



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ميسان
كلية العلوم
قسم علوم الحياة

عزل وتشخيص بكتريا النوكارديا من التربة واستخدامها
في تخليق اوكسيد الذهب النانوي للأغراض الطبية

الرسالة مقدمة

إلى مجلس كلية العلوم/جامعة ميسان

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

آلاء فالح حسن

بكالوريوس علوم الحياة/ كلية العلوم

جامعة ميسان /2018-2019

بإشراف

أ.م.د. منذر عبد الحسن خضير

أ.م.د. رشيد رحيم حنيت

2023م

1444هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

((فَلَوْلَا أُلْقِيَ عَلَيْهِ أَسْوِرَةٌ مِّنْ ذَهَبٍ أَوْ
جَاءَ مَعَهُ الْمَلَائِكَةُ مُقْتَرِنِينَ))

صدق الله العلي العظيم

الزخرف ١ آيه 53

شهادة المشرف

أشهد بأني قرأت الرسالة الموسومة عزل وتشخيص بكتريا النوكارديا من التربة واستخدامها في تخليق اوكسيد الذهب النانوي للأغراض الطبية والمقدمة من قبل الطالبة (آلاء فالح حسن) وقد اعدت تحت إشرافنا في كلية العلوم جامعة ميسان كجزء من متطلبات شهادة الماجستير في علوم الحياة.

التوقيع

أ.م.د رشيد رحيم حتيت

قسم علوم الحياة

كلية العلوم/ جامعة ميسان

التاريخ // 2023

التوقيع

أ.م.د. منذر عبد الحسن خضير

قسم علوم الحياة

كلية العلوم/ جامعة ميسان

التاريخ // 2023

توصية رئيس قسم علوم الحياة

في ضوء التوصيات المتاحة ; احيل هذه الرسالة للمناقشة من قبل لجنة الامتحانات

التوقيع

أ.م. الدكتور ميثم عبد الكاظم دراج

رئيس قسم علوم الحياة

كلية العلوم/ جامعة ميسان

التاريخ: / / 2023

الاهداء

إلى الشمس الطالعة والقمر المنير
إلى النجم الزاهر واعلام الدين و قواعد العلم
إلى بقیة الله التي لا تخلو من العثرة الهادية
بنفسي انت من مغيب لم يخل منا
أي خطاب اصف فيك واي نجوى

إلى بقیة الله في ارضه
اليك هذا الجهد العلمي البسيط
التمس فيه رضاك ...

(صاحب العصر و الزمان)

الاء فالح حسن

الشكر والتقدير والعرفان

بأسمه أبدأ وعليه أتوكل وبه استعين. الحمد لله والشكر له خالق الأولين والآخرين. الصلاة والسلام على نبينا محمد سيد المرسلين وعلى آله الطيبين الطاهرين وصحبه الغر الميامين.

نحمد الله ونشكره على ما منحنا من عزيمة وصبر وإرادة لتحقيق النجاح في مسيرتنا التعليمية. في الأمس القريب بدأنا هذه الرحلة التعليمية وكنا نشعر بالرهبة والارتباك، ولكننا رأينا أن العلم والمعرفة يستحقان السعي والجد والتفاني. بحثنا يحمل في طياته طموح الشباب وحب الحياة والأمل في جعل أمتنا العربية مثل الشمس بين الأمم.

إن من المبدأ الأساسي أنه لا يمكن للإنسان أن ينطلق ويحقق طموحاته دون أن يشكر الله، فهو المنبع والمساعد الحقيقي. انطلاقاً من قول الامام باقر علوم الأولين والآخرين (عليه السلام) (لا ينقطع المزيد من الله حتى ينقطع الشكر من العباد) فأني أتوجه بالشكر والامتنان الى مشرفي الأستاذ المساعد والاب العلمي الدكتور رشيد رحيم حنيت لأقتراحه موضوع البحث المميز وتقديمه لي الكثير من الملاحظات ومساعدته السديدة لي في كل خطوة من الرسالة فجزاه الله تعالى خير ما يجزي الصالحين. وكما أتقدم بخالص جزيل الشكر والعرفان الى أستاذي ومعلمي ومشرفي الأستاذ المساعد الدكتور منذر عبد الحسن خضير لجهوده المبذولة في توجيهي ومساندته لي وحرصه المستمر في إزالة العقبات طيلة مدة البحث والدراسة فأسال الله ان يوفقه بما يحب ويرضى. كما أتوجه بشكري وتقديري الى عمادة كلية العلوم وكذلك شكري الجزيل الى جميع اساتذتي في قسم علوم الحياة والشكر الخاص الى رئيس قسم علوم الحياة الدكتور ميثم عبد الكاظم والست شيماء ربيع لما ابودوه من عون في تسهيل كثير من المهمات التي شاركت في انجاز هذه الدراسة. كذلك أتقدم بجزيل الشكر والامتنان والعرفان الى الزميل والاخ الدكتور حسن على مساعدته لي بكل اخلاص و تفاني و المساندة اللامتناهية طوال فترة الدراسة فجزاه الله خير ما يجزي المحسنين. و أقدم شكري الى صديقاتي الست زينب و الست ازهار و الست زهراء في إزالة العقبات طيلة مدة البحث

والدراسة اسأل الله ان يحفظهم ويوفقهم. واقدم شكري ايضا الى الاخ و الزميل حسين علي كشييش لما بذله من مساعدة ومساندة في العمل.

و أعبر عن شكري الخاص لعائلة زوجي الكريمة، فقد قدموا لي الدعم والمساندة والقوة في كل لحظة. أسأل الله أن يجزيهم خير الجزاء. و أشكر الله دائماً على وجود والدي وأسأله أن يحفظهما ويوفقهما في كل خطوة يخطوانها. أنا ممتنة لهما، لما يقدمانه لي من الدعم المستمر والقوة بدعواتهما المستمرة وجهودهما اللامحدودة. و أود أن أعبر عن شكري وامتناني العميق لزوجي ، الذي بذل جهوداً كبيرة لمساعدتي طوال فترة دراستي. وأخيراً، أود أن أقدم شكري الخاص لأخواتي (سحر , ايناس , امنة , اسراء , اسماء) الأعزاء على وجودهم ودعمهم المستمر طوال فترة دراستي.

الاء فالح حسن

الخلاصة

تركز الدراسة الحالية على إنتاج جسيمات اوكسيد الذهب النانوي بواسطة طريقة صديقة للبيئة سهلة و ذات تكلفة قليلة باستخدام (مستخلص) بكتريا النوكارديا.

عرفت تقنية النانو انها مجال حديث يبحث بما يتعلق بتطوير التكنولوجيا على مستوى الذري او الجزيئي حيث يتم فيها معالجة ودراسة الهياكل والأجهزة ذات المقياس الطولي في نطاق من 1 إلى 100 نانومتر.

تم خلال الدراسة الحالية، جمع عينات التربة للفترة من تشرين الثاني 2022- منتصف ايار 2023 من مناطق مختلفة في محافظة ميسان، بما في ذلك حقول الأرز (المجر الكبير)، وحدائق المنازل في مناطق متنوعة، والأراضي الزراعية.

تم جلب عينات التربة إلى مختبر التقنية الحيوية في كلية العلوم في جامعة ميسان. ثم تم عزل عدد كبير من البكتيريا باستخدام طريقة التخفيف التسلسلي Serial dilution. تم تشخيص البكتيريا بشكل أولي باستخدام المجهر الضوئي، ومن ثم تم تشخيصها بواسطة الفحوصات الكيموحيوية، وأخيرًا بواسطة تقنية تفاعل البوليميريز المتسلسل Polymerase chain reaction (PCR) للتشخيص الجزيئي. تم عزل نوعين من بكتيريا النوكارديا، وهما *Nocardia asteroides* و *Nocardia good fellowii*. وتم الحصول على سلالة جديدة من البكتيريا المعزولة وتم تسجيلها في مركز NCBI تحت رقم ادخال OR625083 وسميت العزلة بأسم Sameh-S2. بعد تشخيص البكتيريا، تم غربلة الأنواع البكتيرية لاختبار إمكانية استخدامها في التصنيع الحيوي لجسيمات أوكسيد الذهب النانوية.

تم مزج الراشح البكتيري مع محلول كلوريد الذهب، وأظهرت النتائج تغيرًا في اللون لبكتيريا واحدة هي *Nocardia asteroides* فقط كمؤشر ودليل أولي على تكون جسيمات أوكسيد الذهب النانوية. تم تأكيد إنتاج جسيمات أوكسيد الذهب النانوية المحضرة حيويًا بواسطة التوصيف الفيزيائي مثل فحص مطياف الأشعة المرئية وال فوق بنفسجية (UV-VIS spectrophotometer) أظهر وجود قمم طيف الأشعة فوق البنفسجية في الأطوال الموجية بين 265 و 306 نانومتر، وتحليل حيود الأشعة السينية (X-R diffraction) كشف عن وجود هيكل بلوري المعيني (Orthorhombic) لجسيمات أكسيد الذهب. أظهرت نتائج

مجهر الانتقال الإلكتروني (TEM) أن جسيمات الذهب النانوية المحضرة حيويًا في هذه الدراسة تمتلك أحجام تتراوح بين 200 و 12 نانومتر وأشكال مختلفة.

كما أظهر مجهر الانبعاث المجالي الماسح (Field emission Scanning Electronic Microscope) فحص التشكل السطحي والتركيب والحجم والشكل حيث تم حساب متوسط قطر الجسيمات النانوية وجاءت القيمة النهائية لهذا القطر 19 نانومتر. وأظهرت بيانات جهد زيتا (Zeta potential) أن جسيمات اوكسيد الذهب النانوية اكتسبت شحنات سطحية سالبة عند القيمة -26.19 ملي فولت. كشفت بيانات FTIR عن نطاقات ومجاميع فعالة قد تشارك في عملية الاختزال والتخليق الحيوي لجسيمات أكسيد الذهب النانوية.

تم اختبار الفعالية المضادة لجسيمات أوكسيد الذهب النانوية ضد أربعة أنواع من البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية باستخدام طريقتين وهي طريقة الانتشار القرصي disk diffusion technique، و طريقة التخفيف dilution method ولم تظهر جسيمات اوكسيد الذهب النانوية قيد الدراسة اي فعالية تثبيطية اتجاه العزلات البكتيرية المختبرة

كما تم اختبار السمية الخلوية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية ضد خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7 و خلايا سرطان الكبد HepG2 البشري و الخلايا الطبيعية لجنين الفأر MEF باستخدام تراكيز مختلفة

(6.25, 100, 75, 50, 25, 12.5) مايكروغرام / مل كشفت البيانات ان هذه الجسيمات اظهرت فعالية ضد الخلايا المذكورة بطريقة تعتمد على التركيز اذ كان التركيز المثبط لنصف الخلايا IC₅₀ لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية المصنعة من البكتيريا *Nocardia asteroides* MT355849 ضد خطوط الخلايا MEF, MCF-7, HepG2

هو 46.84, 12.22, 85.91 ميكروغرام / مل على التوالي وبينت هذه النتائج الى أن الفعالية السمية لجسيمات أوكسيد الذهب النانوية اتجاه خلايا الكبد كانت أعلى بالمقارنة مع خلايا سرطان الثدي والخلايا الطبيعية

وأكدت نتائج التحليل الاحصائي بواسطة برنامج Graph Pad Prism وجود فروق معنوية بين التراكيز المثبطة للخلايا السرطانية عند مستوى معنوية 0.05.

المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
أ, ب	الخلاصة (باللغة العربية)
ج	قائمة المحتويات
ح, ط	قائمة الجداول
ظ, ي, ك, ل	قائمة الأشكال
ل	قائمة المختصرات

الصفحة	العنوان	التسلسل
الفصل الأول: المقدمة		
1	المقدمة Introduction	1-1
4	الهدف من الدراسة The aim of the study	2-1
الفصل الثاني : استعراض المراجع		
5	تقنية النانو Nanotechnology	1-2
6	الجسيمات النانوية Nanoparticles	2-2
7	تصنيف الجسيمات النانوية Classification of nanoparticles	1-2-2
11	الخصائص الفيزيائية والكيميائية للجسيمات النانوية في الطب Physiochemical Properties of Nanoparticles in Medicine	3-2
10	الكيمياء السطحية للجسيمات النانوية Surface Chemistry of nanoparticles	4-2
13	السمية الخلوية للجسيمات النانوية Nanoparticle Cytotoxicity	5-2
14	الذهب The gold	6-2

15	Gold nanoparticles جسيمات الذهب النانوية	7-2
17	Gold oxide particles جسيمات اوكسيد الذهب	8-2
17	تصنيع جسيمات الذهب النانوية ومركباته Synthesis of of gold nanoparticles and its compounds	9-2
19	طرق تحضير اوكسيد الذهب synthesis of gold oxide nanoparticles	10-2
19	تصنيع جسيمات الذهب النانوية حيويًا Biosynthesis of gold nanoparticles	11-2
21	التوليف الاخضر للمستخلصات النباتية Green synthesis of plant extract – Au NPs	1-11-2
21	الطريقة العامة لتحضير وتصنيع الجسيمات النانوية الذهبية Thr general approach to plant preparation(Au NPs)	2-11-2
22	التخليق الاخضر لجسيمات الذهب النانوية من البكتريا	3-11-2
23	التوليف الاخضر لجسيمات الذهب النانوية من الفطريات Green synthesis of AuNps from Fungi	4-11-2
24	التوليف الاخضر لجسيمات الذهب النانوية من الطحالب Green synthesis of AuNPs from Algae	5-11-2
25	تطبيقات جسيمات الذهب النانوية ومركباتها Application of gold nanoparticles and their compounds	12-2
29	بكتريا النوكارديا <i>Nocardia</i> bacteria	13-2
29	تصنيف بكتريا النوكارديا Classification of <i>Nocardia</i> bacteria	1-13-2

30	Isolation of <i>Nocardia</i> عزل بكتريا النوكارديا من التربة from soil	2-13-2
31	The role of <i>Nocardia</i> دور بكتريا النوكارديا في الطب الحيوي bacteria in biomedicine	3-13-2
31	The cancer السرطان	14-2
32	The breast cancer سرطان الثدي	1-14-2
33	The liver cancer سرطان الكبد	2-14-2
34	Nano treatment and علاج السرطان و تقنية النانو Nanotechnology	15-2
36	Cytotoxicity السمية الخلوية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية of gold oxide nanoparticles	16-2
الفصل الثالث: المواد وطرق العمل		
41	Equipment and Apparatus الأجهزة والمعدات المختبرية	1-3
42	الادوات المستخدمة في هذه الدراسة	2-3
43	المواد الكيميائية والبيولوجية	3-3
44	الأوساط الزرعية المستخدمة في هذه الدراسة	4-3
44	Isolation Media الاوساط الزرعية لعزل البكتريا	5-3
44	Preparation of cultural طرق تحضير الاوساط الزرعية media	1-5-3
45	Humic acid vitamin B وسط عزل بكتريا النوكارديا	1-1-5-3
45	Ready-made culture media الاوساط الزراعية الجاهزة	2-5-3
46	تصميم الدراسة	6-3
47	Soil Samples Collecting عزل عينات التربة	1-6-3
47	Dilution of Soil Samples تخفيف عينات التربة	2-6-3
48	Identification of bacteria عزل وتشخيص البكتريا	3-6-3

48	Macroscopic and Morphological الفحص المظهري examination	1-3-6-3
49	Gram stain and صبغة جرام والفحص المجهرى microscopic examination	2-3-6-3
49	Biochemical reaction 4-6-3 تحديد الاختبارات الكيموحيوية identification	4-6-3
49	Urease tests	1-4-6-3
49	Catalase Test	2-4-6-3
49	Casein degradation	3-4-6-3
50	Starch degradation	4-4-6-3
50	Tyrosine degradation	5-4-6-3
50	Molecular Identification of التشخيص الجزيئي للعزلات the Isolates	5-6-3
50	Extraction of bacterial استخلاص الحمض النووي للبكتريا genomic DNA	1-5-6-3
51	Amplification of 16S RNA gene by thermocycler تضخيم جين 16S rDNA بواسطة جهاز التدوير الحراري	2-5-6-3
53	16S rDNA تسلسل جين	3-5-6-3
55	تحضير محلول كلوريد الذهب 2 ملي مولار (HAuCl ₄ .3H ₂ O)	7-3
55	1-7-3 تخليق جسيمات اوكسيد الذهب النانوية (Au ₂ O ₃ -NPs) من بكتريا Nocardia asteroides Nocardia good fellow	1-7-3
56	التشخيص الفيزيائي لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية المصنعة حيويًا	2-7-3
56	التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية Ultra Violet visible	1-2-7-3
57	2-2-7- التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)	2-2-7-3
57	(X- Ray diffraction حيود الأشعة السينية)	3-2-7-3
57	Atomic force microscope)) مجهر القوة الذرية	4-2-7-3

58	تحليل الأشعة السينية المشتتة للطاقة (Energy-dispersive X-ray spectroscopy)	5-2-7-3
58	المجهر الإلكتروني الماسح للانبعاث الميداني (FE-SEM) Field Emission Scanning Electron Microscope	6-2-7-3
58	تحليل جهد زيتا Zeta-Potential analysis	7-2-7-3
59	المجهر الإلكتروني النافذ 3-7-2-8 (TEM microscope)	8-2-7-3
59	التطبيقات البيولوجية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية المحضرة Biological applications of prepared of oxide gold nanoparticles	8-3
59	الفعالية ضد بكتيرية من جسيمات اوكسيد الذهب النانوية - Anti-bacterial activity of prepared -Au ₂ O ₃ NPs	1-8-3
59	طريقة الاقراص agar disk diffusion method	1-1-8-3
60	نشاط مضاد البكتريا بطريقة التخفيف Antibacterial Activity by dilution method	2-1-8-3
60	تطبيقات الجسيمات النانوية (اوكسيد الذهب النانوي) على خطوط Applications of Synthetic Au ₂ O ₃ NPs Nanoparticles on tumour cell lines	2-8-3
62	3-8-3 اختبار سمية المادة النانوية على نمو الخطوط الخلوية Cytotoxic Assay of Nana Extracted on Cancer Cell Lines ₃	3-8-3
63	التحليل الاحصائي	9-3
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة		
65	عزل البكتريا من التربة Isolation of Bacteria from Soil	1-4
67	الاختبارات الكيموحيوية Biochemical Tests	2-4
69	التشخيص بواسطة تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل Diagnosis by polymerase chain reaction technology	3-4
75	التصنيع الحيوي لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية Green synthesis of nanoparticles Au ₂ O ₃ NPs	4-4
78	توصيف جسيمات اوكسيد الذهب النانوية Characterization of gold oxide nanoparticles	5-4
78	التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية UV-Visible	1-5-4
79	جهد زيتا Zeta Potential	2-5-4
80	3-5-4 طيف الأشعة تحت الحمراء FTIR	3-5-4
82	مجهر القوة الذرية (Atomic Force Microscopy - AFM)	4-5-4

82	X-ray diffraction حيود الاشعة السينية 5-5-4	5-5-4
84	Transmission Electronic المجهر الالكتروني النافذ Microscope	6-5-4
86	Field emission المجهر الالكتروني الماسح للانبعثات المجالي EDX و Scanning Electronic Microscope	7-5-4
88	Gold نشاط جسيمات أوكسيد الذهب النانوي المضاد للبكتريا oxide nanoparticles' antibacterial activity	6-4
89	7-4 السمية الخلوية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية على السرطان Cytotoxicity of gold oxide و خطوط الخلايا الطبيعية nanoparticles on cancer and normal cell lines	7-4
الفصل الخامس: الاستنتاجات والتوصيات		
97	Conclusions الاستنتاجات	1
98	Recommendation التوصيات	2
99	المصادر الاجنبية	3
	الملاحق	4

