

MÔ HÌNH TÍNH TOÁN ẢNH HƯỞNG CỦA SỰ BIẾN TÍNH NHIỆT DỊ THƯỜNG CỦA PROTEIN LÊN TÍNH CHẤT QUANG CỦA HẠT NANO VÀNG BỌC PROTEIN

NGUYỄN MINH HOA^{1*}, LÊ ANH THI^{2,3}

LƯƠNG THỊ THÊU⁴, TRẦN QUANG HUY⁴, MÃN MINH TÂN^{2,5}

¹Khoa Khoa học cơ bản, Trường Đại học Y Dược Huế, Đại học Huế

²Viện Nghiên cứu và Phát triển, Trường Đại học Duy Tân, Đà Nẵng

³Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Duy Tân, Đà Nẵng

⁴Khoa Vật lý, Trường ĐHTSP Hà Nội 2

⁵Viện Nghiên cứu Lý thuyết và Ứng dụng, Trường Đại học Duy Tân, Đà Nẵng

*Email: nguyenminhhoa@hueuni.edu.vn

Tóm tắt: Trong bài báo này, chúng tôi dựa trên cơ sở lý thuyết Mie và hiện tượng luận Ginzburg-Landau để đưa ra mô hình mô tả sự ảnh hưởng biến tính nhiệt dị thường của protein bovine serum albumin (BSA) lên hệ phức hạt cầu nano vàng-protein. Các kết quả tính toán cho thấy khi có sự biến tính của protein theo nhiệt độ thì bước sóng cộng hưởng và bán kính hạt phụ thuộc tuyến tính đồng thời có sự dịch về phía bước sóng dài hơn. Bên cạnh đó, chúng tôi cũng nhận thấy có sự phù hợp khá tốt khi so sánh kết quả tính toán lý thuyết thu được với các giá trị đo đạc thực nghiệm. Điều này có ý nghĩa quan trọng để nghiên cứu định hướng ứng dụng trong y sinh, cũng như các tương tác protein-hạt nano khác.

Từ khóa: Hạt nano vàng; protein BSA; hình thức luận Ginzburg – Landau; chuyển pha.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Protein là các đại phân tử sinh học đóng vai trò chính trong các cơ thể sống. Vai trò chính của các protein sinh học như là các viên gạch xây dựng nên bộ khung cho các cơ thể sống và là các enzyme cho các quá trình sinh lý, sinh hoá tạo nên hoạt động sống. Cấu tạo các protein sinh học thường có các phần kỵ nước (hydrofob) và ưa nước (hydrofil). Do cấu trúc của protein liên quan trực tiếp đến hiệu suất của các chức năng sinh lý, nên những nghiên cứu về sự thay đổi cấu trúc của nó đã thu hút nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm trong những thập kỷ qua [1], [3].

Sự biến tính và thay đổi cấu trúc của protein có tầm ảnh hưởng lớn đến các quá trình công nghệ sinh học, các sản phẩm protein trong y học cũng như trong cuộc sống hàng ngày. Protein albumin huyết thanh bò (BSA) đã được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực sinh lý học và khoa học y tế, do giá thành thấp và đặc biệt có sự tương đồng về mặt cấu trúc / chức năng với albumin huyết thanh người (HSA) [2]. Ngoài ra, các hệ thống sinh học phức tạp chứa GNP (Gold Nanoparticle) đã thu hút được sự quan tâm đáng kể trong các lĩnh vực chẩn đoán sinh học và truyền dẫn thuốc trong điều trị ung thư. Sự tương tác giữa GNP với các đại phân tử sinh học cũng đã được nghiên cứu nhiều [3],

[4], [8]. Trong các công trình này, các tác giả đã khảo sát tính chất hấp phụ và sự tương tác của hệ protein-GNP bằng các phương pháp thực nghiệm thông qua các phương pháp khảo sát quang phổ huỳnh quang, động học tán xạ ánh sáng.

