost folosit un microscop optic echipat cu obiectiv $\times 50$ pentru a compara imaginile optice și imaginile Raman ale zonei investigate. În aceste condiții experimentale, au fost observate semnale Raman puternice și zonele colorate au corespuns intensităților benzii G care pot fi utilizate ca indicator al prezenței compozitelor SWNT-AuNP în celulele analizate. Prin suprapunerea imaginilor optice și Raman, am putut observa că semnalele colorate furnizate de SWNT-AuNP au fost localizate predominant pe celulele HeLa, cu puține sau deloc semnale de fundal observate în imaginile analizate, arătând atașarea specifică a SWNT-AuNP-urilor la celule.

Concluzii

A fost dezvoltată o metodă pentru a decora nanoparticulele de aur pe nanotuburi de carbon individuale asistată de ADN în faza de soluție, producând nanocompozite SWNT-AuNP care au prezentat un efect SERS vizibil. Datorită semnalelor Raman îmbunătățite ale nanotuburilor de către SERS, a fost posibilă imagistica Raman a celulelor canceroase HeLa.

Bibliografie

1. BARTELMESS, J.; QUINN, S.J.; GIORDANI, S. Carbon nanomaterials: multi-functional agents for biomedical fluorescence and Raman imaging. *Chem Soc Rev.* 2015, 44, 4672–4698, (IF: 54.56).
2. URSU, E.; DOROFTEI, F.; PEPTANARIU, D.; PINTEALA, M.; ROTARU, A. DNA-assisted decoration of single-walled carbon nanotubes with gold nanoparticles for applications in surface-enhanced Raman scattering imaging of cells, *Journal of Nanoparticle Research.* 2017, 19, 181, (IF: 2.255).
3. DING, B.Q.; DENG, Z.T.; YAN, H.; CABRINI, S.; ZUCKERMANN, R.N.; BOKOR, J. Gold nanoparticle self-similar chain structure organized by DNA origami. *J Am Chem Soc.* 2010, 132, 3248–3249, (IF: 16.38).