قائمة الجداول

الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
15	الصفات الكيميائية والفيزيائية للذهب	1-2
36	يوضح انواع الجسيمات النانوية المستخدمة كحوامل	2-2
41	الأجهزة المستخدمة في هذه الدراسة	1-3
42	الادوات المستخدمة في هذه الدراسة	2-3
43	المواد الكيميائية والبيولوجية المستخدمة في هذه الدراسة	3-3
44	الأوساط الزرعية المستخدمة في هذه الدراسة	4-3
53	البيادئات المستخدمة في عملية PCR	5-3
54	يوضح خليط التفاعل المستخدم لتضخيم تفاعل البوليميراز المتسلسل	6-3
54	برنامج تفاعل البوليميريز المتسلسل لتضخيم	7-3

	جين 16SrDNA	
67	جدول الاختبارات الكيموحيوية لبكتيريا Nocardia Asteroides,,Nocardia good fellow	1-4
90	نتائج التحليل الاحصائي لتراكيز خط خلايا الكبد السرطانية	2-4
91	نتائج التحليل الاحصائي لتراكيز خط خلايا الثدي السرطانية	3-4
93	نتائج التحليل الاحصائي لتراكيز خط خلايا MEF الطبيعية	4-4

قائمة الاشكال

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
6	التمثيل الميكانيكي لتخليق الجسيمات النانوية بواسطة الميكروبات	1
9	يمثل الجسيمات النانوية المعدنية (MNPs) و استخداماتها في مختلف التطبيقات	2
11	الخواص الفيزيائية والكيميائية للجسيمات النانوية	3
17	انواع الذهب النانوية	4
18	طرق مختلفة لتخليق الجسيمات النانوية	5
19	جسيمات الذهب النانوية بأشكال مختلفة منتجة من مصادر ميكروبية مختلفة	6
20	طرق تكوين الجسيمات النانوية حيويًا	7
22	التوليف الأخضر للجسيمات الذهب النانوية من النبات	8
23	التصنيع الأخضر للجسيمات النانوية باستخدام البكتيريا.	9
25	تطبيقات متعددة الوظائف لجسيمات الذهب النانوية	10
54	آليات جزيئات الذهب النانوية (AuNPs)	11
46	مخطط يوضح خطة العمل للدراسة البحثية (اعداد الباحثة)	12
47	مناطق جمع التربة	13

48	عملية تخفيف عينات التربة	14
66	شكل المستعمرة المعزولة على وسط Humic acid VB agar	15
66	لون وملمس المستعمرة	16
67	الفحص المجهرى لبكتريا Nocardia asteroid	17
67	الفحص المجهرى لبكتريا Nocardia good fellow	18
69	الاختبارات الكيموحيوية حيث ان A يمثل اختبار اليوريا و B يمثل اختبار الكازين و C تمثل اختبار النشا & D تمثل اختبار الكاتاليز	19
70	حجم ناتج PCR بعد الترحيل الكهربائي على (1% w/v) هلام الاكاروز و 1X TBE buffer لمدة 45 دقيقة بإستعمال (DNA Ladder (2000- 100	20
76	التغير اللوني من الابيض الشفاف الى الاصفر الفاتح لراشح مزرعة البكتيريا Nocardia asteroid بعد مرور 45 دقيقة من وقت التفاعل	21
77	التغير اللوني من الابيض الشفاف الى البرتقالي لراشح البكتريا Nocardia asteroid بعد مرور 48 ساعة	22
77	عينات لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية بعد التجفيف لأجراء الفحوصات الفيزيائية	23
79	طيف الاشعة فوق البنفسجية لراشح البكتريا Nocardia asteroid	24
80	جهد زيتا لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية لراشح المستخلص البكتيري Nocardia asteroid	25
81	طيف الاشعة تحت الحمراء لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية المصنعة من بكتريا Nocardia asteroid	26
83	صور مجهر القوة الذرية الثلاثية الابعاد ومخطط لمعدل قطر الارتفاعات لذرات الذهب أو كسيد الذهب.	27

84	نمط حيود الأشعة السينية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية المخلقة من <i>Nocardia asteroid</i>	28
85	صور المجهر الالكتروني النفوذى بمستويات تكبير مختلفة لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية لراشح البكتريا <i>Nocardia</i> <i>asteroids</i>	29
86	توزيع الحجم لجسيمات الذهب النانوية لراشح البكتريا <i>Nocardia asteroid</i>	30
87	توزيع الهيستوكرام لقطر جسيمات اوكسيد الذهب النانوية	31
88	مخطط EDX لجسيمات الذهب النانوي المخلقة من راشح <i>Nocardia asteroid</i>	32
89	النشاط المضاد لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية (طريقة النشر بالاقراص) ضد بكتريا <i>Stphylococcus aureus</i> , <i>E.coli</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterococcus</i> N:nano , A: antibiotic , c: control	33
89	النشاط المضاد لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية (طريقة التخافيف) ضد بكتريا <i>Pseudomonas</i> , <i>E.coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	34
91	تم استخدام خط الخلايا MCF7 بتركيز 100 ميكروغرام من جسيمات اوكسيد الذهب النانوية المصبوغة بصبغة الكريستال البنفسجي	35
92	خط خلايا HepG2 بتركيز 100 غير معاملة بجسيمات اوكسيد الذهب النانوية و مصبغة بصبغة <i>crystal violet</i>	36
92	خط خلايا HepG2 معاملة بجسيمات اوكسيد الذهب النانوية و مصبغة بصبغة <i>crystal violet</i>	37
93	خط الخلايا MEF بتركيز 100 ميكروغرام من جسيمات اوكسيد الذهب النانوية المصبغة بصبغة الكريستال البنفسجي	38
93	منحنيات IC50 لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية لخلايا <i>HepG2</i> , <i>MCF7</i> , <i>MEF</i>	39

قائمة المختصرات

الاختصارات	المفتاح
AFM	Atomic Force Microscope
AuNPs	Gold nanoparticles
CCA	Bile duct cancer
CRT	Chemo-Radio-Therapy
EDX	Energy-dispersive X-ray spectroscopy
FESEM	Field Emission Scanning Electronic Microscope
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy
HBV	hepatitis B virus
HCC	Hepatocellular carcinoma
HCV	hepatitis C virus
HepG2	Hepatoblastoma cell line
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7
MEF	Mice embryo fibroblast cell line
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease
NCBI	National Center for Biotechnology Information
Nm	Nanometer
PCR	Polymerase chain reaction
PMAA	poly methyl acrylic acid
ROS	Reaction Oxygen Species
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SPR	Surface Plasmon Resonance
TEM	Transmission Electron Microscope
XPS	X-ray photoelectron spectroscopy
XRD	X-Ray Diffraction

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1- المقدمة Introduction

يستخدم مصطلح السرطان Cancer حاليا الى الاشارة الى مجموعة من الامراض التي تتميز بنمو خلوي غير طبيعي غير متحكم فيه (Martínez-Jiménez *et al.*, 2020; Stratton, 2011)

يمكن ان تكون التغييرات الجينية التي تتحكم في نمو الخلايا و انقسامها وراثية او ناجمة عن التعرض للسموم البيئية خلال حياة الفرد اي تغييرات جسدية (Hanahan & Weinberg, 2011; Nyqvist *et al.*, 2020). يمكن تلخيص تطور السرطان عبر اربع خطوات مختلفة هي بدء السرطان , انتشار الورم, ورم خبيث للاعضاء البعيدة ومقاومة العلاج الكيميائي (Colaprico *et al.*, 2020; Lytle *et al.*, 2018). يصيب السرطان اعضاء الجسم المختلفة مثل الدماغ والرئة والكبد والثدي . يعد سرطان الثدي Breast cancer اكثر انواع السرطانات شيوعا بين النساء حول العالم ويمثل نسبة 15% من وفيات السرطان بين النساء جميع انحاء العالم. يحدث سرطان الثدي في كلا الجنسين , على الرغم ان وجوده في الذكور نادر جدا (Chandira *et al.*, 2019).

ان تطوير علاجات فعالة ضد سرطان الثدي لايزال يمثل اولوية كبيرة لدى الباحثين حيث اعتمد علاج سرطان الثدي الاولي بشكل اساسي على التدخل الجراحي الاولي بما في ذلك استئصال الكتلة الورمية او استئصال الثدي الجزئي او الكلي متبوعا ذلك بالاشعاع و اشكال مختلفة من العلاج بما في ذلك العلاج الكيميائي السام للخلايا و العلاج الهرموني و العلاج المناعي. هنالك حاجة ماسة الى ابتكار طرق جديدة لعلاج السرطان يمكنها التغلب على كل هذه العوائق .على مدى العقدين الماضيين كان هناك زيادة الاهتمام بتقنية النانو المشعة لعلاج السرطان ينبع هذا الاهتمام من خصائص الجسيمات النانوية المشعة التي تسمح بتصميم وانشاء الجسيمات النانوية لعلاجية لتناسب مع حجم الاوعية الدموية مما يسمح لأخصائي الاورام بتحقيق الحمولة العلاجية المثلى مع التوزيع المتجانس و الحد الأدنى من تسرب النشاط الاشعاعي من الموقع المستهدف (Shukla *et al.*, 2005) .

يعد سرطان الكبد سادس اكثر الاورام الخبيثة شيوعا على مستوى العالم و لاتزال معدلات الاصابة و الوفيات في تزايد. على الرغم من أن استئصال الجزئي للكبد وزراعة الكبد قد تم تطبيقهما بنجاح في علاج المرحلة المبكرة من سرطان الكبد, إلا ان التأثيرات

العلاجية للمتابعة تبقى غير مرضية بسبب الاحتمالية العالية للانتكاس بعد العملية. بالإضافة الى ذلك أظهر العلاج الكيميائي المستخدم على نطاق واسع أيضا بعض العيوب بما في ذلك التحمل الكبير للخلايا السرطانية للأدوية والتأثيرات السامة للخلايا غير المستهدفة , مما يؤدي الى صعوبات في علاج سرطان الكبد. ولذلك فمن الضروري تطوير علاجات بديلة للحد من خطر تكرار سرطان الكبد بعد العملية الجراحية (Ji et al., 2023).

أكدت الدراسات (Kalashgrani & Javanmardi, 2022) ان جسيمات الذهب النانوية ومركباته مفيدة في علاج السرطان وتصويره وكذلك يمكنها توصيل جرعة اشعاعية مباشرة الى الخلايا السرطانية و المكونات الخلوية ذات التركيز العالي من النشاط الاشعاعي لان كل جسيمه تحتوي على مئات من ذرات الذهب التي تقدم فرصاً متجددة في تصميم و تطوير العوامل العلاجية النانوية (Katti & Katti, 2006)

يعود السبب في الاستخدام الشائع للجسيمات النانوية في مختلف التطبيقات العلمية الى حجمها, بنيتها, الخصائص المظهرية و امكانية اعادة تنظيم و توجيه انتشارها في طرق محددة (Anand et al., 2017; Handy et al., 2008; Parashar et al., 2009).

الجسيمات النانوية هي مواد ذات خصائص مميزة مع مجال واسع من التطبيقات وتمتلك هذه الجزيئات مساحة سطح واسعة تجعلها كيميائياً اكثر تفاعلياً من نظائرها الهيكلية الدقيقة (Mohanpuria et al., 2008). للجسيمات النانوية مجموعة من الخصائص التي تتميز بها ، مثل الخصائص الكهربائية والميكانيكية والمغناطيسية والحرارية والضوئية والبيولوجية (Baranwal et al., 2018). ومن الجسيمات النانوية ما يسمى الجسيمات النانوية المعدنية (Metallic NPs) التي تمتلك عدد من التطبيقات في المجالات الطبية الحيوية وبالتالي هذا يفتح المجال للتوسع في تطبيقها في المجالات الطبية الحيوية (Soltaninezhad et al., 2015).

استخدام الطرق الكيميائية التقليدية في تصنيع الجزيئات النانوية يمكن أن يواجه بعض المشاكل. واحدة من هذه المشاكل هي صعوبة استخدام المعدات المتطورة في المختبرات، مما يمكن أن يؤدي إلى تعقيد عملية التصنيع وزيادة التكاليف. بالإضافة إلى ذلك، قد يتسبب استخدام مواد كيميائية كمواضع مختزلة في إنتاج محاليل رغوية ضارة بالبيئة، مما يشكل تحدياً بيئياً. لحل هذه المشاكل، يتم التركيز حالياً على تطوير طرق تصنيع الجزيئات النانوية ذات

الاستدامة العالية والأمان البيئي. (Sajid *et al.*, 2015 ; Niemeyer & Mirkin,) (2004)

أدت هذه المشكلات إلى البحث عن طرق أسهل وأكثر أماناً للبيئة ومن هذه الطرق المتاحة استخدام الكائنات الحية (على سبيل المثال الكائنات الحية الدقيقة، الكتلة الحيوية النباتية، أو المستخلصات النباتية) كمواد مختزلة خلال عملية التصنيع الجزيئات النانوية (Martínez Espinosa *et al.*, 2020; Mohanpuria *et al.*, 2008).

فيما يتعلق بجسيمات الذهب النانوية المُصنَّعة حيويًا ، كشفت عدد من الدراسات الحديثة إلى الدور الإيجابي لجسيمات الذهب النانوية كمضاد للأكسدة

(Könen-Adıgüzel *et al.*, 2018 ;Manimaran & Kannabiran.,2017)
(Hemashekhar *et al.*, 2019;

أو كمضاد للسرطان (Ranjitha & Ravishankar Rai, 2021;Hemashekhar
et al., 2019 ;; Harby *et al.*, 2022; أو كمضاد للميكروبات

(Könen- Hemashekhar *et al.*, 2019 ;Adıgüzel *et al.*, 2018 ;
Manimaran & Kannabiran, 2017)

تم دراسة التصنيع الحيوي لجسيمات الذهب النانوية (AuNPs) من قبل بكتيريا النوكارديا وتأثيرها على مجال الطب الحيوي في القليل من الدراسات (Bennur *et al.*,) (2020; Könen-Adıgüzel *et al.*, 2018; Oza *et al.*, 2012) لذلك في هذه الدراسة البحثية ، تم دراسة فعالية جسيمات اوكسيد الذهب النانوية (Au_2O_3) كمضادات للأورام و مضادات للبكتيريا والتي تم تصنيعها حيويًا من بكتيريا النوكارديا (*Nocardia*) المعزولة من التربة.

لم يتم إجراء أي دراسات سابقة على تحضير جسيمات أوكسيد الذهب النانوية بالطريقة الحيوية في البحوث العلمية المنشورة. لذلك هذا النوع من البحث يُعتبر جديدًا ومبتكرًا في مجال العلوم.

2-1- الهدف من الدراسة Aim of this study

1. عزل بكتيريا النوكارديا (Nocardia) من التربة و تشخيصها بالطرق المظهرية والفحوصات الكيميائية مثل Tyrosine, Starch, Casein, Urease, Catalase و تشخيصها جزيئياً عن طريق تقنية الـ sequencing
2. اختبار قدرة بكتيريا النوكارديا على التصنيع الحيوي لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية (Au_2O_3)
3. توصيف جسيمات اوكسيد الذهب النانوية (Au_2O_3) المصنعة حيويًا باستخدام الطرق الفيزيائية والكيميائية مثل: التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية (Ultra Violet visible)، فحص تحليل حيود الأشعة السينية (x Ray diffraction)، المجهر الإلكتروني الماسح للانبعاث الميداني (FE-SEM) Field Emission Scanning Electron Microscope
- فحص المجهر الإلكتروني النافذ (TEM)، فحص تشتت الطاقة بالأشعة السينية (Energy-dispersive X-ray spectroscopy) و فحص مجهر القوة الذرية (Atomic force microscope) و فحص التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared spectroscopy و فحص Zeta-Potential analysis تحليل جهد زيتا والفحوصات الكيميائية مثل , Urease, Catalase, Tyrosine, Starch
4. دراسة فعالية جسيمات اوكسيد الذهب النانوية (Au_2O_3) المصنعة حيويًا ضد البكتيريا المعزولة من حالات التهابات المسالك البولية.
5. دراسة السمية الخلوية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوي المحضرة مختبرياً على نوعين من الخطوط السرطانية MCF7 (خلايا سرطان الثدي) و خلايا HepG2 (خلايا سرطان الكبد) والمقارنة مع الخلايا الطبيعية MEF.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature

Review

2- استعراض المراجع

1-2 تقنية النانو Nanotechnology

"نانو" هي كلمة تم اشتقاقها من اللغة اليونانية وتعني "صغير جدًا" أو "قزم". وفي مجال العلوم والتقنية، تستخدم وحدة القياس "نانومتر" (nano meter) للإشارة إلى هذا الصغر. فالنانومتر يُعتبر جزءًا واحدًا من المليار من المتر (10^{-9} متر). وهذا المقياس أصغر بكثير من طول موجة الضوء المرئي وأقل بمقدار 100 ألف مرة من سمك شعرة الإنسان. (Tripathi, 2019).

تقنيات النانو هي مجال حديث يبحث بما يتعلق بتطوير التكنولوجيا على مستوى الذري أو الجزيئي حيث يتم فيها معالجة ودراسة الهياكل والأجهزة ذات المقياس الطولي في نطاق من 1 إلى 100 نانومتر.

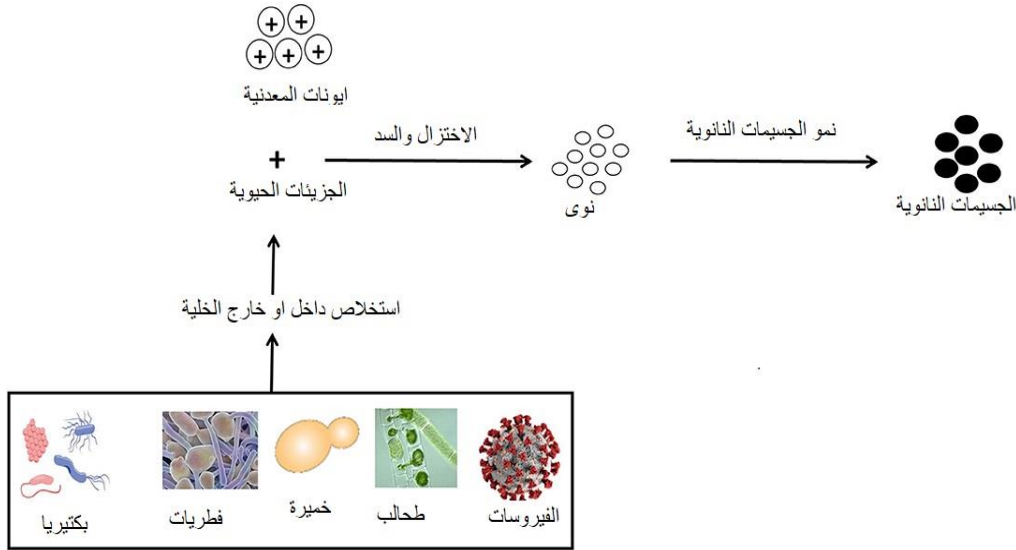
عرف علم النانو بأنه الأحداث التي تحدث في المواد على مقياس النانو، وتشمل الهياكل النانوية مثل الحمض النووي الريبوزي (RNA) والحمض النووي (DNA) والعضيات تحت الخلوية. وترتبط علوم النانو بشكل وثيق بالبيولوجيا والكيمياء الحيوية، وتعد تكنولوجيا النانو متعددة التخصصات وتشمل مجموعة واسعة من العلوم والتكنولوجيا (Kumar et al., 2023).