Bên cạnh đó, trong công trình [4] các tác giả đã tính toán lý thuyết về tính chất quang của hệ hạt nano-protein trên các chất nền graphene và graphite. Kết quả cho thấy số lượng phân tử BSA bám dính trên bề mặt GNP có thể được xác định một cách định lượng cho các GNP với kích thước tùy ý bằng lý thuyết Mie và quang phổ hấp thụ. Do sự có mặt của chất nền gần GNP-protein dẫn đến sự dịch đỏ của đỉnh cộng hưởng plasmon bề mặt của các hạt nano. Tuy nhiên, một vấn đề quan trọng chưa được nghiên cứu tường minh và giải thích rõ ràng đó là sự biến tính của protein theo nhiệt độ lên tính chất quang học của các phức hệ protein-nano vàng xảy ra ở bề mặt của hệ phức hạt cầu. Những đánh giá và hiểu rõ được sự ảnh hưởng này có ý nghĩa quan trọng nhằm hiểu sâu sắc hơn về các hệ thống sinh học thực và từ cơ sở này có thể giải thích được sự co duỗi của các đại phân tử sinh học theo nhiệt độ. Bên cạnh đó, sự am hiểu về các vấn đề tổng quát của protein tại bề mặt tiếp giáp là rất quan trọng, bởi vì nó có tiềm năng rất lớn trong ứng dụng để làm các cảm biến sinh học mới rất nhạy, cũng như hiệu ứng nhiệt xảy ra tại các tế bào đích.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi xem xét một loại protein rất phổ biến đó là albumin BSA, nó chiếm phần lớn trong huyết tương và phân bố trong tất cả các chất lỏng nội mô của cơ thể. Chúng tôi đặc biệt quan tâm đến sự biến tính của protein mà tác nhân là nhiệt độ. Kết hợp lý thuyết Mie và hình thức hiện tượng luận Ginzburg-Landau (G-L), chúng tôi đề xuất một mô hình đơn giản mô tả ảnh hưởng của sự biến tính nhiệt (sự duỗi theo nhiệt độ) của protein BSA bọc quanh hạt nano vàng.

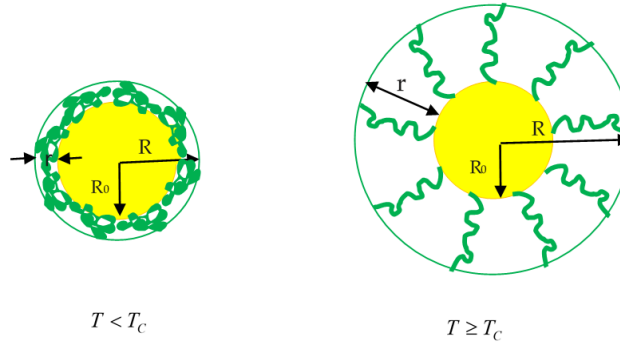
2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

2.1. Mô hình lý thuyết

Lý thuyết Mie đã đưa ra lời giải cho bài toán sự phụ thuộc các tính chất quang của hạt keo vàng (là các GNP dạng keo lơ lửng trong chất lỏng) vào kích thước của hạt [5]. Năm 1908, bằng cách giải phương trình Maxwell với điều kiện biên thích hợp trong hệ tọa độ cầu và các khai triển đa thức của từ trường và điện trường cho ánh sáng tới, Mie đã áp dụng lý thuyết tổng quan về sự tán xạ ánh sáng trên hạt cầu nhỏ để giải thích hiện tượng thay đổi màu sắc của các hạt keo vàng. Từ đó cho kết quả tính toán chính xác khi cho một sóng điện từ tương tác với một hạt cầu nhỏ [6]. Để có được lời giải chính xác cho bài toán, Mie đã đưa ra hai giả thuyết: thứ nhất là hạt mà môi trường xung quanh nó là đồng nhất và được mô tả bởi hàm điện môi quang học khối; Thứ hai để có sự gián đoạn rõ nét tại bề mặt của hạt bán kính R thì giả thuyết tiếp theo được đưa ra là điều kiện biên được xác định bởi mật độ điện tử. Đồng thời ông sử dụng giả thuyết plasmon, đó là dao động lưỡng cực nhằm mục đích khảo sát tần số Plasmon của một hạt nano kim loại liên quan đến hằng số điện môi.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi xét hạt nano keo vàng được tạo ra theo phương pháp Toker [7] có bán kính $R_0 = 20$ nm không đổi, hấp thụ protein albumin BSA bề dày r

được đặt trong nước. Protein được hòa tan trong nước và BSA này (dạng huyền phù) bị hút bởi GNP thông qua sự tương tác van der Waals. Kết quả là, một hạt nano liên hợp phức protein được hình thành trong nước. Hệ hạt cầu-protein có thể được coi xấp xỉ như một hạt cầu đẳng hướng bị bọc. Khi đó bán kính hiệu dụng của hạt phức cầu là $R = R_0 + r$ (Hình 1). Sự biến tính nhiệt bất thường của protein sẽ được xem xét thông qua ảnh hưởng của của protein sau biến tính do sự cộng hưởng Plasmon bề mặt cục bộ của hạt phức cầu sử dụng hình thức luận chuyển pha G-L.

