УДК 535.343.32

ЭНДОЦИТОЗ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ СВОБОДНЫХ ОТ СТАБИЛИЗАТОРА ПОВЕРХНОСТИ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ АБЛЯЦИИ

Кочаков А.В. (Университет ИТМО), **Кононов Д.В.** (Университет ИТМО),
Бородина Л.Н. (Университет ИТМО), **Дададжанов Д.Р.** (Университет ИТМО)
Научный руководитель – PhD, с.н.с. Дададжанов Д.Р. (Университет ИТМО)

Введение. Эффективность селективного захвата наночастиц исключительно опухолевыми клетками важный вектор развития адресной доставки лекарств. Решение данной проблемы позволит уменьшить побочные эффекты от лекарственных препаратов необходимых для лечения тяжёлых заболеваний, в том числе рака. Эндоцитоз зависит не только от специфики самой клетки, но и определяется физико-химическими свойствами самих наночастиц. Для оценки эффективности эндоцитоза клетками лейкемии можно использовать плазмонные наночастицы, которые чувствительны к изменению диэлектрического окружения. В частности, с помощью регистрации изменения частоты плазмонного резонанса на спектре поглощения в видимом диапазоне можно отследить захват наночастицы клеткой, поскольку показатель преломления отличается от показателя преломления внеклеточной среды. Как правило, для стабилизации золотых наночастиц в растворах на их поверхность функционализированы стабилизирующими молекулами-лигандами [1]. К сожалению, это приводит к заметной потере чувствительности плазмонного резонанса. В связи с этим в данной работе предлагается использовать золотые наночастицы, полученные методом лазерной абляции без стабилизатора поверхности.

Основная часть. В первую очередь были синтезированы золотые наночастицы с помощью метода лазерной абляции. Который заключается в воздействии мощного сфокусированного лазерного пучка, с длиной волны 532 нм, на золотую мишень, находящуюся в деионизированной воде, в течении 20 минут. Основное преимущество данного метода заключается в синтезе стабильных коллоидных наночастиц без стабилизатора поверхности и в отсутствии вспомогательных химических реагентов [2]. Спектры полученных наночастиц демонстрируют максимум плазмонного резонанса на длине волны 520 нм. На основании данных спектров, путем расчета сечения экстинкции одиночной наночастиц и сопоставления экспериментального спектра поглощения наночастиц с теоретическим, были рассчитаны теоретические размеры синтезированных наночастиц, составившие 22 нм. Данные наночастицы инкубировались с макрофагами лейкемии клеточной линии THP-1. В качестве питательной среды для клеток был выбран раствор RPMI-1640 с добавлением фенолового красного для отслеживания кислотности среды. Но прежде был проведён эксперимент по стабильности синтезированных наночастиц в питательной среде RPMI. Были зарегистрированы спектры оптической плотности раствора спустя разное время после добавления наночастиц в питательную среду: 0, 1, 2, 4 и 24 часа. При инкубировании в лунку с клетками к 3 мл питательной среды добавлялось 500 мкл раствора наночастиц. В инкубаторе, при температуре 37°C и 5% CO_2, клетки выдерживались, после ввода наночастиц, те же временные этапы: 0, 1, 2, 4 и 24 часа, затем проводились процедуры фиксирования клеток и перевода в буферный раствор PBS. Контрольная группа клеток выдерживалась в инкубаторе без золотых наночастиц.

Выводы. Были зарегистрированы спектры оптической плотности синтезированных наночастиц, на основе которых был получен средний теоретический размер, рассчитанный с помощью теории рассеяния Ми, равный 22 нм [3]. На спектрах оптической плотности растворов питательной среды RPMI с наночастицами было выявлено уширение максимума плазмонного резонанса на 5 нм только спустя 24 часа, что может говорить о начале процесса агрегации. Вероятно, это связано с повешенным содержанием солей в питательных средах, которые уменьшают электростатическое отталкивание наночастиц [4]. На спектрах

оптической плотности клеточных растворов THP-1, после инкубирования с наночастицами, было установлено уширение максимума плазмонного резонанса, приблизительно на 30 нм. А также его смещение в длинноволновую область на 100 нм, что свидетельствует о поглощении наночастиц клетками и их агрегации внутри клеток. На изображениях дифференциально-интерференционного контраста клеток после инкубирования с наночастицами наблюдаются тёмные области, находящиеся внутри клеток, что также свидетельствует о наличии агломератов наночастиц внутри клеток. В виду агрегации наночастиц сложно оценить эффективность эндоцитоза, поэтому методика требует доработки.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-72-10057 и НИРСИИ Университета ИТМО (проект №640098, Развитие новых подходов программируемой нанофотоники на основе эффекта плазмон-индуцированной ближнепольной полимеризации).

Список использованных источников:

1. David S. et al. Cellular uptake and cytotoxicity of PEGylated gold nanoparticles in C33A cervical cancer cells //Nano Express. – 2022. – V. 3. – №. 2. – P. 025006.
2. Torrisi L., Torrisi A. Laser ablation parameters influencing gold nanoparticle synthesis in water //Radiation Effects and Defects in solids. – 2018. – V. 173. – №. 9-10. – P. 729-739.
3. Kelly K. L. et al. The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment //The Journal of Physical Chemistry B. – 2003. – V. 107. – №. 3. – P. 668-677.
4. Mahl D. et al. Gold nanoparticles: dispersibility in biological media and cell-biological effect //Journal of Materials Chemistry. – 2010. – V. 20. – №. 29. – P. 6176-6181.