نظرًا للتوسع والتطور الكبير في مجال تقنية النانو، أصبحت من أهم التقنيات في العلوم الحديثة. وبالتالي، بدأت المؤسسات البحثية في المنافسة واستثمار الكثير من المال والجهود في أبحاث تطوير التقنيات النانوية، مما يسهم في حل العديد من المشاكل الخطيرة التي يتم مواجهتها في الوقت الحالي. فعلى سبيل المثال، تساهم التقنيات النانوية في إنتاج مواد جديدة تتمتع بخواص فريدة ومتفوقة، وتساهم أيضًا في علاج الأمراض المستعصية التي لا تستجيب للعلاج التقليدي، وتساعد في زيادة كفاءة استخدام الطاقة (Abad-Segura et al., 2020).

2-2 الجسيمات النانوية

الجسيمات النانوية تعرف كذلك بالجسيمات متناهية الصغر تعرف على أنها جسيمات من المادة التي يتراوح قطرها بين 1 و 100 نانومتر (Malmsten, 2014). يوجد مجموعة كبيرة ومتنوعة من الأشكال الهندسية للجسيمات النانوية والتي تسمى بأسماء مختلفة على

nanochains, و nanospheres (Agam & Guo, 2007), nanorods: سبيل المثال
(Kralj & Makovec, 2015) Nano Reefs , nano flower nano star
يتم استخدام الكائنات الحية الدقيقة عن طريق افراز الجزيئات الحيوية كعوامل اختزال
لتصنيع الجسيمات النانوية. الشكل 1,2.



الشكل (1) : التمثيل الميكانيكي لتخليق الجسيمات النانوية بواسطة الميكروبات (Ghosh *et al.*, 2021)

1-2-2 تصنيف الجسيمات النانوية Classification of nanoparticles

1. الجسيمات النانوية العضوية Organic nanoparticles

هذه الفئة من الجسيمات النانوية، الجسيمات النانوية العضوية (ONPs)، يتم تصنيعها من جزيئات عضوية بحجم 100 نانومتر أو أقل (Qi & Zhang, 2022) من أمثلة هذه الفئة الجسيمات النانوية أو البوليمرات العضوية المعروفة polymers ، بما في ذلك الفيريتين ferritin ، والمذيلات micelles ، والتشعبات dendrimers ، والجسيمات الشحمية liposomes. المذيلات والجسيمات الشحمية هي جسيمات نانوية ذات جزء داخلي مجوف يُعرف باسم الكبسولة النانوية nanocapsule وهي حساسة للحرارة والإشعاع الكهرومغناطيسي (الحرارة والضوء) (Esakkimuthu *et al.*, 2014). كما أنها قابلة

للتحلل البيولوجي وغير سامة. ونظرًا لميزاتها المميزة، فهي تعتبر بدائل مفضلة لتوصيل الأدوية. فلها القدرة على حمل الدواء، واستقراره، وطرق إيصاله، سواء كان الدواء المحبوس entrapped drug أو نظام الدواء الممتص adsorbed drug system ، على الرغم من أهمية الحجم والتركيب وشكل السطح (Hamidi *et al.*, 2008). تجد الجسيمات النانوية العضوية تطبيقًا واسع النطاق في مجال الطب الحيوي (Gholamali *et al.*, 2020).

جسيمات النانوية غير العضوية Inorganic Nanoparticles

تُعرف الجسيمات النانوية التي تفتقر إلى ذرات الكربون بالجسيمات النانوية غير العضوية. عادةً ما يتم تعريف الجسيمات النانوية غير العضوية على أنها تلك المكونة من معادن أو أكاسيد معدنية وتكون على نوعين :

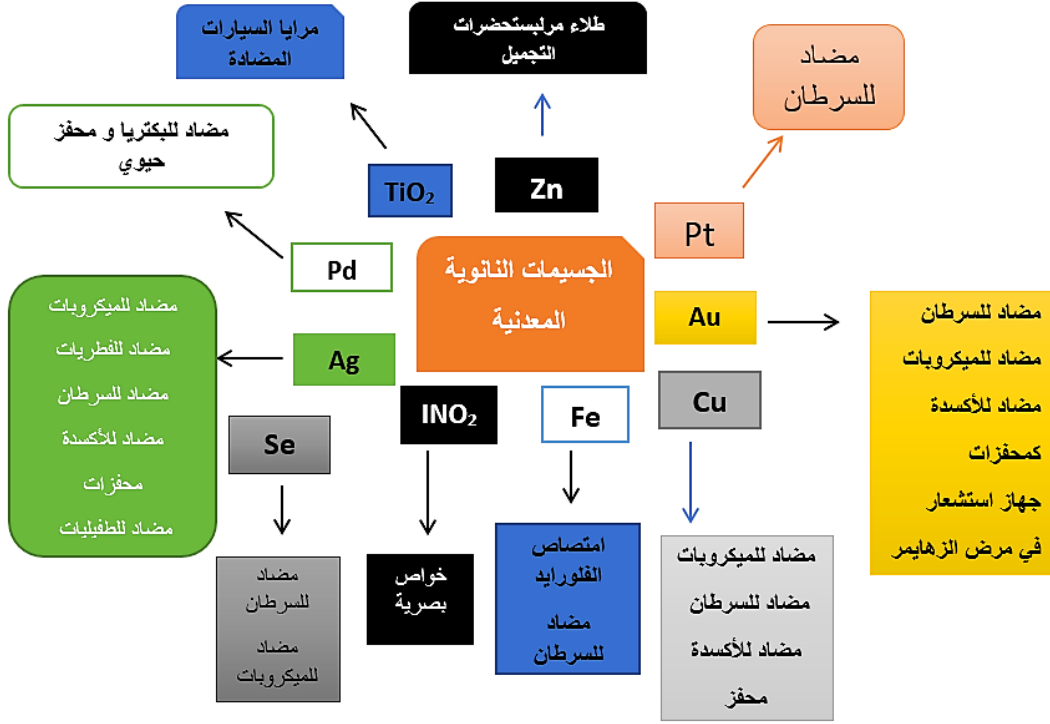
أ- الجسيمات النانوية غير العضوية المعدنية Inorganic metal nanoparticles

يمكن تصنيع الجسيمات النانوية لكل معدن تقريبًا ومن الامثلة الشائعة على المعادن المصنعة بأحجام نانوية هي : 18 من المعادن مثل الألمنيوم (Al)، والكاديوم (Cd)، والكوبالت (Co)، والنحاس (Cu)، والذهب (Au)، والحديد (Fe)، والرصاص (Pb)، والفضة (Ag) ، والزنك (Zn) يتم استخدامها بشكل متكرر في التطبيقات البيولوجية والعلمية المختلفة.

تتميز الجسيمات النانوية المعدنية بحساسية فائقة للأشعة فوق البنفسجية والمرئية، وخصائص كهربائية، وتحفيزية، وحرارية، ومضادة للبكتيريا (Khan *et al.*, 2022) ونتيجة لصغر حجم الجسيمات، هناك العديد من الذرات على السطح. تختلف نسبة مساحة السطح إلى الحجم للجسيمات وفقًا لشكل وحجم الجسيمات النانوية، والتي تؤثر بدورها على خصائص مثل الحساسية والموصلية للأشعة فوق البنفسجية المرئية. إن مستويات الطاقة الإلكترونية، والانتقالات الإلكترونية، والخصائص المغناطيسية، ودرجة حرارة انتقال الطور، ونقطة الانصهار، والارتباطات بالمواد البوليمرية والبيولوجية والعضوية ليست سوى بعض من الخصائص العديدة التي تتأثر بالتغيرات في مساحة السطح. تكتسب الجسيمات النانوية شحنتها من خلال مجموعة من التأثيرات منها قوة كولوم وآليات الحجم الكمي (Cheung *et al.*, 2015).

ب- الجسيمات النانوية لأكاسيد المعادن Metal oxide nanoparticles MONPs

أظهر الباحثون اهتمامًا متزايدًا بأكاسيد المعادن خلال العقود القليلة الماضية. تتحد الأيونات المعدنية الموجبة وأيونات الأكسجين السالبة لتكوين مركبات أيونية تعرف باسم أكاسيد المعادن. التفاعلات الأيونية قوية ومستقرة بسبب التفاعلات الكهروستاتيكية بين أيونات المعادن الموجبة وأيونات الأوكسجين السالبة (Devan *et al.*, 2012). على سبيل المثال، يتم تحويل جسيمات الحديد النانوية (Fe) بسهولة إلى جسيمات نانوية من أكسيد الحديد (Fe_2O_3) عند تعرضها للأوكسجين في درجة حرارة الغرفة، مما يزيد بشكل كبير من تفاعلها مقارنة بجسيمات الحديد النانوية. يتم تصنيع هذه الجسيمات النانوية المعتمدة على الأكسيد لتعديل خصائص نظيراتها المعتمدة على المعادن. من أجل الاستفادة من تفاعلها وكفاءتها (Tai *et al.*, 2007). غالبًا ما يتم تصنيع جسيمات نانوية من أكسيد المعادن. يعتبر ثاني أكسيد السيليكون (SiO_2)، وأكسيد التيتانيوم (TiO_2)، وأكسيد الزنك (ZnO)، وأكسيد الألومنيوم (Al_2O_3) من بين الأكاسيد الأكثر تصنيعًا. (Bulychev, 2022; Fayad & Dhahad, 2021; Song *et al.*, 2021). عند مقارنتها بنظيراتها المعدنية، تظهر هذه الجسيمات النانوية خصائص مهمة منها استخدامها في العلاجات الطبية والتطبيقات الصناعية وغيرها. تعني الجسيمات النانوية المعدنية غير العضوية التي تكون الأكثر استخدامًا على نطاق واسع حيث تكون بديلاً محتملاً للمضادات الحيوية (Bhorkade *et al.*, 2022). حيث أن تطوير السلالات المقاومة قد يكون أكثر صعوبة نظرًا لاستهداف الجسيمات النانوية للعديد من المواد الحيوية. ذلك يعني أنه قد يكون هناك تأثير سلبي على الكائنات الحية وعلى القدرة على تطوير المقاومة ضدها (Baptista *et al.*, 2018). يمكن وصف الجسيمات النانوية ذات الأساس المعدني باستخدام مجموعة متنوعة من التقنيات شكل (2) توفر هذه الطرق معلومات عن هيكليتها والصفات الكيموفيزيائية وكذلك الخصائص الكهربائية والتي هي ضرورية جدًا لفهم كيفية التصرف في الجسم الحي. أهم جوانب الجسيمات النانوية هي الشكل والطاقة السطحية (Li *et al.*, 2018). البكتريا لها صفات فريدة توضح كيفية استجابتها عند الاتصال بالمنتجات النانوية المعدنية مع العلم أن هنالك اختلاف بين البكتريا الموجبة لصبغة جرام و السالبة لهذه الصبغة وهذا الاختلاف يكمن في الجدار ويكون ضروري جدًا لأن التأثير السميك لعوامل مضادات الميكروبات على البكتيريا يبدأ بسبب التفاعل المباشر مع سطح الخلية (Sánchez-López *et al.*, 2020).



الشكل (2): يمثل الجسيمات النانوية المعدنية (MNPs) و استخداماتها في مختلف التطبيقات (Sánchez-López et al., 2020).

2- الجسيمات النانوية غير العضوية ذات الأساس الكربوني Carbon-Based Nanoparticles

لعب الكربون دورًا محوريًا في تطور الحضارة الإنسانية على الأرض. وعندما يقترن بمواد أخرى، فإنه يخلق اواصر ذات قوة عالية. أدت الطرق المختلفة للتخليق إلى تطوير مجموعة واسعة من المواد النانوية القائمة على الكربون خلال العقود القليلة الماضية. ونتيجة لشكلها غير المعتاد وخصائصها المتنوعة، فقد وجدت تطبيقات في العديد من القطاعات المتعددة. المواد النانوية المعتمدة على الكربون لها عدة استخدامات محتملة، بما في ذلك تخزين وإنتاج الطاقة، ومعالجة المياه ومياه الصرف الصحي، والتطبيقات البيولوجية. هناك عدد من الأشكال المرتبطة التي يمكن للكربون أن يأخذها. الماس، والجرافيت، و Buckminster fullerene كلها أمثلة على الموصلات الكهربائية. يمتلك الجرافيت أعلى مستوى من الاستقرار الديناميكي الحراري بين جميع العناصر. وبسبب موصليته العالية، يمكن استخدامه في مجموعة متنوعة من التطبيقات الإلكترونية، بما في

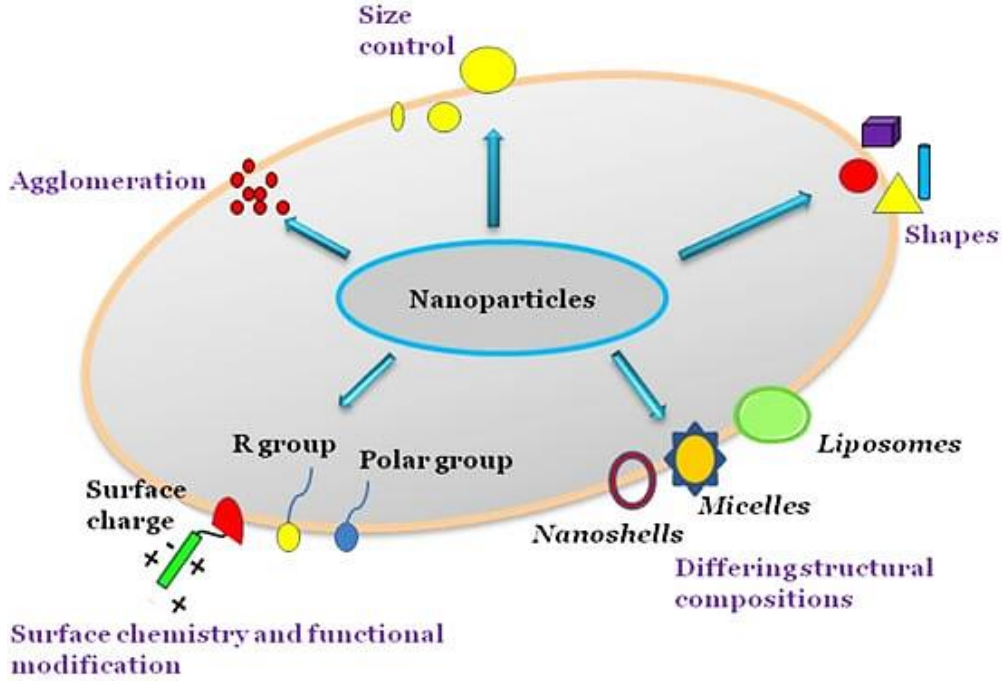
ذلك البطاريات والأقطاب الكهربائية والألواح الشمسية وما إلى ذلك. ويتكون الجرافيت من صفائح مكدسة من الجرافين. الجرافين هو نوع جديد من الكربون يتكون من طبقة واحدة من الذرات مرتبة في ترتيب سداسي على لوح ثنائي الأبعاد. إنه مفيد جدًا كحجر بناء في إنشاء أشكال أخرى من جسيمات الكربون النانوية (Smith *et al.*, 2019). نظرًا لقوته العالية. ان أنابيب الكربون النانوية Carbon nanotubes هي شكل جديد آخر من أشكال الكربون (CNTs). على الرغم من أن الأنابيب النانوية الكربونية والفوليرين fullerenes والجرافين graphene يتم تصنيعها جميعًا بطرق مختلفة، إلا أن خواصها الفيزيائية وخواصها الكيميائية مرتبطة ببعضها البعض. تتمتع الأنابيب النانوية الكربونية والجرافين بإمكانيات كبيرة لمزيد من الدراسة وتظهر واعدة كبديل قابلة للتطبيق في مجموعة واسعة من المجالات. لقد ثبت أن الكربون المنشط ذو امتصاصية ممتازة في مجموعة واسعة من التطبيقات، بما في ذلك الامتزاز، والفصل، وغيرها الكثير (Li *et al.*, 2015).

3-2 الخصائص الفيزيائية والكيميائية للجسيمات النانوية في الطب Physiochemical

Properties of Nanoparticles in Medicine

تمتلك الجسيمات النانوية خصائص مختلفة تسهل السلوك الدوائي بالمقارنة مع الجزيئات الأكبر حجمًا. على هذا النحو، تُبذل جهود كبيرة في الأبحاث التي تتحكم في حجم الجسيمات النانوية وشكلها ومساحة سطحها وكيمياء السطح لزيادة فوائدها للأغراض الطبية. يتم تصنيع الجسيمات النانوية المختلفة مثل سطوح الذهب النانوية gold nanosheets، والجسيمات الشحمية، liposomes والمذيلات micelles بطرق مختلفة، ويمكن التحكم في أحجام وأشكال هذه الجسيمات النانوية أثناء عملية التوليف بناءً على الوظيفة المقصودة. يمكن للجسيمات النانوية أن تتكثرت في جزيئات أكبر حجمًا أثناء عملية التوليف، الأمر الذي قد يعزز أو يكبح السمية الخلوية للجسيمات النانوية اعتمادًا على الحجم. يمكن تعديل كيمياء سطح الجسيمات النانوية عن طريق إضافة مجموعات أو جزيئات تفاعلية مثل الأجسام المضادة إلى الأسطح في أنظمة توصيل الدواء المستهدفة (الشكل 3).

(Khan *et al.*, 2022) جديدة ذات خصائص متقدمة وأيضًا في تصميم الات النانو الجزيئية (Krajina *et al.*, 2018).



الشكل (3) : الخواص الفيزيائية والكيميائية للجسيمات النانوية (Khan *et al.*, 2022)

4-2 الكيمياء السطحية للجسيمات النانوية Surface Chemistry of nanoparticles

تم تحسين خصائص السطح للجسيمات النانوية مثل الذهب النانوي (AuNPs) والحمض النووي (DNA) لتناسب أغراض معينة. تم تعديل سطح كل من AuNP و DNA عن طريق تغليفها بطبقات دهنية، وربط الحمض النووي بالجسيمات الشحمية الكاتيونية بالطريقة الإلكتروستاتيكية. هذا التعديل يسهل نقل الجسيمات إلى الخلية وتحسين امتصاصها السطحي بشكل كبير. بالتالي، يعد الكيمياء السطحية للجسيمات النانوية عاملاً هاماً يحدد تفاعلها ويمكنها في النهاية التحكم في وظيفتها. (Ewert *et al.*, 2016; Chithrani *et al.*, 2010 ;

(Dichello *et al.*, 2017) نظرًا لأن الجسيمات الشحمية والمذيلات تحتوي على طبقات دهنية يمكن أن تتفاعل وتندمج مع غشاء الخلية من خلال تفاعلات كارهة للماء مما يؤدي إلى تحسين الامتصاص، فيمكن استخدامها لتوصيل تركيزات أعلى من الجسيمات النانوية داخل الخلايا. تعد جسيمات السيليكون النانوية (SiNPs) من أشباه الموصلات المهمة التي تستخدم في الإلكترونيات الضوئية، لكن بسبب أنها كارهة للماء فهذه الصفة تعيق

تطبيقها في الطب الحيوي مثل تطبيقات التصوير الداخلي للأنسجة، نظرًا لأن النظام الحيوي مائي وSiNPs غير مستقر في البيئات المائية. لقد وصف (Pan et al., 2013) طريقة لتعديل سطح SiNP عن طريق طلاءه بثاني أكسيد السيليكون (SiO₂) لجعله أكثر محبة للماء مما يسمح بمزيد من التطبيقات المتوافقة حيويًا. تُستخدم جسيمات ZnO النانوية على نطاق واسع في كطبقات واقية من اشعة الشمس، نظرًا لخصائص الحماية من الأشعة فوق البنفسجية، لكن بعض الدراسات أشارت إلى السمية الخلوية المحتملة للجسيمات النانوية مما يجعل تطبيقها في مستحضرات التجميل مثيرًا للقلق. وللحيلولة دون وقوع ذلك، قام بعض الباحثين بتغيير خصائص السطح، وفي الواقع، أظهرت الدراسة أنه من خلال طلاء السطح ZnO بحمض بولي ميثيل أكريليك (PMAA) poly methyl acrylic acid ، تم تقليل السمية الخلوية واحتفظت الجسيمات النانوية بخصائص الحماية من الأشعة فوق البنفسجية (Yin et al., 2010).