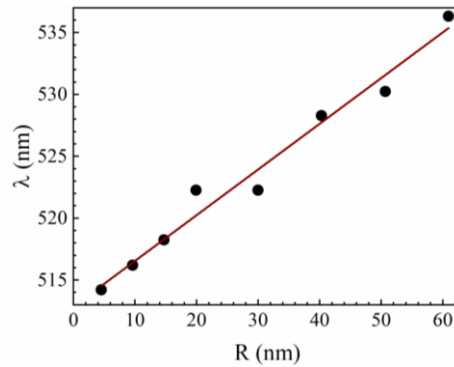


Hình 1. Mô hình hạt phức cầu vàng-protein theo nhiệt độ T (với T_c là nhiệt độ biến tính của protein)

Theo lý thuyết Mie, các ảnh hưởng của kích thước hạt lên bước sóng cộng hưởng Plasmon có kết quả từ hai cơ chế phụ thuộc vào thang kích thước. Đối với hạt có đường kính của hạt d nhỏ hơn nhiều bước sóng ánh sáng tới ($d \ll \lambda$, hoặc một cách gần đúng $d < \lambda_{\max}/10$) thì dao động của điện tử được coi là plasmon dao động lưỡng cực và tiết diện dập tắt C_{ext} và tiết diện tán xạ C_{sca} được viết dưới dạng đơn giản [8]:

$$\begin{aligned} C_{\text{ext}} &= 9 \frac{\omega}{c} \varepsilon_m^{3/2} V \frac{\varepsilon_2(\omega)}{[\varepsilon_1(\omega) + 2\varepsilon_m]^2 + [\varepsilon_2(\omega)]^2}, \\ C_{\text{sca}} &= \frac{k^4 V^2}{18\pi} |\varepsilon - 1|^2 \left[\frac{27}{(\varepsilon_1 + 2\varepsilon_m)^2 + \varepsilon_2^2} \right], \\ C_{\text{abs}} &= C_{\text{ext}} - C_{\text{sca}}, \end{aligned} \quad (1)$$

trong đó C_{abs} là tiết diện hấp phụ, V là thể tích của hạt, ω là tần số của ánh sáng tới, c vận tốc ánh sáng, $k = 2\pi/\lambda$ là số sóng, ε_m và $\varepsilon = \varepsilon_1(\omega) + i\varepsilon_2(\omega)$ là hàm điện môi của môi trường bao quanh và hàm điện môi của hạt nano. Đầu tiên ta giả thiết là biểu thức độc lập với tần số và là một hàm phức phụ thuộc vào năng lượng, điều kiện cộng hưởng được thỏa mãn khi $\varepsilon_1(\omega) = -2\varepsilon_m$ nếu như ε_2 nhỏ hoặc phụ thuộc yếu vào ω . Phương trình trên đã được sử dụng để giải thích tổng quát phổ hấp thụ của hạt nano kim loại nhỏ một cách định tính cũng như định lượng. Sử dụng lý thuyết Mie, ta tính toán được bán kính hệ phức cầu ở các bước sóng cực đại theo Hình 2.



Hình 2. Bước sóng cộng hưởng phụ thuộc vào bán kính hệ phức hạt cầu (các chấm là điểm thực nghiệm, nét liền là đường lý thuyết)

Từ Hình 2 chúng tôi thấy có một sự phụ thuộc tuyến tính của bước sóng cộng hưởng theo bán kính hạt $\lambda(T) = \lambda_0 + c.R(T)$, với c là hằng số. Trong công trình [9], các tác giả sử dụng phương pháp cộng hưởng Plasmon bề mặt cục bộ để theo dõi sự thay đổi cấu trúc về sự bất ổn định nhiệt của BSA hấp thụ trên hạt vàng. Ảnh hưởng của protein được theo dõi bằng quang phổ suy giảm khả kiến (visible extinction spectroscopy). Chúng tôi áp dụng kết quả từ Hình 2 cho công trình này thu được $c = 6,25$. Bên cạnh đó, sự phù hợp giữa các quan sát được giữa thực nghiệm và lý thuyết này như sau:

- Khi $T < T_c = 60^\circ C$, bán kính trung bình của protein tăng lên không đáng kể và bán kính hệ hạt coi như không thay đổi. Chúng tôi có một giả thiết tương tự như trường hợp quả cầu kim loại chưa hấp thụ protein nghĩa là vẫn có sự phụ thuộc tuyến tính của bước sóng cộng hưởng vào bán kính hiệu dụng;
- Khi $T \geq T_c$, có hiện tượng tăng nhanh đột biến của bán kính hạt theo nhiệt độ do các phân tử protein duỗi ra nhanh theo nhiệt độ. Khi đó bán kính của hạt $R = R_0 + r_{\text{protein}}$ với r_{protein} là bán kính trung bình của chuỗi protein. Sự phụ thuộc bước sóng cộng hưởng của hạt sẽ là $\lambda(T) = C.R(T) = C.(R_0 + r_{\text{protein}})$.

Về nguyên lý, khi nhiệt độ tăng thì bán kính hạt sẽ tăng; và khi nhiệt độ giảm thì bán kính hạt sẽ giảm. Tuy nhiên, ta lưu ý rằng, sự tăng và giảm ở đây là không tuyến tính. Bởi vì nó xuất hiện các điểm chuyển pha, và tại điểm chuyển pha thì bán kính của protein tăng đột ngột. Chúng tôi nhận thấy rằng có thể sử dụng lý thuyết về chuyển pha để mô tả hiện tượng co duỗi của protein. Từ đó, chúng tôi đề xuất một mô hình đơn giản mô tả hiện tượng thú vị này theo hình thức hiện tượng luận G-L.

2.2. Sự biến tính của protein theo hình thức luận Ginzburg-Landau

Trong hình thức luận Ginzburg-Landau (G-L) dạng đơn giản, phiếm hàm mật độ năng lượng tự do $f(\psi, T)$ là một hàm của tham số trật tự cục bộ ψ và nhiệt độ T được viết dưới dạng [10]:

$$f(\psi, T) - f_0(T) = \alpha(T - T_C)\psi^2 + \frac{1}{2}\beta\psi^4, \quad (2)$$

trong đó α và β là những hằng số (giá trị của chúng được lựa chọn tùy thuộc vào mỗi hệ mà chúng ta xét), T_C là nhiệt độ chuyển pha. Giá trị tham số trật tự ψ ở gần nhiệt độ chuyển pha thu được bằng cách cực tiểu hóa năng lượng tự do:

$$\frac{\partial f}{\partial \psi} = 0 \Rightarrow \psi = \left(\frac{\alpha}{\beta}\right)^{1/2} (T_C - T)^{1/2}. \quad (3)$$

Chúng tôi nhận thấy rằng hình thức luận G-L nguyên thủy không tương đồng với hiện tượng mà chúng tôi cần mô tả. Để áp dụng hiện tượng luận của G-L cho hệ y sinh, chúng tôi đề xuất một phiên bản G-L mới cho phép mô tả được thí nghiệm. Trong mô hình này, chúng tôi chọn tham số trật tự là $\psi(T) = \frac{1}{R(T)}$, vì ý nghĩa của tham số trật tự

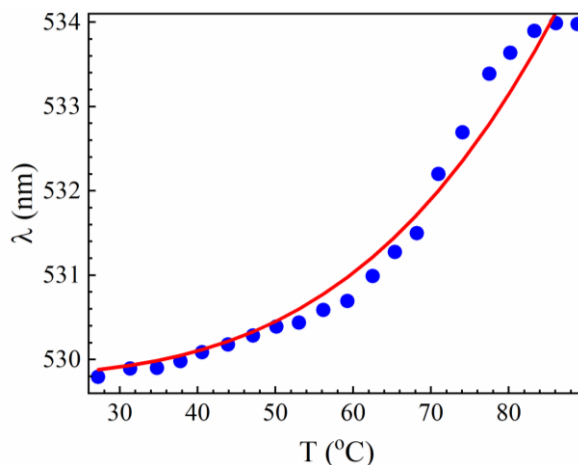
là để đặc trưng cho tính trật tự của hệ mà ta xét, hay nói cách khác chính là tính đối xứng hay phá vỡ đối xứng của hệ. Do vậy, so với mô hình nguyên thủy thì nhiệt độ chuyển pha theo mô hình lý thuyết cải tiến sẽ bị sai lệch một lượng, nghĩa là $T_C = T_{0C} + \Delta T$ vì bản chất hệ sinh học khác với hệ vật lý khi $T = T_{0C} \rightarrow \psi \neq 0$. Từ dữ liệu thực nghiệm, ta thấy rằng, tính đối xứng của hệ phức hạt nano hấp thụ protein được đảm bảo khi nhiệt độ của hạt ở dưới nhiệt độ T_C . Bên cạnh đó tính bất đối xứng của hệ xảy ra mạnh mẽ khi có sự thay đổi nhiệt độ $T \geq T_C$ của hạt. Trong khi đó nhiệt độ của hạt có mối liên hệ đến bán kính hiệu dụng. Điều đó chứng tỏ rằng, nhiệt độ ảnh hưởng mạnh mẽ đến tính đối xứng và bất đối xứng của hệ. Kết hợp với lý thuyết Mie thì chúng tôi có được sự phụ thuộc của bước sóng cộng hưởng theo nhiệt độ T :