5-2 السمية الخلوية للجسيمات النانوية Nanoparticle Cytotoxicity

مع ظهور تقنية النانو وتطبيقها المتزايد في جميع جوانب الحياة اليومية تقريبًا، يأتي القلق بشأن المخاطر المحتملة الناتجة عن زيادة تعرض الإنسان لها. أدت الأبحاث الهامة حول التأثير السام أو سمية التعرض للجسيمات النانوية إلى ظهور مجال علم السموم النانوية. في السنوات الأخيرة، حدد هذا المجال أن خصائص الجسيمات النانوية التي تمنحها السلوك الدوائي المناسب هي المسؤولة أيضًا عن سميتها (Gatoo et al., 2014). بحثت العديد من الدراسات في سمية الجسيمات النانوية المختلفة باستخدام خطوط خلايا مختلفة وظروف تجريبية مختلفة. على سبيل المثال، تبين أن سمية الأنابيب النانوية الكربونية تؤثر على تنوع بكتيريا التربة، (Kerfahi et al., 2015) ، وتمنع نمو برغوث الماء الكبير *Daphnia magna*، واحد انواع الطحالب الخضراء *Chlorella vulgaris*، و اسماك الأرز اليابانية (Sohn et al., 2015). أظهرت نتائج مختلفة أن آلية السمية الخلوية المعتمدة على حجم الجسيمات النانوية ترجع إلى قدرتها على الدخول إلى أنسجة الجسم ومن ثم دخول الخلايا لتعديل الوظائف الخلوية المهمة، وأحدها هو تمزق غشاء الهياكل تحت الخلوية والحث على الإفراط في إنتاج الأوكسجين التفاعلي (Reactive oxygen species (ROS)

(Fu et al., 2014). إن وجود مستويات مرتفعة من أنواع الأوكسجين التفاعلية يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي الذي يؤثر على العمليات الفسيولوجية الطبيعية للخلية مما يؤدي لاحقًا إلى

تلف الحمض النووي، وخلل تنظيم إشارات الخلية، وفي النهاية موت الخلية. غالبًا ما يتم تعديل سطح الجسيمات النانوية لتحسين وظائفها. وهذا قد يؤدي إلى زيادة السمية الخلوية للجسيمات النانوية بسبب تأثير كيميائية سطح الجسيمات النانوية على سميتها المترابطة. ، يمكن للجسيمات النانوية ذات الشقوق السطحية التفاعلية أن تتفاعل مع الجزيئات الحيوية المختلفة داخل الخلايا أو خارج الخلية؛ وبالتالي، تسبب ارباك في العمليات الطبيعية اللازمة للحفاظ على توازن الأنسجة أو الخلايا. على سبيل المثال، تبين أن AuNPs المشحونة أكثر سمية للخلايا مقارنةً بـ AuNPs المحايدة لأنها تحفز مستويات أعلى من الإجهاد التأكسدي مما يؤدي إلى انخفاض وظيفة الميتوكوندريا وزيادة التعبير عن الجينات المرتبطة بتلف الحمض النووي (Schaeublin *et al.*, 2011).

6-2 عنصر الذهب The gold

يعد الذهب واحدًا من أندر العناصر العشرة في القشرة الأرضية بمتوسط تركيز يبلغ 5 نانو جرام ⁻¹ (مادة صلبة)، ويتراوح التركيز من 0.0197 إلى 0.197 ميكروجرام ⁻¹ في المياه الطبيعية (McHugh, 1988).

الذهب عنصر كيميائي رمزه Au وعدده الذري 79؛ وهو بذلك أحد العناصر القليلة ذات العدد الذري المرتفع والمتوفرة طبيعيًا في نفس الوقت. يوجد في الطبيعة على شكل فلز ذي لون أصفر مائل إلى الحمرة، وكثافته مرتفعة، وهو قابل للسحب وللطرق. يصنّف الذهب كيميائيًا من الفلزّات الانتقالية وضمن عناصر المجموعة الحادية عشرة في الجدول الدوري؛ وهو يصنّف أيضاً ضمن الفلزّات النبيلة، فهو لا يتأثر بأغلب الأحماض الشائعة، إلا في الماء الملكي، وهو مزيجٌ من حمض النتريك وحمض الهيدروكلوريك (Devillanova & Du, 2009; Mont, 2013).

بسبب كمية الذهب الهائلة المتواجدة في الطبيعة، كان يُعتبر الذهب في السابق معدنًا غير مثير للاهتمام في المجال البحثي. ومع ذلك، مع تقدم التكنولوجيا النانوية في القرن العشرين، تم اكتشاف خصائص مذهلة للذهب عندما يحضر بابعاد على مستوى النانومتر، مما جعله مادة جديرة بالاهتمام. فالجسيمات النانوية من الذهب تتميز بخصائص فيزيائية وكيميائية وبصرية فريدة، مثل استقرارها الكيميائي وسميتها المنخفضة وسهولة تصنيعها.

الفصل الثاني :- استعراض المراجع

وبفضل هذه الخصائص، أصبحت جسيمات الذهب النانوية موضوعاً رائجاً في الأبحاث العلمية وتطبيقاتها في مجالات متنوعة مثل الطب والعلوم الحيوية. (Kurapov & Bakhtenko, 2018) دراسة (Azad et al., 2020)، أثبتت أن جسيمات الذهب النانوية لها دور هام في حل العديد من المشاكل الرئيسية، ولا سيما في مجال الطب والصيدلة. فقد أصبحت جسيمات الذهب النانوية منصة فعالة لتوصيل الدواء الموجه، حيث يمكن تحميل الدواء على سطحها وتوجيهه نحو الخلايا المستهدفة، مما يزيد من فاعلية العلاج ويقلل من الآثار الجانبية.

بالإضافة إلى ذلك، تستخدم جسيمات الذهب النانوية في التركيبات الدوائية المعززة بنانو الذهب لعلاج الأمراض المستعصية مثل السرطان. حيث يمكن استخدامها في تسليم العلاج بدقة إلى الأورام، وذلك بفضل حجمها الصغير وقدرتها على التراكم في المناطق الورمية وتحفيز الموت الخلوي للخلايا السرطانية وبالإضافة إلى ذلك، تعتبر جسيمات الذهب النانوية فعالة في مكافحة الفطريات والالتهابات والأكسدة، حيث يمكن استخدامها كمواد مضادة للفطريات ومضادة للالتهابات ومضادة للأكسدة. بالإضافة إلى ذلك، تظهر بعض الأبحاث الحديثة أن جسيمات الذهب النانوية قد تكون فعالة في مكافحة السرطان، حيث يمكن استخدامها في تدمير الخلايا السرطانية بشكل انتقائي دون التأثير على الخلايا السليمة المحيطة بالتالي، يمكن القول إن جسيمات الذهب النانوية لها إمكانات كبيرة في مجالات عديدة، خاصة في مجالات الطب والصيدلة، حيث تساهم في حل مشاكل متعددة وتعزز من فعالية العلاج وتقلل من الآثار الجانبية.

جدول (2-1) يوضح الصفات الكيميائية والفيزيائية للذهب

الصفات الكيميائية و الفيزيائية	
Au	الرمز
أصفر فاقع	اللون
79	العدد الذري
197g /mol	الوزن الذري
19.3 g / cm ³	الكثافة
1064.4 °C	نقطة الانصهار
2807 °C	نقطة الغليان
18.88	جاذبية معينة
0.144 nm	نصف قطر فاندروال
7	النظائر المشعة

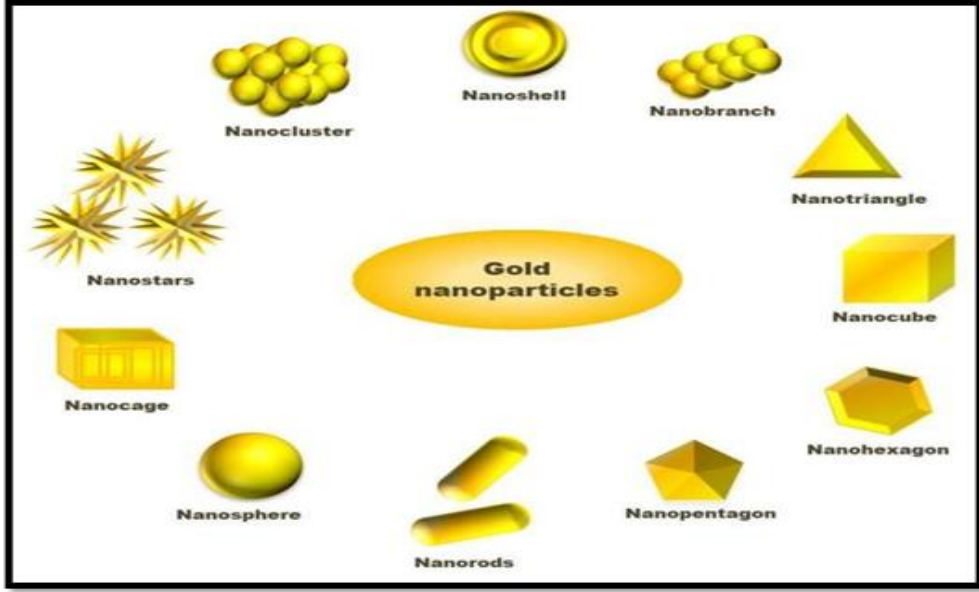
(<http://www.elementalmatter.info/gold-properties.htm>)
2018)

7-2 جسيمات الذهب النانوية Gold nanoparticles

ومن أهم أنواع الجسيمات النانوية المعدنية تلك المكونة من معادن نبيلة مثل الذهب (Au). لقد حظيت AuNPs بقدر كبير من الاهتمام بسبب قدرتها على التفاعل مع الضوء عبر رنين البلازمون السطحي (Surface Plasmon Resonance (SPR). أظهرت التطورات الحديثة في مجال علم النانو أن جزيئات الذهب النانوية (Au NPs) لديها القدرة على تعزيز صفات وقياسات الأجهزة البلازمونية والأجهزة البصرية الأخرى في المستقبل. تم استخدام جزيئات الذهب النانوية (Au NPs) في مجموعة متنوعة من التطبيقات مثل الكيمياء وعلوم المواد والفيزياء والطب وعلوم الحياة، وتتزايد بشكل كبير، نظرًا لخصائصها المتعددة الوظائف في العلاجات والكشف والتصوير وتغيير السطح. تم استخدام الجسيمات النانوية المعدنية مثل الذهب على نطاق واسع كمواد نانوية للتطبيقات العلاجية في علاج السرطان. في مجال الطب الحيوي، يتم استخدامه للفحص الجزيئي الحيوي عالي الحساسية، والإبادة الانتقائية للخلايا السرطانية عن طريق العلاج الحراري الضوئي، وخلايا محددة، ووضع العلامات على البروتينات والتوصيل العلاجي الخلوي (Kalimuthu et al., 2020; Lee et al., 2019; Soloviev, 2012).

ويمكن تصنيع جسيمات الذهب النانوية من النباتات والفطريات والبكتيريا بطرق فيزيائية وكيميائية وحيوية مختلفة وهو مجال أكاديمي نشط وأكثر أهمية (Kalimuthu et al., 2020).

يمكن إنتاج AuNPs بأشكال و احجام متنوعة وفقا لعمليات الانتاج بما في ذلك شكل القضبان النانوية (جزيئات ذهب نانوية على شكل قضبان) والقشرة النانوية هي نوع من الجسيمات النانوية كروية الشكل (جسيمات مغلفة بالذهب) و القفص النانوي وهي عبارة عن جسيمات ذهب مسامية مجوفة (Kumar & Yadav, 2009) شكل (4)



الشكل (4) : يمثل انواع الذهب النانوية (Kumar & Yadav, 2009)

8-2 جسيمات اوكسيد الذهب Gold oxide particles

ان تركيب أوكسيد الذهب الشائع هو Au_2O_3 ولكنه يمكن أيضاً وفي حالات نادرة أن يكون Au_2O أو AuO حسب الظروف وطريقة التحضير. أوكسيد الذهب عادة ما يكون على شكل مسحوق أو حبيبات صلبة. يمكن أن يكون لونه بنيًا أو أحمر يعتبر أوكسيد الذهب عادة نقيًا بنسبة مرتفعة، ويمكن أن تصل درجة النقاوة إلى 99% أو أكثر يعتبر أوكسيد الذهب مادة صلبة غير قابلة للذوبان في الماء. يمتاز بكثافة عالية تتراوح عادة ما بين 7 و 9 جم/سم³. اوكسيد الذهب هو أوكسيد معدني نادر يتحلل مرة أخرى إلى ذهب واوكسجين مع مرور الوقت أو بعد التسخين بسبب عدم استقراره يتفاعل أوكسيد الذهب مع بعض المواد الكيميائية لتكوين مركبات أخرى على سبيل المثال، يتفاعل مع الأحماض لتكوين ملح الذهب، ومع المواد الاختزالية لتحويله إلى ذهب معدني.. (Peter et al ., 1997)

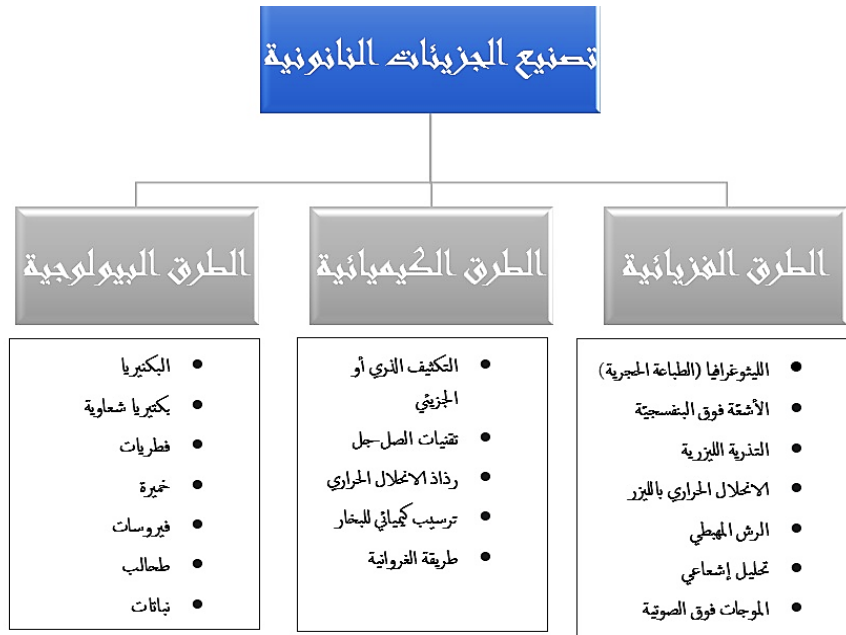
9-2 تصنيع جسيمات الذهب النانوية ومركباته Synthesis of of gold

nanoparticles and its compounds

يتم تصنيع الجسيمات النانوية من خلال مجموعة متنوعة من العمليات الفيزيائية والكيميائية،

تعتبر جزيئات الذهب النانوية ومركباته من أهم الجسيمات النانوية المعدنية المذكورة لما لها من سجل طويل في التطبيقات العلاجية. حيث تعتبر الأكثر شيوعاً في الأبحاث السابقة. منذ عام 1996، تم نشر حوالي 87.000 ورقة بحثية (De Souza et al., 2019). من أجل تصنيع جسيمات الذهب النانوية ومركباته، كما تم تطوير عدد من تقنيات التخليق البيولوجية والفيزيائية والكيميائية المختلفة. شكل (5)

التعرض للبلازما الأوكسجين هو واحد من أكثر الطرق فعالية لإنتاج اوكسيد الذهب النانوية على نطاق الماكرو. يتم ذلك عن طريق معالجة سطح المعدن بواسطة بلازما تحتوي على الأوكسجين. بعد التعرض للبلازما، يتشكل سطح الذهب بشكل محكم على مقياس النانومترات بكميات كبيرة، ويتم اكتشاف وجود أكسيد الذهب الشائع (Au_2O_3) كقاعدة. لوحظ أن عملية الأكسدة الكهروكيميائية يمكن أن تؤدي إلى تكوين أكسيد الذهب ثلاثي التكافؤ (Au^{+3}) أو أقل (Au^{2+} ، Au^{+}). تم استخدام تحليل الطيف السيني X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) بواسطة الإلكترون الضوئي لتحديد الحالة الأكسدة للذهب والأكسيد في منطقة الطاقة. وتعتبر هذه احدى الطرق الكيميائية لتكوين جسيمات اوكسيد الذهب النانوية (Tchaplyguine et al., 2015).

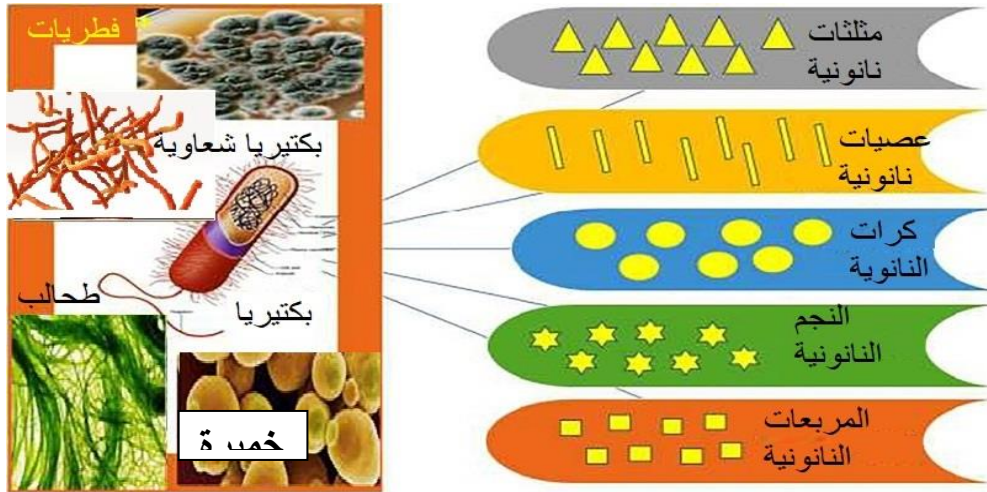


شكل (5): طرق مختلفة لتخليق الجسيمات النانوية (Ghosh et al., 2021)

بالنسبة للطرق الكيميائية والفيزيائية فقد اظهرت العديد من الآثار الجانبية السيئة مثل الحاجة الى الضغط أو درجة الحرارة عالية أو إنتاج مواد سامة وخطيرة كمواد ثانوية. في جانب آخر، فقد أظهر النهج البيولوجي (المعروف أيضًا باسم التصنيع الأخضر أو التصنيع الحيوي) ، نتائج صديقة للبيئة ونظيفة وآمنة (Salem & Fouda, 2021) شكل (6)

10-2 طرق تحضير اوكسيد الذهب synthesis of gold oxide nanoparticles

تحضر مركبات اوكسيد الذهب باستخدام الطرق الفيزيائية والكيميائية ومن اهم هذه الطرق طريقة ترسيب العوالق (deposition precipitation) والتي تكون المركب الوسطي (AuOH₄) والذي يتحلل بدرجات الحرارة العالية (300) درجة مئوية ليكون المركب (Au₂O₃) . وكذلك تستخدم طريقة الهيدروثيرمل والتي تستخدم ضغط وحرارة عاليين جدا" تسلط على كلوريد الذهب (HAuCl₄) للحصول على اوكسيد الذهب . ومن الجدير بالذكر عدم وجود طريقة بايولوجية او حيوية في الادبيات المنشورة لتحضير اوكسيد الذهب النانوية(He & Yang, 2013; Weiher *et al.*, 2003).



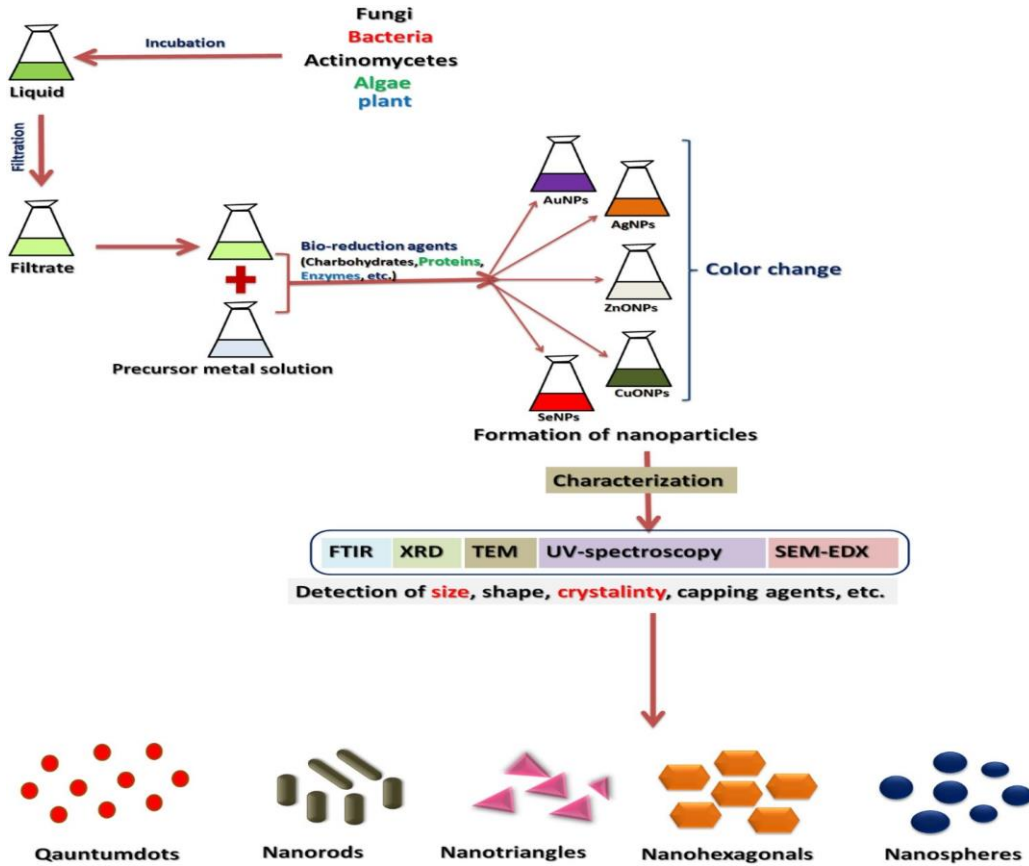
الشكل 6 : جسيمات الذهب النانوية بأشكال مختلفة منتجة من مصادر ميكروبية مختلفة (Menon *et al.*, 2017)

11-2 تصنيع جسيمات الذهب النانوية حيويًا Biosynthesis of gold nanoparticles

الفصل الثاني :- استعراض المراجع

يعد التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية طريقة آمنة وديناميكية وموفرة للطاقة. يشتمل هذا النهج على مجموعة من الموارد الحيوية التي تتراوح من الأيونات الأولية إلى الذرات لتجميع NPs في الجسم الحي. تلعب المستقلبات (البروتينات والأحماض الدهنية والسكريات والإنزيمات والمركبات الفينولية) الموجودة في هذه المصادر دورًا مهمًا في كل من الاختزال الحيوي للأيونات المعدنية إلى NPs واستقرارها. تعد AuNPs المولدة حيويًا أكثر استقرارًا من تلك المولدة باستخدام طرق أخرى. يمكن تصنيع AuNPs بكفاءة من الطرق الكيميائية، ولكن الخطر الرئيسي هو توليد المنتجات الثانوية (المنتج الثانوي) التي تشكل خطراً على صحة الإنسان والبيئة. ولذلك يتم استكشاف طرق جديدة لإنتاج منتجات نانوية آمنة بشكل مكثف من قبل العديد من الأنظمة الحيوية، مثل النباتات والبكتيريا والخمائر والفطريات، لتصنيع AuNPs (Teimouri *et al.*, 2018). شكل (7)

لا يوجد دراسات حاليًا تتحدث عن تصنيع جسيمات أوكسيد الذهب النانوية حيويًا. قد يكون هناك بعض الأبحاث المستقبلية التي تنطبق على هذا الموضوع، ولكن في الوقت الحالي، لا تتوفر معلومات كافية عن هذا الموضوع.



شكل (7) : طرق تكوين الجسيمات النانوية حيويًا (Shaheen *et al.*, 2021).

2-11-1 التوليف الأخضر للمستخلصات النباتية

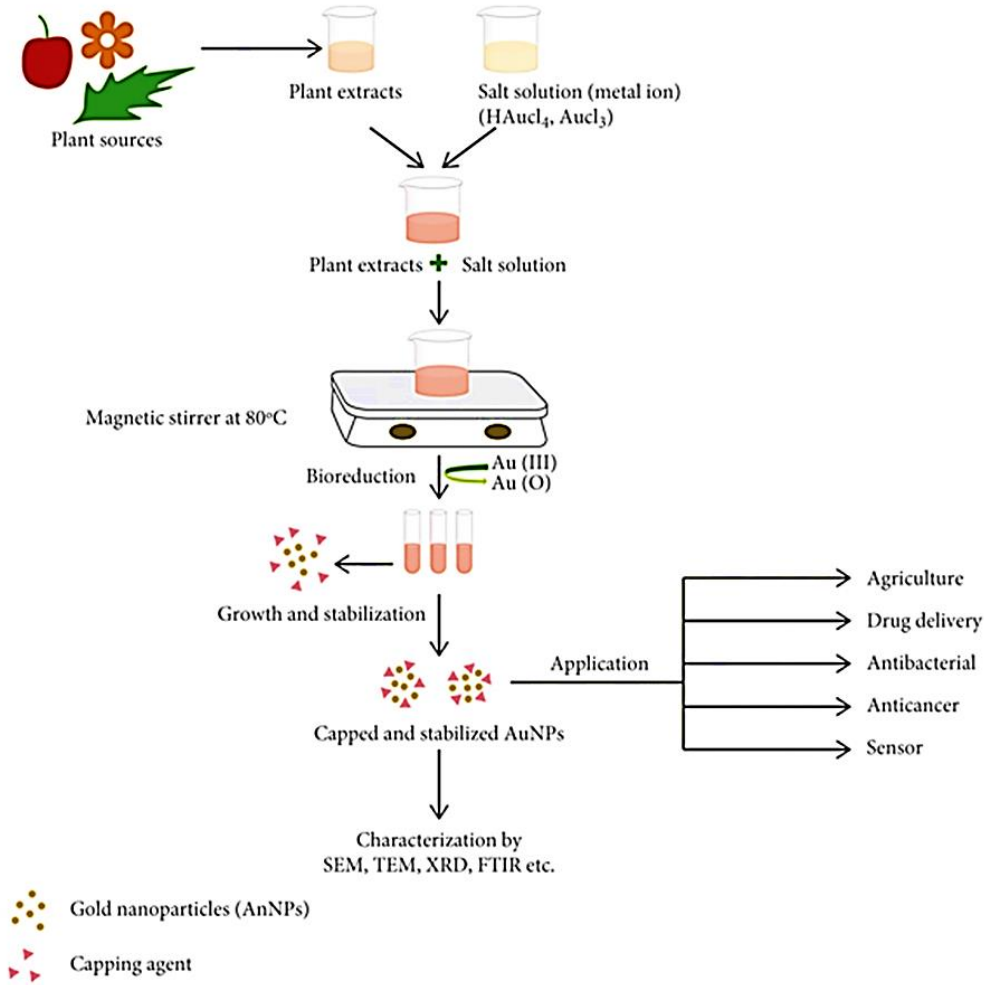
Green synthesis of–AuNPs using plant extract

اذ أن الطبيعة غنية بالموارد الطبيعية التي تتميز بتكلفة منخفضة، وقابلية عالية للتكاثر، وصديقة للبيئة، وعملية تنقية دقيقة مقارنة بالطرق الحيوية الأخرى الصديقة للبيئة. لقد زادت الاهتمام بالمسارات الخضراء مع استخدام المستخلصات النباتية كعوامل اختزال ومثبتات لتحضير جزيئات الذهب النانوية في وقت ليس ببعيد بسبب تعددها (Hammami & Alabdallah, 2021; Qiao & Qi, 2021

2-11-2 الطريقة العامة لتحضير وتصنيع الجسيمات النانوية الذهبية (AuNPs)

باستخدام النباتات AuNP-plant preparation-The general approach

تعتبر طريقة مباشرة تتضمن اختيار أقسام معينة اعتماداً على نوع النباتات. على سبيل المثال، جمع الجزء الجذري من نبات *Euphorbia fischeriana* الذي يستخدم بشكل عام كمضاد للأكسدة، وجزء اللب من *Punicagranatum* كمضاد للميكروبات، والورقة من *noeanum* كمضاد للبكتيريا، وعصير البابايا ك *Sensing L-Lys* اي حساس لـ الليسين (Khatua et al., 2020; Yu et al., 2019; Shahriari et al., 2019 Qiao) (& Qi, 2021). على سبيل المثال، بعد العلاج الكيميائي، تصبح الخلايا السرطانية غير حساسة نتيجة تناول الدواء المتكرر، وتكون الجسيمات النانوية قادرة على زيادة تراكم الأدوية داخل الخلايا بسبب قدرتها على استهداف وتوزيع أدوية أكثر تحديداً (Beik et al., 2019). عوامل ومثبتات. تعد البوليفينول Polyphenols والفلافونويدات flavonoids وتخفيض السكر والسكريات والقلويات والأحماض الأمينية والفيتامينات والكيوتونات والفينولات والبروتينات أمثلة على الجزيئات الحيوية المستخلصة من النبات (Siddiqi & Husen, 2017). يجب دائماً اختيار نبات يحتوي على مادة واحدة على الأقل من المواد الكيميائية المذكورة أعلاه والتي تقلل أيون المعدن إلى معدن عنصري من أجل التخليق الحيوي. أولاً، قم بتقليل (Au^{+3}) إلى Au^0 ، ثم تثبت AuNPs من خلال تغطية السطح الخارجي للذهب لمنع التجميع (Qiao and Qi, 2021). الشكل 8 : التمثيل التخطيطي للتوليف القائم على النباتات من AuNPs



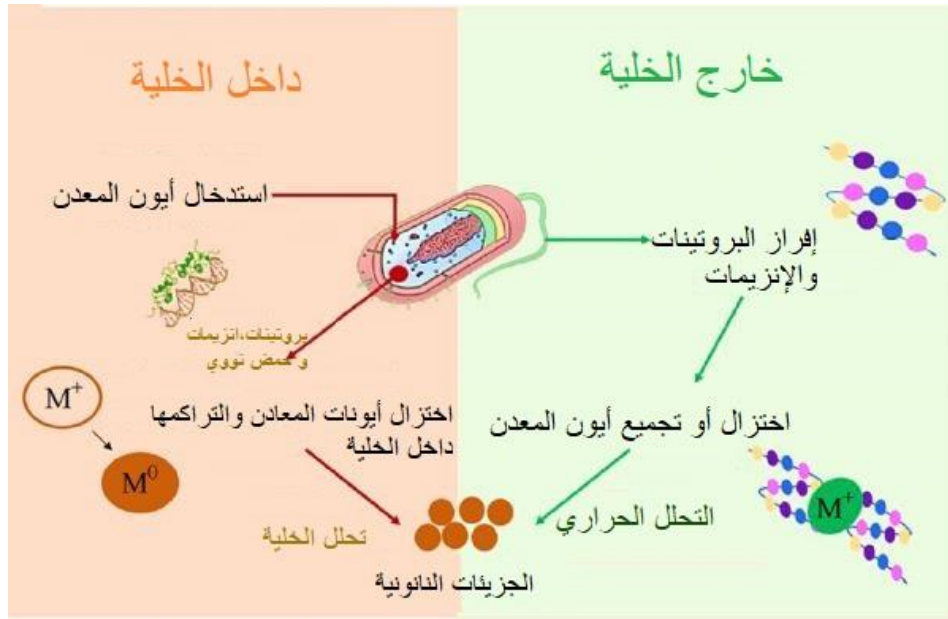
شكل (8) : التوليف الأخضر للجسيمات الذهب النانوية من النبات (Bharadwaj *et al.*, 2021).

3-11-2 التخليق الأخضر لجسيمات الذهب النانوية من البكتيريا

أجرى بيفريدج وموراي Beveridge and Murray أول بحث لهما حول التخليق الحيوي لجسيمات الذهب النانوية (GNPs) باستخدام البكتيريا *Bacillus subtilis* في عام 1980. ومنذ ذلك الحين، تم استخدام مجموعة متنوعة من الكائنات الحية الدقيقة لتخليق مجموعة متنوعة من المعادن، واللافلزات، وأكاسيد المعادن، والجسيمات النانوية ثنائية المعدن. مع المزيد من التطبيقات قيد النظر. لقد كان استخدام البكتيريا البحرية لتصنيع جزيئات الذهب والفضة النانوية نشطاً في السنوات الأخيرة، كما هو الحال مع السلالة البكتيرية الجديدة *Marinobacteralgicola*، التي تم عزلها من المياه البحرية في المحيط الهندي. ، تم اكتشاف أن العديد من البكتيريا، بما في ذلك سلالات *Bacillus*

Gupta) Au NPs الى (Au(iii) قابلة على تقليل (Shewanella و Cupriavidus، قدرة على تقليل (Au(iii) الى Au NPs) Gupta) و (& Padmanabhan, 2018; Liu *et al.*, 2018).

وكذلك اظهرت دراسة اجريت لجزيئات الذهب النانوية المصنعة من قبل بكتيريا ال- Nocardia انها تمتلك نشاطاً ممتازاً ضد الميكروبات ونشاطاً متوسط (كمضاد الاكسدة) (Können-Adıgüzel *et al.*, 2018) اظهرت دراسة اخرى ان جزيئات الذهب النانوية المصنعة من Nocardiosis dassonvillei دوراً في المساعدة لتجديد الخلايا الجذعية المشتقة من (أنسجة اللثة البشرية) (Bennur *et al.*, 2020). شكل (9)



الشكل (9) : التصنيع الأخضر للجسيمات النانوية باستخدام البكتيريا (Bandeira *et al.*, 2020).

4-11-2 التوليف الأخضر لجسيمات AuNPs من الفطريات

بسبب قابلية الفطريات للتوسع والفعالية من حيث التكلفة في النمو الصناعي، يمكن استخدام مستخلصات الفطريات داخل الخلايا أو خارجها لتصنيع الجسيمات النانوية المعدنية. يمكن للفطريات إنتاج جسيمات ذهبية نانوية باستخدام ثلاثة أساليب مختلفة: خارج الخلية، أو التحلل الفطري، أو داخل الخلايا. يتفاوت حجم وتوزيع الفطريات وفقاً للسلالة وظروف التجربة (Molnár *et al.*, 2018). تتمتع الفطريات بميزة على الكائنات الحية الدقيقة الأخرى حيث أنها تستطيع إنتاج عدد كبير من الإنزيمات خارج الخلية القادرة على تحويل الأملاح المعدنية إلى جسيمات نانوية. يمكن أيضاً تحضير الفطريات بسهولة في المختبر

وكذلك على نطاق واسع، حيث يمكن المايسيليوم (Mycelium) أن تتحمل الظروف القاسية في المفاعلات الحيوية. تم العثور على فطريات داخلية بحرية تتعايش مع الطحالب البحرية. تمكن العديد من العلماء من تصنيع جزيئات الذهب النانوية المضادة للأكسدة من *Penicillium citrinum*، وهو فطر داخلي معزول من الأعشاب البحرية *M. phaseolina* (Sargassum wightii) (Joshi *et al.*, 2017). تتمثل ميزة استخدام *M. phaseolina* لإنشاء جسيمات الذهب النانوية في أن نشاط إنزيم الأكسدة أعلى من نشاط الأنواع الفطرية الأخرى، وهو أمر مفيد اقتصاديًا نظرًا لأن هناك حاجة إلى قدر أقل من الإنزيم لتوليد جسيمات الذهب النانوية (Sreedharan *et al.*, 2019).

5-11-2 التوليف الاخضر لجسيمات الذهب النانوية من الطحالب Green synthesis of gold nanoparticles from algae

التخليق الحيوي للجسيمات النانوية من الطحالب هي واحدة من العوامل الحيوية. هناك اهتمام بدراسة تخليق الجسيمات النانوية المعدنية بواسطة الطحالب، مع التركيز على تقييم تأثير ظروف التفاعل، مثل الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة ومعدل التحريك، على الجسيمات النانوية النهائية فيما يتعلق بالحجم والشكل والتركيبة. الاستقرار، (Link & El-Sayed, 1999). استخدمت دراسة الطحالب لاستكشاف إجراءات اختزال الذهب بواسطة الكتلة الحيوية من الطحلب *Chlorella vulgaris* من محلول كلوريد الذهب (III) (Watkins *et al.*, 1987). ذكرت دراسة أخرى أنه تم استخدام طحلب بحري

يُسمى *Sargassum wightii* أيضًا في إنتاج جسيمات الذهب النانوية (GNPs) (Kuyucak & Volesky, 1989) وفقًا لدراسة أخرى أيضا، بينت أن مجموعات الهيدروكسيل من أنيونات السكريات hydroxyl groups of saccharide أو الكربوكسيلات carboxylates anions من بقايا الأحماض الأمينية من طبقات الببتيدوغليكان على جدران الخلايا هي موقع ربط الذهب (S. Lin *et al.*, 2005).

12-2 تطبيقات جسيمات الذهب النانوية ومركباتها Applications of gold nanoparticles and their compounds

تشجع إنتاج المواد النانوية غير العضوية أو المعدنية على إنشاء صناعة جديدة تجمع خبراء من عدة قطاعات للبحث عن نوع جديد من الجسيمات النانوية ذات خصائص مميزة.