$$\lambda(T) = c \left(\lambda_0 + \frac{b}{\sqrt{T_C - T}} \right), \quad (4)$$

với $\lambda_0 = 527,3\text{nm}$ là bước sóng cộng hưởng khi chưa có sự biến tính của protein, các hằng số $b = 2,5$ là thông số mô hình được chọn do sự tương thích của thực nghiệm và lý thuyết. Đồ thị biểu diễn sự ảnh hưởng của bước sóng cộng hưởng vào nhiệt độ do sự thay đổi của bán kính hệ phức cầu được trình bày trên Hình 3.

Hình 3. Biểu diễn sự ảnh hưởng của bước sóng cộng hưởng vào nhiệt độ do sự thay đổi của bán kính hệ phức cầu. Kết quả từ đồ thị cho thấy rằng có một sự phù hợp rất tốt giữa các giá trị đo đạc thực nghiệm và mô hình lý thuyết mà chúng tôi đề xuất. Khi nhiệt độ của môi trường thay đổi từ $25^\circ\text{C} - 80^\circ\text{C}$ và khi đến nhiệt độ chuyển pha 65°C thì bước sóng cộng hưởng của chuỗi protein tăng nhanh đột biến. Khi nhiệt độ nhỏ hơn 50°C , bước sóng cộng hưởng tăng chậm do protein từ từ duỗi ra; khi nhiệt độ từ 50°C đến 80°C , bước sóng tăng nhanh hơn từ $530,4\text{ nm}$ đến $533,9\text{ nm}$; khi nhiệt độ tăng từ 60°C đến 75°C quanh nhiệt độ chuyển pha của protein BSA là 65°C , protein BSA bắt đầu duỗi ra rất nhanh, bước sóng tăng nhanh từ $530,7\text{ nm}$ đến $533,4\text{ nm}$ và sau đó thì

tăng ít. Kết quả là dẫn đến sự dịch chuyển phổ đỏ của GNP bọc protein do bán kính hạt bị thay đổi. Sự biến tính dị thường theo nhiệt độ của protein làm cho tín hiệu của các đầu dò mạnh lên cỡ 6 bậc có nghĩa là hiệu ứng Plasmon tăng lên 6 bậc.



Hình 3. Sự phụ thuộc của bước sóng cộng hưởng vào nhiệt độ T .

Việc tăng cường hiệu ứng Plasmon của nano kim loại trong các thí nghiệm y sinh rất có ý nghĩa. Các ứng dụng của nó rất quan trọng trong việc cung cấp thông tin cho việc chế tạo các cảm biến sinh học để phát hiện bệnh sớm, cũng như cung cấp cơ sở tính toán định lượng về nhiệt tại các khối u khi xem xét sự truyền năng lượng trong khoảng cách rất nhỏ (cỡ nm). Kết quả của công trình này cũng trùng hợp với một số tác giả khác [10], hiệu ứng truyền năng lượng nanosurface (NSET) tăng 10^{14} và truyền năng lượng cộng hưởng Forster (huỳnh quang) (FRET) tăng 10^{18} .