يُعدُّ تطوير أو تصميم عمليات إبداعية أو فعالة من حيث التكلفة لتوسيع نطاق تصنيع المواد النانوية موضوعًا مثيرًا للاهتمام للبحث، وسيعالج أيضًا الاحتياجات البشرية المستقبلية مثل الصحة والسلامة والمخاوف البيئية. تُستخدم المواد النانوية بسرعة في الصناعة ومن المتوقع أن تحل قريبًا محل الاستخدام الكيميائي الخطير أو السام. يُعدُّ استخدام الجسيمات النانوية أو المركبات النانوية خيارًا أكثر أمانًا نسبيًا، مما يفتح مجالات جديدة للأبحاث المضادة للبكتيريا. استُخدم الذهب قديمًا في الثقافات المختلفة مثل الهند أو الصين أو مصر لعلاج أمراض مثل الجدري أو الزهري أو تقرحات الجلد أو الحصبة (Sau et al., 2018). شكل (10).



الشكل (10) : تطبيقات متعددة الوظائف لجسيمات الذهب النانوية. (Santhosh et al., 2022)

1- علاج مضاد للسرطان Anticancer therapy

يعد السرطان أحد أكبر المشاكل الصحية الحرجة في العالم، وهو السبب الرئيسي للوفيات (Dykman & Khlebtsov, 2019). تطورات الطب النانوي الكبيرة قادت إلى اكتشاف وعلاج السرطان. نظرًا للسمية المنخفضة للجسيمات النانوية الفضية (AgNPs)

مقارنةً بالجسيمات المعدنية الأخرى، فقد أظهرت تفضيلاً في التطبيقات الطبية، وذلك بفضل سميتها المنخفضة. وأظهرت أيضًا جسيمات الذهب النانوية استخدامات تشخيصية وعلاجية متميزة، مثل أجهزة الاستشعار الحيوي وتوصيل الأدوية المضادة للسرطان بشكل مستهدف واختبارات الامتصاص المناعي المرتبط بالإنزيم. تتمتع جسيمات الذهب النانوية (AuNPs) بخصائص امتصاص وتشتت متزايدة وقابلية بصرية، وتظهر كفاءة محددة في استهداف الأورام (نشاط مضاد للسرطان) لعلاج مرضى السرطان. من خلال تقنيات التخليق الكيميائي، يمكن تصنيع AuNPs بأشكال وأحجام متنوعة تتمتع بخصائص مرغوبة تمكنها من تقديم علاج متعدد الوسائط للسرطان مع نشاط ممتد مضاد للورم. تتكون جسيمات الذهب النانوية nano-shells من كرات صغيرة مغطاة بطبقة رقيقة من الذهب النانوي. يتم حقنها داخل الجسم وتجميعها في الورم، ثم يتم تسليط أشعة تحت الحمراء على منطقة الورم بحيث تمر هذه الأشعة بأمان عبر الأنسجة السليمة، ولكن تسخن فذائف الذهب النانوية وترتفع درجة حرارتها. حيث يتم قتل الورم دون الإضرار بالخلايا السليمة، مع الحد الأدنى من الآثار الجانبية (Soliman *et al.*, 2020). وقد أظهرت الدراسات العلمية أن AuNPs يمكن استخدامها بنجاح في علاج السرطان. على سبيل المثال، يمكن استخدامها في العلاج الكيميائي الإشعاعي Chemo-Radio-Therapy (CRT) ، حيث يتم تحميل الدواء الكيميائي على سطح AuNPs وتوصيل إلى الأورام المستهدفة. يمكن استخدام AuNPs لتحسين تأثير الإشعاع على الأورام، حيث يمكن أن تعمل كمادة معززة لامتصاص الإشعاع. وفي العلاج الكيميائي الحراري الإشعاعي (Thermo-Chemo-Radio-TCRT) Therapy ، يمكن استخدام AuNPs لتحقيق تأثيرات متعددة، حيث يمكن أن تعمل كمادة معززة للإشعاع وتساهم في تسخين الأورام وتوصيل العقاقير الكيميائية. أخيرًا، في العلاج الجيني Gene Therapy (GT) ، يمكن استخدام AuNPs لتسليم الجينات المعدلة وراثيًا إلى الخلايا السرطانية، مما يسمح بتعديل وظيفة الجينات ومنع نمو الأورام (Deymehkar *et al.*, 2018). أي أنه، يمكن أن تلعب AuNPs دورًا هامًا في علاج السرطان من خلال تحسين تأثيرات العلاج التقليدية وتوصيل الأدوية بشكل مستهدف وتحسين الحالة العلاجية للمرضى المصابين بالسرطان. ومع ذلك، لا يزال هناك حاجة لمزيد من الأبحاث لتحديد الآليات الدقيقة لتأثير AuNPs على السرطان وتحسين استخدامها في العلاج السرطاني. (Singh *et al.*, 2018).

2- توصيل الدواء Drug delivery

يشير هذا المصطلح إلى عملية نقل الدواء إلى الموقع المستهدف في الجسم للحصول على تأثير علاجي محدد. تتضمن تقنيات توصيل الدواء استخدام مختلف الأنظمة والأساليب لتوجيهه وتحرير الدواء بشكل محكم إلى الأعضاء أو الأنسجة المستهدفة. يهدف توصيل الدواء إلى زيادة فعالية الدواء وتقليل الآثار الجانبية وتحسين التوافر الحيوي للدواء في الجسم. إن التوصيل الدقيق للمركبات النانوية إلى الأنسجة المريضة، ومراقبة معدل ومساحة إطلاق الأدوية، وتعزيز التوافر الحيوي للأدوية في موقع الهدف، وتحسين قابلية ذوبان الدواء واستقراره، هي بعض من الميزات الجذابة للدواء عن طريق استخدام الجسيمات النانوية التي تقلل معدل الوفيات. تم استخدام الجسيمات الشحمية والبوليمرات والتشعبات والجسيمات النانوية المعدنية في الطب، لكن AuNPs لها خصائص استثنائية تجعلها هيكل الدواء المثالية لتوصيل الدواء. تتميز AuNPs بسهولة التحضير، وهي خاملة حيويًا، وغير سامة، مما يجعلها مناسبة لبناء حاملات النانو.

تسمح قابلية التصنيع لـ AuNPs بتطوير جزيئات ذات أقطار أساسية مختلفة وقوة كاملة على تشتت الحجم. على سبيل المثال، بعد العلاج الكيميائي، تصبح الخلايا السرطانية غير حساسة نتيجة لتكرار تناول الدواء، وتكون الجسيمات النانوية قادرة على زيادة تراكم الأدوية داخل الخلايا بسبب قدرتها على استهداف وتوزيع أدوية أكثر تحديدًا. تساعد فحوصات AuNP المرتبطة بالدوكسوروبيسين (DOX) Doxorubicin في تجميع الأدوية والاحتفاظ بها في (سرطان MCF-7 / ADR المقاوم للأدوية المتعددة). ونتيجة لذلك، يؤدي تركيز DOX المعزز داخل الخلايا إلى سمية خلوية متفوقة في الخلايا عند مقارنتها بالدوكسوروبيسين الحر (Beik et al., 2019).

3- جهاز الاستشعار النانوي والمؤشر الحيوي Nano-sensor and biomarker

من المهم حساب مستوى الإشعاع المؤين للإشعاع العلاجي، والذي يعتمد على قياسات إشعاعية دقيقة وسريعة. تم إنشاء مستشعر نانو جديد وحساس للغاية للكشف عن أشعة غاما، حيث تعمل أجزاء الحمض النووي المفردة بمثابة "بيانات حساسة للإشعاع" وتعمل جزيئات الذهب النانوية بمثابة "مراسل الإشارة". في ظل الظروف المثالية، يتمتع مستشعر النانو

الإشعاعي بخطية متميزة في مقياس الجرعة من 0 إلى 100 gray. نهج سريع وفعال يوفر مسارًا مختلفًا لـ "مقياس الجرعات" من أشعة جاما، وهو أداة تستخدم لحساب الجرعة الممتصة -من الإشعاع المؤين ويمكن أن يكون له آثار على العواقب الحيوية الناجمة عن الإشعاع، مثل كارثة تشيرنوبيل (Wang *et al.*, 2020). الجزيئات الصغيرة من MicroRNAs miRNAs عبارة عن جزيئات RNA تنظيمية صغيرة غير مشفرة تحتوي على 19 إلى 22 نيوكليوتيدات. ويمكن استخدامه كعلامة حيوية بسبب ميزاته الممتازة للكشف المبكر عن الأمراض، ويمكن اكتشافه في مجموعة متنوعة من إفرازات الجسم والعينات المجمعة. على سبيل المثال، قد تساعد دراسة التعبير عن miRNAs الكلوي في الكشف المبكر عن السبب الرئيسي للفشل الكلوي (اعتلال الكلية السكري) (Khan *et al.*, 2015). ولم يتم توثيق أي دور سواء في السمنة (Alshammary & Khan, 2021) أو مرض السكري من النوع الثاني (Alharbi *et al.*, 2021). ومع ذلك، نظرًا لخصائصها الفريدة أو كمياتها المنخفضة، فمن الصعب للغاية تحديدها. يؤدي استخدام جزيئات الذهب النانوية المشحونة إيجابيًا إلى تحسين أداء أجهزة الاستشعار الحيوية لـ miRNA بشكل كبير (Gauglitz, 2020; Hong *et al.*, 2018; Miao *et al.*, 2018; Nossier *et al.*, 2020). حيث يعد الاستخدام اللوني لـ AuNPs في الاستشعار أحد أكثر الأساليب التحليلية الواعدة للتعرف على التحاليل واكتشاف الجزيئات الحيوية مثل الأحماض الأمينية والبيبتيدات والبروتينات والأحماض النووية والأيونات غير العضوية والإنزيمات. الآلية الرئيسية هي أنه على الرغم من أن الأطوال بين الجسيمات المضادة أصغر من متوسط قطر AuNPs، إلا أن اللون يتغير من الأحمر إلى الأزرق، وهو ما يمكن اكتشافه بسهولة من خلال العين المجردة. يمكن تقسيم المسار المضاف إلى أجهزة الاستشعار إلى استراتيجيتين: التغيير الأحمر والتحول الأزرق في الامتصاص، مما يؤدي إلى تجميع وتفكيك AuNP. ويمكن استخدام مقياس الطيف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية لتسجيل النتائج (Qin *et al.*, 2018).

4- عوامل مضادة للميكروبات Antimicrobial agents

من الممكن أن يوفر استخدام جزيئات الذهب النانوية كعوامل جديدة مضادة للبكتيريا بديلاً قابلاً للتطبيق للطرق الحالية لقتل أو تثبيط نمو العديد من الأنواع المسببة للأمراض. كان من المتوقع أن يكون لجزيئات الذهب النانوية التي تم تصنيعها بمساعدة مستخلص أوراق Solanum nigrum تأثير على الجذور الحرة بالإضافة إلى عوامل ثابتة مضادة

للبيكتيريا، وهو ما تم تحقيقه. وقد تم إثبات قدرات الكسح الجذري والهيدروكسيل لهذه الجسيمات النانوية. كما قامت هذه الجسيمات النانوية أيضًا بقمع نمو المكورات العنقودية المترمة *Staphylococcus saprophyticus* المسببة للأمراض والعصيات (*Bacillus subtilis*) (البيكتيريا إيجابية الجرام)، وكذلك *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* (البيكتيريا سالبة الجرام) (Muthuvel *et al.*, 2014). تم إجراء دراسة للفعالية المضادة للبيكتيريا لمستخلص جذع نبات الكركديه بوساطة جزيئات الذهب النانوية ضد *P. aeruginosa* و *Staphylococcus aureus*. كان التأثير المضاد للبيكتيريا أقوى في حالة *P. aeruginosa*، والذي قد يكون بسبب التفاعل الكهروستاتيكي بين الجسيمات النانوية المشحونة بشكل إيجابي وأسطح الخلايا الميكروبية المشحونة سالبًا (Bindhu *et al.*, 2014) الفعالية المضادة للبيكتيريا لجسيمات الذهب النانوية الخضراء المصنعة المشتقة من مستخلص أوراق نبات *Euphorbia hirta* ضد السلالات البكتيرية لبيكتيريا الإشريكية القولونية. كانت ذات تأثير مثبت (Annamalai *et al.*, 2013)

13-2 بكتيريا النوكارديا *Nocardia*

1-13-2 تصنيف بكتريا النوكارديا *Nocardia*

بكتريا النوكارديا عبارة عن عصية شعاعية هوائية ، موجبة لفحص الكاتاليز ، وموجبة صبغة كرام مع شكل خيطي متفرع تم وصفها اول مرة في عام 1888م من قبل إدموند نوкарدي (Fatahi-Bafghi, 2018) توجد النوكارديا في جميع انحاء العالم في عدد لا يحصى من البيئات (Wilson, 2012) توجد النوكارديا في المياه العذبة و المياه المالحة و الغبار و التربة و النباتات المتحللة و المواد العضوية المتحللة (Brown-Elliott *et al.*, 2006). تحتوي النوكارديا على حوالي 85 نوع (Ray *et al.*, 2004) تم تسمية هذا الجنس من البكتريا على اسم اول عالم قام باكتشافها ادموند نوкарدي الذي وصف عزلها في عام 1888م لأول مرة من ماشية مصابة بمرض الرعام البقري (Lafont *et al.*, 2020) والتي لاحقا تم اكتشاف اول حالة اصابة مرضية بواسطة بكتيريا النوكارديا في عام 1890م (Corti & Fioti, 2003) وفي وقت لاحق تم تصنيف هذه البكتيريا على انها بكتيريا بيئية مهمة وذلك بسبب كونها موجودة عالمياً في التربة والنباتات المتحللة و المياه (Brown-Elliott *et al.*, 2006).

2-13-2 عزل بكتيريا النوكارديا من التربة

تعتبر التربة المستودع الرئيسي للنوكارديا و معظم البكتيريا الشعاعية بما في ذلك النوكارديا، و *Corynebacterium* ، و *Propionibacter* ، و *Streptomyces*، و *Micromonospora*، و *Frankia* هي سكان التربة ومسؤولة عن رائحة التربة الرطبة بسبب إنتاج مواد تسمى *Geosmins* (Todar, 2011)

تعتبر التربة بيئة أساسية لبكتيريا النوكارديا، حيث تتواجد هذه البكتيريا بكميات كبيرة في الأجزاء العلوية القليلة من التربة. تنتج النوكارديا مضادات حيوية في التربة ، مما يؤدي إلى تأثير تنافسي يؤثر على أعداد متنوعة من التربة (Sykes & Skinner, 1973).

يمكن عزل بعض أنواع بكتيريا النوكارديا من التربة في مختلف المناطق. على سبيل المثال، تم عزل أنواع مثل و *N.brasiliensis* من التربة السودانية (Ajello et al., 1979) وتم عزل أنواع من التربة في إيطاليا لأول مرة، مثل *N. Globoerula* (Padoley et al., 2009) كما تم اكتشاف أنواع جديدة في عدة مناطق، مثل *N. iowensis* من تربة الحديقة في الولايات المتحدة الأمريكية (Lamm et al., 2009)، و *N. xishanensis* من التربة في جبل Xishan في الصين (Zhang et al., 2004) و *N.lijiangensis* من التربة في ليجيانغ، يونان في الصين (Z. Lin et al., 2005)، و *N.polyresistence* من التربة في اليونان، الصين، و *N.acidivorans* من التربة.

كذلك تتواجد النوكارديا في التربة التي تحتوي على نسبة عالية من المواد العضوية والمياه العذبة والبحرية والهواء والغبار والمواد النباتية المتحللة (Forbes et al., 2007) يمكن أن يتواجد أيضًا في حمامات السباحة والرمال

(McNeil & Brown, 1994). إن القدرة على عزل هذه البكتيريا والتشخيص من مواطنها الطبيعية مهمة من أجل فهم دورها البيئي ، وتقييم المخاطر الصحية التي قد تمثلها، وتحديد السلالات المفيدة التي تنتج المستقلبات الجديدة النشطة حيويًا (Yamamura et al., 2003). ولكن وجود عوامل مختلفة مثل درجة الحموضة ونوع التربة والمناخ درجة الحرارة والرطوبة وعوامل أخرى يمكنها التأثير على وجود أنواع النوكارديا المعزولة من التربة في المناطق المختلفة (Martinaud et al., 2011)

(Khan *et al.*, 2000). وبالتالي هذا يزيد صعوبة القدرة على عزل هذه البكتيريا من التربة وبالرغم من ذلك تم ايجاد طرق مختلفة لعزل بكتيريا النوكارديا من التربة على سبيل المثال: طريقة paraffin technique (Rasouli-Nasab *et al.*, 2017)، و السكروز - التدرج الطرد المركزي -sucrose gradient (Yamamura *et al.*, 2003) centrifugation او باستخدام انواع مختلفة من الاوساط الغذائية المصممة لزراعة هذه البكتيريا مثل حمض هيومك فيتامين humic acid (Hayakawa & Nonomura, 1987) vitamin B او وسط الجلوتين (Wauters *et al.*, 2005) او الاوساط التقليدية مثل وسط الغذائي المكون فقط من الدم (Singh *et al.*, 1987).

3-13-2 دور بكتيريا النوكارديا في الطب الحيوي

على الرغم من عزل بعض الانواع من العينات السريرية و الالتهابات الحيوانية كمرضات انتهازية في بيئة التربة , لكن بعض انواع بكتيريا النوكارديا يبدو انه يلعب دوراً مهماً ككائنات رمية اي (كائنات تحلل المواد الميتة) في دوران المواد العضوية التي تحدث بشكل طبيعي (Goodfellow, 1992) لكن في الاونة الاخيرة تم الاهتمام بانواع اخرى مختلفة من بكتيريا النوكارديا وذلك بسبب انها تعتبر كمصدر للمواد النشطة بايولوجيا متنوعة ذات القيمة العلاجية (Dhakai & Sohng, 2015; Luo *et al.*, 2014) ومن الامثلة على هذه المواد النشطة بايولوجيا هو المضاد الحيوي مثل Nocardicine (Aoki *et al.*, 1976)

و Brasilinolide (Tanaka *et al.*, 1997) بالاضافة الى ما سبق فقد تم استخدامها في عملية التحول الحيوي اي تقنية التحول الحيوي للخلايا الكاملة لمركبات نشطة حيوياً او منتجات صناعية الى مركبات كيميائية ذات قيمة (Dhakai *et al.*, 2019)

14-2 السرطان The Cancer

السرطان هو مرض عالمي يسبب مشاكل صحية خطيرة ويؤدي إلى الوفيات. يعتبر السرطان تحولاً خبيثاً في الخلايا، حيث تنمو وتتكاثر هذه الخلايا بشكل غير طبيعي وغير مضبوط. قد يؤثر السرطان على أجزاء مختلفة من الجسم ويشمل أنواعاً مختلفة مثل سرطان الثدي، وسرطان الرئة، وسرطان الجلد، وسرطان القولون والمستقيم، يتطلب علاج السرطان جهوداً متعددة من قبل الفرق الطبية المتخصصة والباحثين في مجال العلوم الطبية. تتضمن

خيارات العلاج الشائعة للسرطان العملية الجراحية والعلاج الإشعاعي والعلاج الكيميائي والعلاج المستهدف والعقاقير المبتكرة (Vos et al., 2017) وفقاً للدراسات العلمية، فإنه تسبب وفاة 8.8 مليون شخص في عام 2015, 2020 (Sung et al., 2021) وتقريباً 10 ملايين شخص في عام رغم أن السبب الرئيسي لحدوث السرطان هو الطفرات في الحمض النووي، إلا أن هناك عاملين رئيسيين آخرين يسهمان في حدوثه. العامل الأول هو العامل الوراثي والصفات المنقولة وراثياً، ويقدر أن نسبته تتراوح بين 5-10٪ يعني أن هناك بعض الأشخاص يكونون أكثر عرضة للإصابة بالسرطان نتيجة وراثتهم لبعض الصفات التي تزيد احتمالية حدوث السرطان لديهم والعامل الثاني هو عوامل البيئة، والتي تشمل التعرض للمواد المسرطنة أو مزيج من العوامل المسببة للسرطان يقدر أن نسبة هذا العامل تتراوح بين 90-95٪ وتشمل هذه العوامل التدخين، والتعرض للأشعة فوق البنفسجية الضارة، والتلوث البيئي، وسوء التغذية، والعوامل المهنية الضارة وغيرها. تعد هذه العوامل مسببات رئيسية للسرطان وتزيد من احتمالية حدوثه (Wu et al., 2018; Rao et al., 2017)

1-14-2 سرطان الثدي The Breast cancer

سرطان الثدي هو نوع من أنواع السرطان الذي يبدأ في الخلايا الباطنة للثدي. أو ينتشر إلى الغدد الليمفاوية الإبطية. (Tufail et al., 2022) عادةً ما يتطور سرطان الثدي في القنوات والفصوص في الثدي، أو في أماكن أخرى داخله (Feng et al., 2018). السبب الرئيسي للوفاة من سرطان الثدي هو انتشار الخلايا السرطانية إلى أماكن بعيدة في الجسم، ويسمى هذا الانتشار بالانتشار العابر وهو عملية انتقال الخلايا السرطانية من الورم الأصلي إلى أماكن أخرى في الجسم. يحدث الانتشار عن طريق دخول الخلايا السرطانية إلى الدم أو اللمف وتنتقل إلى أجزاء أخرى من الجسم بعيداً عن موقع الورم الأصلي. عندما تصل الخلايا السرطانية إلى منطقة جديدة، فإنها قد تتشكل في أورام ثانوية تعرف بالأورام الناتجة عن الانتشار. يمكن أن يؤدي الانتشار إلى تفاقم الحالة وزيادة صعوبة علاج السرطان. (Riggio et al., 2021). سرطان الثدي يعتبر الأكثر شيوعاً ويصيب الجنسين على حد سواء. بين النساء في جميع أنحاء العالم، يعتبر سرطان الثدي السبب الثاني للوفاة المرتبطة بالسرطان (Waks & Winer, 2019).

عوامل الخطر الرئيسية لسرطان الثدي تشمل:-

التقدم في السن وارتفاع مؤشر كتلة الجسم أو السمنة التعرض للتبغ حيث ان التدخين يرتبط أيضاً بزيادة خطر سرطان الثدي و الخمول البدني اي عدم ممارسة النشاط البدني الكافي و اتباع نظام غذائي غني بالدهون تناول كميات كبيرة من الدهون في الغذاء بداية الحيض في سن مبكرة وتأخر سن الحمل الأول و فترات الرضاعة (Zhang et al., 2020) الطبيعية القصيرة استخدام انقطاع الطمث الهرموني و التاريخ العائلي لسرطان الثدي

2-14-2 سرطان الكبد Liver Cancer

سرطان الكبد هو السبب الرئيسي الرابع للوفيات المرتبطة بالسرطان في جميع أنحاء

العالم (Bray et al., 2018) يتزايد معدلات الإصابة والوفيات بشكل كبير (Rahib et al., 2014) وتشير التقديرات إلى أنه بحلول عام 2025، سيتأثر أكثر من مليون شخص بسرطان الكبد الأولي سنويًا، مما يشكل خطرًا كبيرًا وتحديًا صحيًا خطيرًا وعبئًا مجتمعيًا (Ferlay et al., 2019). الأنواع الأكثر شيوعًا من سرطان الكبد الأولي هي سرطان الخلايا الكبدية (HCC) Hepatocellular carcinoma ، والذي يمثل ما يصل إلى 90٪ من جميع الحالات، وسرطان القنوات الصفراوية (CCA) Bile duct cancer ، والذي يمثل 10-15٪. يعتبر التشخيص المبكر وتطوير العلاجات أمرًا صعبًا في حالة سرطان الكبد. (DeOliveira et al., 2007) عوامل الخطر الشائعة لتطور سرطان الكبد تشمل:

العدوى المزمنة بفيروس التهاب الكبد الوبائي (HBV) hepatitis B virus

hepatitis C virus (HCV) وفيروس التهاب الكبد الوبائي (Akinyemiju et al., 2017)

(HCV)، تعتبر العدوى بفيروسات التهاب الكبد من أهم العوامل المسببة لسرطان الكبد. ومع ذلك، فقد تم انخفاض تواتر هذه العدوى بشكل كبير بفضل برامج التطعيم الناجحة والأدوية المضادة للفيروسات (Kanwal et al., 2017). يعتبر تعاطي الكحول بكميات كبيرة ولفترة طويلة من العوامل المرتبطة بزيادة خطر الإصابة بسرطان الكبد (Bray et al., 2018). و

الأمراض الاستقلابية والأمراض المزمنة: تشمل مرض الكبد الدهني غير الكحولي

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). (Estes et al., 2018)

ومرض السكري والسمنة. هذه الأمراض قد تزيد من احتمالية تطور سرطان الكبد. و

التعرض للأفلاتوكسين: aflatoxin ، وهو مادة سامة توجد في بعض الأطعمة

الملوثة (Bray et al., 2018)، و التهاب القنوات الصفراوية المزمن و لأسباب الكامنة:

بعض الأسباب الكامنة مثل التهاب الأقفنية الصفراوية المصلب الأولي (PSC) Primary sclerosing cholangitis ، والركود الصفراوي، والحصوات الصفراوية، والإصابة بالديدان الكبدية (Banales *et al.*, 2020)

15-2 علاج السرطان Treatment of cancer

تضمن علاج السرطان الجراحة والعلاج الإشعاعي والعلاج المناعي والعلاج الكيميائي. يُستخدم العلاج الكيميائي في أكثر من 50% من حالات السرطان كعلاج قياسي (Wu *et al.*, 2017). ومع ذلك، لديه بعض العيوب مثل انخفاض فعالية توصيل الدواء المستهدف إلى الخلايا السرطانية والتأثير على الخلايا السليمة (Cheung-Ong *et al.*, 2013)، مما يؤدي إلى آثار جانبية مثل التعب وفقدان الشعر والغثيان والقيء والالتهابات. يتم استخدام جرعات أعلى لتحقيق تركيز الدواء المطلوب في الخلايا السرطانية، مما يزيد من الآثار الجانبية (Carrere, 2017). بالإضافة إلى ذلك، يمكن أن يحدث مقاومة للدواء، مما يؤدي إلى تكرار المرض. لذلك، يُجرى البحث لتحسين علاج السرطان من خلال تطوير نظم توصيل مستهدفة للدواء، التي يمكنها توجيه الدواء إلى الورم وتقليل الآثار الجانبية على الأنسجة السليمة. الناقلات المغناطيسية يمكن أن تكون طريقة فعالة لتحقيق ذلك وتطوير أنظمة ذكية لتوصيل العلاج الشخصي. (Ardelean *et al.*, 2019).

1-15-2 علاج السرطان وتقنية النانو Cancer treatment and nanotechnology

تم تعريف طب النانو بأنه استخدام تكنولوجيا النانو في علاج وتشخيص ورصد النظم البيولوجية. يركز العلماء على البحث عن طرق لتوصيل واستهداف العوامل الصيدلانية والعلاجية والتشخيصية باستخدام تقنية النانو. وقد تطور طب النانو في مجال علاج السرطان ليسمح بتحديد أهداف دقيقة لحالات سريرية محددة واختيار الأدوية المناسبة للأنظمة النانوية لتحقيق الاستجابة المطلوبة وتقليل الآثار الجانبية للأدوية المضادة للسرطان هذا التطور يعني أن منهجيات تكنولوجيا النانو وطب النانو تم تصميمها وتوسيعها لصالح البشرية، مما يساهم في تحسين فعالية وسلامة علاج السرطان. هذا العمل يعتبر جزءًا












من الجهود المستمرة التي تُبذل لتطوير تقنيات العلاج وتحقيق تقدم في مجال مكافحة السرطان (Spoială et al., 2023)

لقد أظهرت الأبحاث في مجال تقنية النانو أنه يمكن تصميم تركيبات دوائية مختلفة تحسن من تأثيرات التشخيص والعلاج، ويمكن تحويلها إلى أدوية نانوية أحادية. يتطلب تكوين تركيبات الأدوية النانوية مجموعة من الخصائص المحسنة. على سبيل المثال، يمكن أن يكون جوهرها جزيئات عضوية أو غير عضوية، ويعتمد الاختيار على الاستخدام المقصود للتركيبية. يمكن تحسين (Revia & Zhang, 2016) الخصائص المرغوبة مثل الشحن السطحي والحجم القابل للتعديل والقابلية للذوبان في الماء

تعزز عملية تغليف الأدوية التقليدية داخل الجسيمات النانوية (NPs) من العديد من المزايا. فعند تغليف الأدوية داخل NPs، يتم زيادة نصف عمر الدواء وتحسين الامتصاص عبر غشاء الخلية، بالإضافة إلى الإفراج المتحكم فيه للمواد العلاجية في الموقع المستهدف. وبفضل الحجم الصغير والطلاء المميز لـ NPs، يمكنها حمل الأدوية المضادة للسرطان التي تكون كارهة للماء وتوصيلها بسهولة إلى الموقع المستهدف في الجسم، مما يقلل من تعديلها بواسطة الجهاز المناعي. بالإضافة إلى ذلك، توفر الجسيمات النانوية أدوات علاجية تحسن من فعالية العلاج لسلاسل البكتيريا المقاومة للأدوية. تُصنع الجسيمات النانوية المختلفة من مواد مثل الفضة (Ag) أو الذهب (Au)، ومواد أخرى مثل السيليكا (SiO₂) والفوليرين والنقاط الكمومية وأنابيب الكربون النانوية (CNTs)، وقد تم تطوير جسيمات نانوية مغناطيسية أيضًا (Ahari et al., 2022).

ان استخدام جسيمات الذهب ومركباته (Au-NPs) من بين الجسيمات النانوية، وذلك بناءً على الخصائص المميزة التي تتمتع بها والتي تجعلها مثالية لتطبيقات الطب الحيوي. فمميزات مثل الخمول الكيميائي ومقاومة الأكسدة السطحية تجعل Au-NPs مرشحًا مثاليًا للاستخدام في التركيب النانوي. بالإضافة إلى ذلك، توفر Au-NPs استقرارًا عاليًا وسمية خلوية منخفضة وتوافقًا حيويًا وإمكانات متعددة الوظائف، مما يجعلها مرشحًا محتملاً لنظام توصيل الأدوية (Eleraky et al., 2020).

جدول (2-2) : يوضح انواع الجسيمات النانوية المستخدمة كحوامل

Type of Carriers	Advantage	Disadvantage	References
<p>Inorganic carriers</p>  <p>Silica nanoparticle</p>  <p>Quantum dot nanocrystal</p>  <p>Iron oxide nanoparticle</p>  <p>Silver nanoparticle</p>  <p>Gold nanoparticle</p>  <p>Gold nanorod</p>	<p>Small size; Special magnetic, electric, and optic properties; Tunable size, structure, and functionalization.</p>	<p>Low solubility; Toxicity.</p>	<p>Kasina et al.,2022</p>
<p>Lipid-based carriers</p>  <p>Liposome</p>  <p>Lipid nanoparticle(3D)</p>  <p>Emulsion</p>	<p>Ease formulation for specific applications; High bioavailability; Hydrophilic and lipophilic carriers; Chemical modification; Improve blood circulation.</p>	<p>Carrier flexibility; Low encapsulation efficiency.</p>	<p>Kasina et al.,2022</p>
<p>Polymeric carriers</p>  <p>Polymeric micelle</p>  <p>Nanosphere</p>	<p>Easily controlled; Surface modification; Biodegradable; Hydrophilic and hydrophobic carriers.</p>	<p>Self-aggregation; Toxicity.</p>	<p>Kasina et al.,2022</p>

16-2 السمية الخلوية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية Cytotoxicity of gold oxide nanoparticles

تؤدي جسيمات الذهب النانوية و مركباتها إلى سمية على الخلايا السرطانية من خلال آليات متعددة. يتضمن ذلك إنتاج الجذور الحرة free radicals وأكسدة الكلوتاثيون glutathione oxidation ، وتعطيل دورة الخلية disrupt the cell cycle ، وتنشيط بروتين الكازيبز Caspase 3 ، وتآكل الخلايا السرطانية erosion of cancer cells ، وبرمجة موت الخلية programming cell death (Lin *et al.*, 2021).

ان تكوين أنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS) Reaction oxygen species الحرة داخل الخلايا السرطانية، يؤدي إلى وضع الخلية السرطانية في حالة تأكسدية مرتفعة. وهذا يتسبب في تلف المادة الوراثية والأغشية الحيوية في الخلية، وينتهي بموت الخلية المبرمج. هذه الآلية يمكن أن تكون فعالة في مكافحة السرطان (Kumar *et al.*, 2017).

ان الجذور الحرة هي جزيئات غير مستقرة تحتوي على إلكترون غير مقترن في طبقتها الخارجية. وتنتج الجذور الحرة عن عمليات طبيعية في الجسم مثل التمثيل الغذائي

والتنفس الخلوي، ويمكن أن تتكون أيضاً نتيجة لتعرض الجسم لعوامل خارجية مثل التدخين والتلوث والتعرض للأشعة فوق البنفسجية. حيث تعمل الجذور الحرة على أكسدة الكلوتاثيون (GSH)، وهو مضاد أكسدة يحمي الخلية من التأثير الضار للجذور الحرة. تتحول الكلوتاثيون إلى الكلوتاثيون ثنائي الكبريت (GSSG) نتيجة لذلك. يؤدي ارتفاع الجهد التأكسدي في الخلية الذي يسببه الجذور الحرة إلى تحفيز إنزيم الجلوتاثيون ريدكتاز *Glutathion reductase* ، والذي يقوم بإعادة تخفيض الكلوتاثيون المؤكسد. تتيح هذه الآلية للخلية الحفاظ على توازن الأكسدة-الاختزال (Sathishkumar *et al.*, 2015).

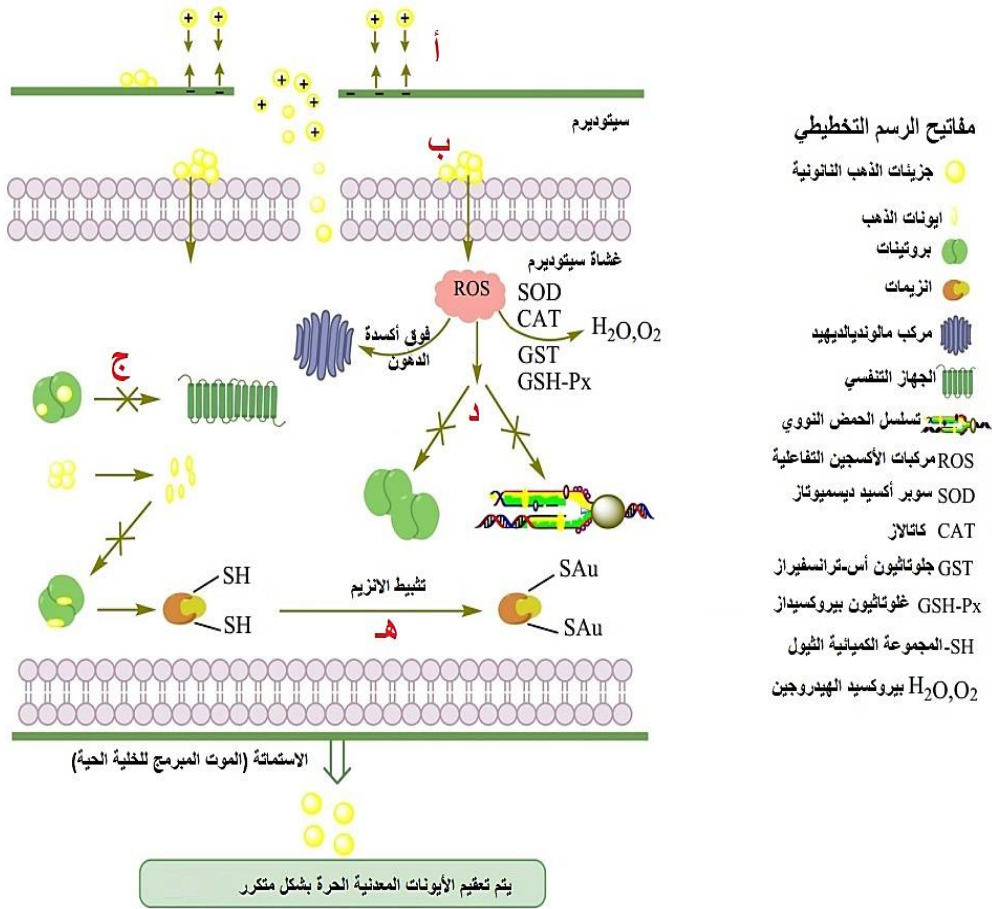
أما الآلية الثانية هي موت الخلية المبرمج (Apoptosis) هو عملية طبيعية يخضع لها الخلايا في الجسم بشكل منتظم. يتم خلالها تنشيط مجموعة من الآليات الخلوية التي تؤدي إلى تحطم وتفتت الخلية بشكل مبرمج وتحل مكانها بخلايا جديدة. موت الخلية المبرمج هو أحد الآليات الرئيسية المؤثرة في مكافحة الأورام الناجمة عن جسيمات الذهب النانوية، وذلك بسبب قدرتها على اختراق الحواجز الخلوية بسهولة وتفاعلها القوي مع جزيئات الخلايا المختلفة. يتم التعرف على الخلايا الميتة بهذه الطريقة من خلال التغيرات التي تحدث في شكلها، مثل تفتت النواة وانتشار الغشاء البلازمي بشكل واسع وكذلك انكماش الخلايا ، مما يؤدي في النهاية إلى موت الخلايا. ثم تقوم الخلايا البلعمة الكبيرة بابتلاع الخلايا الميتة المتبقية.

لعبت جسيمات الذهب النانوية دوراً في موت الخلية المبرمج في خطوط خلايا سرطان الكلى البشرية، حيث تسببت في تلف غشاء الماييتوكندريا وادى ذلك الى خلل في وظائفها وفي نهاية المطاف موت الخلايا المبرمج. (Liu *et al.*, 2018). وفي دراسة أخرى أجراها (Gadekar *et al.*, 2021) إلى أن جسيمات الذهب النانوية كانت سامة لخط سرطان الكبد Hep2 وأن موت الخلية المبرمج كان مسؤولاً عن انحلال خلايا الكبد المصابة. الـ Caspase هي عائلة من البروتينات الإنزيمية التي تلعب دوراً حاسماً في عملية موت الخلية المبرمج (Apoptosis). تعمل الـ Caspases على تحفيز وتنفيذ عمليات تحطم الخلية وتفتتها. تمت دراسة استخدام جسيمات الذهب النانوية كوسيلة لمكافحة سرطان الثدي البشري. وقد أظهرت الدراسات أن جسيمات الذهب النانوية السامة تستطيع أن تعزز نشاط بعض الإنزيمات المعروفة باسم Caspase3 و Caspase9، وهما من الـ Caspases المنفذة. تعمل الـ Caspases بنظام دقيق وتنظيم محدد. تتم تفعيلها من خلال سلسلة من

الفصل الثاني :- استعراض المراجع

التفاعلات البيولوجية، مثل تجميع البروتينات الخاصة بالتنشيط والتفاعل مع جزيئات إشارية تعزز النشاط الإنزيمي للـ Caspases (Ahamed *et al.*, 2016; Dam *et al.*, 2014).