4. KẾT LUẬN

Mô hình đơn giản của chúng tôi mô tả tốt sự biến tính nhiệt của GNP bọc protein với bán kính 20 nm. Kết quả cho thấy rằng, có sự khá phù hợp giữa lý thuyết và thực nghiệm. Nghiên cứu của chúng tôi bước đầu hình thành sự hiểu biết mới về những ảnh hưởng của nhiệt độ lên tính chất của hệ vật lý gắn kết hạt nano về phương diện lý thuyết quang học. Do sự biến dạng của protein BSA gây nên những tác động đáng kể cho phổ quang học của hệ hạt nano, góp phần vào những hiểu biết cho các nhà khoa học thực nghiệm trong việc ứng dụng hệ phức cầu GNP với các phân tử sinh học để thiết kế cảm biến sinh học hay trong các thí nghiệm *in vivo* liên quan hiệu ứng quang nhiệt tiêu diệt tế bào ung thư.

Theo hình thức luận G-L, chúng tôi mới mô tả được sự biến tính của protein trong khoảng nhiệt độ từ 25°C-80°C, ở đó sự biến tính của protein là thuận nghịch. Khi nhiệt độ gần với nhiệt độ chuyển pha thứ hai (khoảng 90°C), tại đó khi ta hạ nhiệt độ thì chuỗi protein không co trở lại được trạng thái như ban đầu. Chúng tôi giả định rằng tại nhiệt độ đó thì protein bị chết, điều này sẽ được chúng tôi nghiên cứu sâu hơn trong các công trình tiếp theo.

Lời cảm ơn

Chúng tôi rất biết ơn Thầy GS. TSKH. Nguyễn Ái Việt và PGS. TS. Trần Hồng Nhung đã đóng góp ý tưởng, cảm ơn quỹ Khoa học và Công nghệ cấp Đại học Huế mã số DHH2018-04-83 đã tài trợ cho đề tài nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Foegeding EA, Davis JP. Food protein functionality: A comprehensive approach (2011). *Food Hydrocoll.* 25(8):1853–64.
- [2] Jain PK, Lee KS, El-Sayed IH, El-Sayed MA (2006). Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: Applications in biological imaging and biomedicine. *J Phys Chem B.* 110(14):7238–48.
- [3] Alsamamra H (2019). Biophysical Interaction of Propylthiouracil with Human and Bovine Serum Albumins Materials and Samples Preparation. *BMC.* pp1–7.
- [4] Phan AD, Hoang TX, Nghiem THL, Woods LM (2013). Surface plasmon resonances of protein-conjugated gold nanoparticles on graphitic substrates. *Appl Phys Lett.* 103(16).
- [5] Mie G, Newman P (1908). Contributions to the optics of turbid media, particularly of colloidal metal solutions. *Ann Phys.* 25(3):377–445.
- [6] Chu VH, Fort E, Nghiem THL, Tran HN (2011). Photoluminescence enhancement of dye-doped nanoparticles by surface plasmon resonance effects of gold colloidal nanoparticles. *Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol.* 2(4).
- [7] Kimling J, Maier M, Okenve B, Kotaidis V, Ballot H, Plech A (2006). Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited. *J Phys Chem B.* 110(32):15700–7.
- [8] Teichroeb JH, Forrest JA, Ngai V, Jones LW (2006). Anomalous thermal denaturing of proteins adsorbed to nanoparticles. *Eur Phys J E.* 21(1):19–24.
- [9] Hohenberg PC, Krekhov AP (2015). An introduction to the Ginzburg-Landau theory of phase transitions and nonequilibrium patterns. *Phys Rep.* 572:1–42.
- [10] Viet Ha C, Thi Nga D, Ai Viet N, Hong Nhung T (2015). The local field dependent effect of the critical distance of energy transfer between nanoparticles. *Opt Commun.* 2015;353:49–55.

Title: A MODEL FOR CALCULATION OF EFFECT OF THE PECULIAR THERMAL DENATURATION OF PROTEIN ON THE OPTICAL PROPERTIES OF PROTEIN-COATED GOLD NANOPARTICLES

Abstract: In this paper, we present a calculation model based on the Mie theory and the Ginzburg-Landau phenomenology to depict the anomalous thermal denaturation effect of bovine serum albumin (BSA) protein on the component of the protein-conjugated gold nanoparticles. These results show a linear dependence of the resonance wavelength on the size of GNP and a redshift when the protein is denatured by temperature. Besides, we found a good correlation between the measured values and the theoretical predictions due to the Ginzburg-Landau phenomenological formalism. This might have significans for further studies about protein-nanoparticle interactions and biophysical applications

Keywords: Gold nanoparticle; BSA protein; Ginzburg-Landau phenomenological; phase transition.