شكل (11)



الشكل (11) : آليات جزيئات الذهب النانوية (AuNPs). (Gu *et al.*, 2021).

الفصل الثالث
المواد وطرائق
العمل

**Materials and
methods**

1-3 الأجهزة والمعدات المخبرية Equipment and Apparatus

جدول (1-3) الأجهزة المستخدمة في هذه الدراسة

المنشأ	الشركة المصنعة	الجهاز	ت
Korea	Human Lap	Incubator الحاضنة	1
China	Zenith Lap	Shaking Incubator الحاضنة الهزازة	2
Germany	Memmert	Oven فرن كهربائي	3
France	Lap Tech	Biosafety كابينة الزرع	4
Japan	Hirayama	Autoclave المؤصدة	5
Japan	Olympus	Light Microscope المجهر الضوئي	6
Germany	Sartorius	Sensitive Balance الميزان الحساس	7
USA	Thermo Fisher Scientific Supplier	Micro titer reader قارئات الألواح	8
Japan	Labcco	Vortex المازج الدوار	9
Germany	Memmert	Water Path الحمام المائي	10
Poland	Vistal	Refrigerator الثلاجة	11
Germany	GFR	Water Distillatory جهاز التقطير	12
Germany	Heidolph	Hot plate Magnetic Stirrer الصفحة الحرارية الهزازة	13
Belgium	Cypress Diagnostics	CO ₂ incubator حاضنة مع ثاني اوكسيد الكربون	14
France	Vilberlourmat	Gel system documentation جهاز تصوير الهلام	15
Korea	Showinc	Microwave المسخن	16
Korea	K& k scientific supplier	Laminar flow hood حجرة التدفق الصفحي	17
Germany	Quik Fit	Elisa جهاز الاليزا	18
U.S.A	Lamin	Digital Microscope Camera كاميرا تصوير مجهري	19
Japan	Olympus	Invert Microscope مجهر ضوئي مقلوب	20
U.S.A	The Electron corporation	Deep freezer المجمدة	21
Denmark	Radiometer	PH – Meter مقياس الرقم الهيدروجيني	22
Japan	Shimadzu	UV-Visible spectroscopy جهاز الاشعة فوق البنفسجية	23
USA	Brookhaven Instruments	Zeta Potential Analyzer	24
Germany	ZEISS Integrated	Atomic Force Microscope (AFM) مجهر القوة الذري	25
Japan	IRAffinity-1-Shimadzu	Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectrophotometer طيف بالأشعة تحت الحمراء	26
Dutch	Philips PW1730	X-Ray Diffraction جهاز حيود الأشعة السينية	27
Germany	ZEISS	المجهر الإلكتروني النافذ Transmission Electron Microscope (TEM)	28

الفصل الثالث :- المواد وطرائق العمل

Germany	ZEISS GeminiSEM	المجهر الإلكتروني لمسح الانبعاث الميداني FE-Scanning Electron Microscope (FESEM)	29
Korea	Bioneer	Electrophoresis	30
Japan	Atto	Gel Documentation	31

جدول 2-3 الادوات المستخدمة في هذه الدراسة

المنشأ Origin	الشركة المصنعة Manufacturing Company	الادوات Tools	ت
Malaysia	Broche	Gloves كفوف	1
Holland	Bio zek medical	Petri Dishes اطباق بتري	2
UK	Watman No.1	Filter Paper ورق ترشيح	3
India	Superestar	Slides شرائح زجاجية	4
USA	General	Beaker بيكرات ذو احجام مختلفة	5
		Disposable Syringes محاقن طبية	6
Engeland	HBG	Cylinder (50,100,250) اسطوانات	7
Engeland	HBG	دورق مخروطي سعة (1 لتر , 500 مل 250Conical Flasks (مل و 100مل)	8
UAE	Tan	Cool box الصندوق البارد	9
India	Himedia	Forceps ملقط	10
India	Himedia	Wire loop حلقة سلكية(ناقل زرع)	11
China	Meheco	Plastic ruck رف بلاستيك	12
China	AL-Rawbi	Cotton Swap ماسحة قطنية	13
India	Himedia	Burner موقد	14
China	Citogias	Microscope cover slides غطاء الشريحة	15
Germany	Globe scientific	Universal Pipette Tips	16
Canada	ALS	Test Tube انابيب اختبار	17
USA	Thermo Fisher Scientific	Cell culture plates صفائح زرع الخلايا	18
England	John Bolten	Glass rod spreader موزع زجاجي	19
India	Superstar	Sterile tiny plastic bags اكياس بلاستيكية صغيرة معقمة	20
USA	Sigma	Whatman No.1 Filter paper	21
China	DraonMED	Micropipettes	22
England	Pyrex	Screw cap bottles قناني محكمة الغطاء	23
Korea	Lab.Tech	quartz cuvette	24
Germany	Jenway	Para film	25
Spain	Millipore	Filter unit 0.22 Mm وحدة ترشيح	26
Jordan	Afco	Plain tubes انابيب عادية	27

الفصل الثالث :- المواد وطرائق العمل

KSA	SML	Trowel	28
-----	-----	--------	----

جدول (3-3) المواد الكيميائية والبيولوجية المستخدمة في هذه الدراسة

المنشأ	الشركة المصنعة	المادة	ت
UK	Glentham	رباعي كلورات الهيدروجين ثلاثي الهيدرات Hydrogen tetrachloroaurate (III) trihydrate	1
Chile	KR	اكار Agar	2
Germany	Baker	ايتانول مطلق Absolute Ethanol	3
UAE	AMEYA FZC	Ethanol (70%)	4
Indonosia	INF	كلورامفينيكول Chloramphenicol	5
Germany	Schuchard	Normal saline	6
Korea	Bioneer	ماء منزوع الايونات Deionized water	7
Korea	Marvel	اكاروز Agarose	8
India	Himedia	Cycloheximide	9
Spain	Barcelona	كلوكوز Glucose	10
England	BDH	Hydrogen peroxide H2O2	11
England	BDH	Methanol (99%)	12
S.A.R.	Sybio	Gram stain kit	13
USA	Gibco	Fetal Bovine Serum	14
USA	Sigma	3-4,5 Dimethylthiazol-2-yl-2,5- diphenyl tetrazolium bromide MTT dye	15
USA	Capricorn	Trypsin/EDTA	16
Germany	Sigma-aldrich	EDTA	17
U.S.A	Sigma	تريبسين/ فرسين Trypsin-Versine	18
England	BDH	صبغة البنفسج البلوري Crystal Violate	19
England	BDH	صبغة التريبيان الزرقاء Trypan blue stain	20
India	Thomas Baker	ملون كمزا Giemsa Stain	21
England	BDH	ميثانول Methanol	22
Korea	Bioneer	البادئات Primers	23
Korea	Marvel	Agarose	24
korea	Bioneer	TBE 10x	25
Canda	Bio Basic	Ethidium Bromide	26
Korea	Bioneer	Accu Power-PCR- Pre Mix	27
Korea	Bioneer	Electrophoresis	28
Japan	Atto	Gel Documentation	29
USA	Promega	DNA ladder	30
		Bromphenol blue dye	31

الفصل الثالث :- المواد وطرائق العمل

جدول 3-4 :- الأوساط الزرعية المستخدمة في هذه الدراسة

المنشأ	الشركة المصنعة	الوسط الزراعي	ت
India	Bio Mark	Nutrient agar	1
England	Oxoid	Muller Hinton agar	2
India	MB-Cell	Nutrient Broth(NB)	3
UK Spain India India Spain Indea	Avonchem Panreac Qualikemis CDH Panreac CDH	(Humic acid-vitamin B agar) humic acid potassium chloride Disodium phosphate (DSP) magnesium sulphate Calcium carbonate Iron(II) sulfate	4
Korea	Bioneer	deionized water (diH ₂ O) Agar	
India	Himedia	Yeast Extract agar (YEA)	5
India	Bio Mark	Nutrient agar	6
U.S.A	Sigma	RPMI-1640 الوسط الزراعي	7

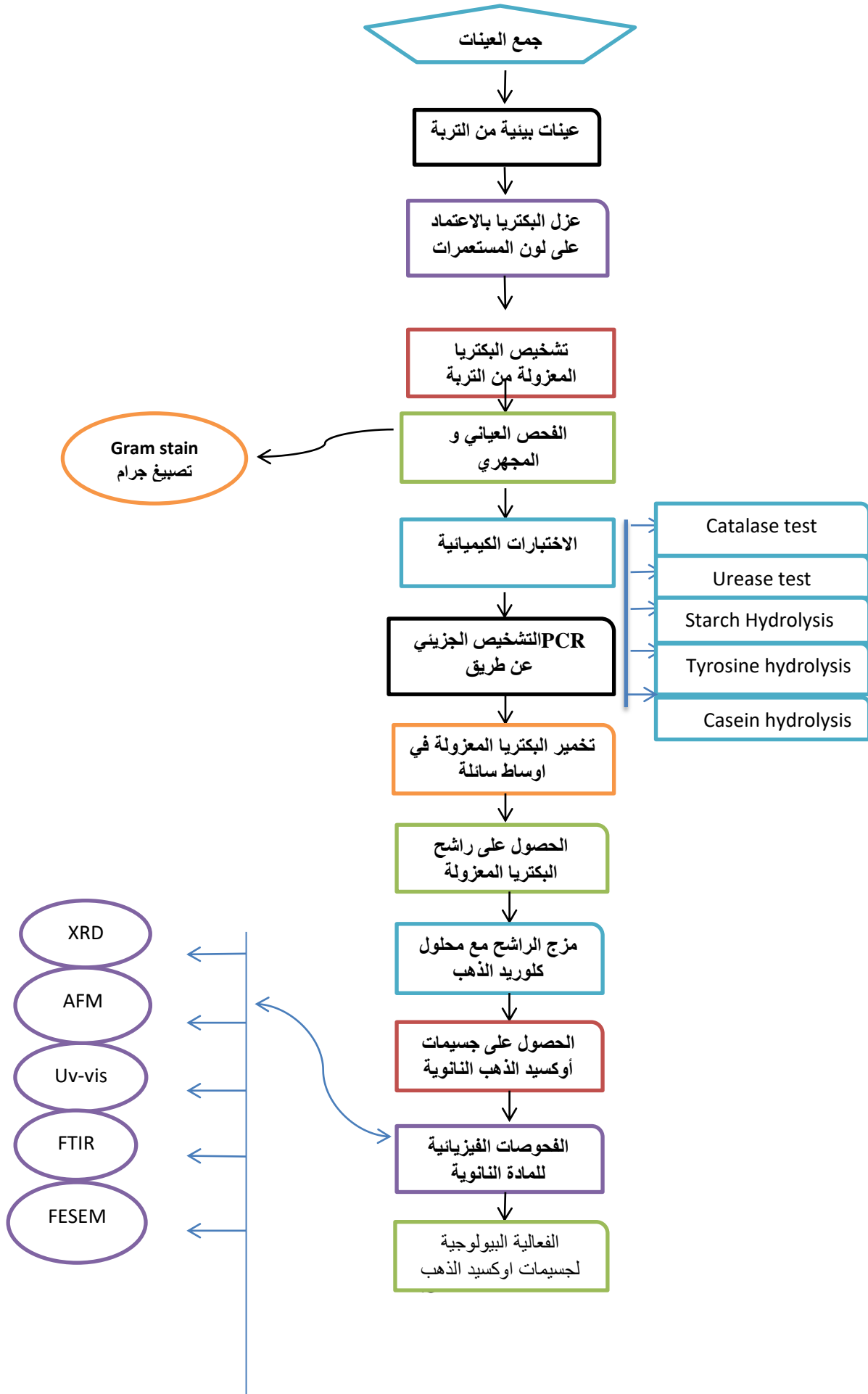
5-3 الوسط الزراعي لعزل بكتريا النوكارديا Culture medium for bacterial isolation of *Nocardia*

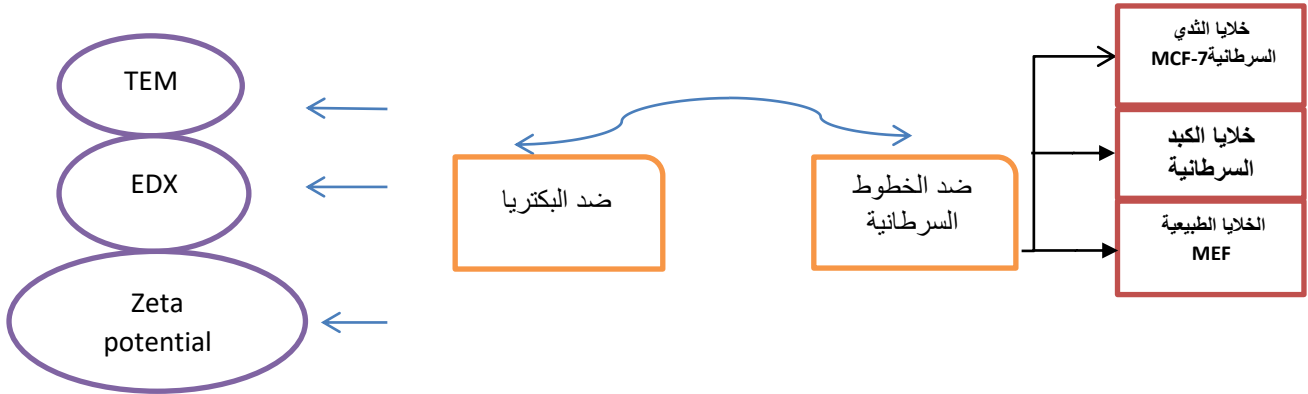
في هذه الدراسة تم عزل بكتريا النوكارديا *Nocardia* باستخدام وسط Humic acid vitamin B. وضع الوسط في فلاسك Flask ثم فحص الرقم الهيدروجيني له بواسطة جهاز PH meter وكان الرقم الهيدروجيني له 7.2 ثم وضع في جهاز التعقيم Autoclave عند 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة وبعد التعقيم يبرد الوسط و يتم اضافة Vitamin B ويضاف مادة Cycloheximide 10 مل لكل 100 مل من الوسط الزراعي (Pharm, 2008).

1-5-3 تحضير الاوساط الزرعية Preparation of cultural media

تحضر جميع الاوساط الزراعية حسب تعليمات الشركة المصنعة تم تعقيمها بواسطة Autoclave عند 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة وتم توزيعها في اطباق بتري معقمة وتترك لتتصلب في درجة حرارة الغرفة ثم تحضن هذه الاطباق عند 30 درجة لمدة 14 يوم – شهر حسب ماذكر الباحث مع بعض التعديلات (Rasouli-Nasab et al., 2017).

3-6 مخطط طريقة العمل





شكل (12) :- مخطط يوضح خطة العمل للدراسة البحثية

1-6-3 جمع عينات التربة Collection of Soil Samples

تم جمع 35 عينة تربة من مواقع مختلفة في محافظة ميسان بما ذلك حقول قصب السكر و حقول الارز و حديقة المنزل تم جمع العينات من تاريخ (تشرين الثاني 2022- ايار 2023) حيث تم اخذ العينات من اعماق مختلفة تراوحت من (8سم - 10 سم) وتم جمع العينات في اكياس بلاستيكية معقمة و قناني بلاستيكية معقمة.

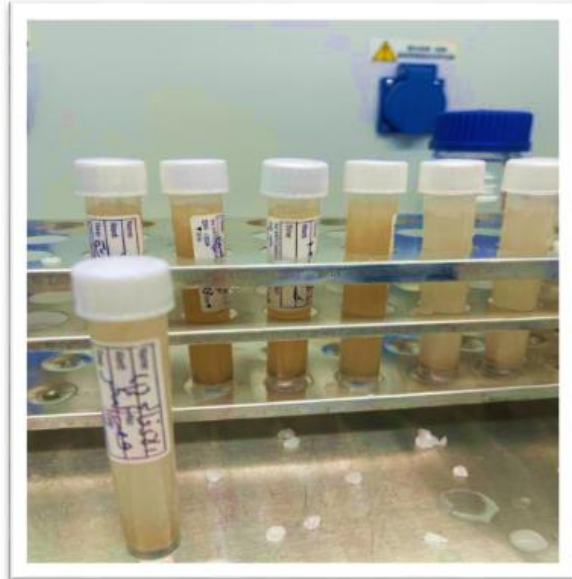


شكل (13) : يمثل مكان جمع التربة

ثم تم تجفيف عينات التربة لمدة ثلاث ساعات تقريبا في فرن الهواء الساخن عند 60 درجة مئوية ومن ثم تم اخذ عينات التربة ونقلها الى انابيب نقل معقمة و اضافة 0.1 غم من مادة كربونات الكالسيوم الى كل غرام واحد من التربة و حضنها بدرجة حرارة الغرفة لمدة 7 ايام (Pharm, 2008)

2-6-3 تخفيف عينات التربة Serial Dilution Method

تم تصنيف اربعة انابيب اختبار معقمة تحتوي على 9 مل من الماء المقطر المعقم وتم اضافة 1 غم من التربة المجففة التي تحتوي على كربونات الكالسيوم الى الانبوب رقم 1 و الرج جيدا ثم اخذ 1 مل من الانبوب رقم 1 و اضافة الى الانبوب رقم 2 باستخدام الماصة الدقيقة micropipette تم اجراء هذا التخفيف التسلسلي حتى الانبوب رقم 4 و من ثم تم التخلص من 1 مل من الانبوب رقم 4 لنحصل على تراكيز 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} & 10^{-4} 10 غم /مل (Pharm, 2008)



الشكل (14) يوضح عملية تخفيف عينات التربة

بعدها تم تحضير اطباق بتري تحتوي على الوسط الزراعي (humic acid) الخاص بعزل بكتريا النوكارديا وتم ترميز كل طبق بالاسم و الرقم الخاص بالانبوب الذي يتم الزرع منه حيث تم اخذ 1 مل من كل انبوب و يتم نشرها على طبق بتري بواسطة L Shape ومن بعدها يتم حضن الاطباق في الحاضنة لمدة 14 يوم عند 30 درجة مئوية (-Rasouli Nasab et al., 2017).

3-6-3 تشخيص البكتريا traditional and advanced bacterial identification

بناء على الخصائص التشخيصية لـ (Holt *et al.*, 1994) تم تشخيص البكتريا في الدراسة الحالية بالاعتماد على الصفات المظهرية و الفحوصات الكيميائية ثم بعد ذلك تم تأكيدها بالتشخيص الجزيئي و تقنية sequencing .

1-3-6-3 الفحص المظهري Morphological identification

كانت الاختبارات التشخيصية الأولى بناءً على الخصائص العيانية والمظهرية للمستعمرات البكتيرية المزروعة في وسط أجار يحتوي على حمض الهيوميك وفيتامين B المحتضن عند درجة حرارة 30 درجة مئوية.

تم اجراء تحديد اولي بناءً على شكل ولون المستعمرات البكتيرية على الوسط (Hua Lu *et al.*, 2020)

2-3-6-3 صبغة جرام والفحص المجهرى Gram stain and microscopic examination

تم إخضاع العزلات البكتيرية للفحص المجهرى وذلك بأخذ مسحة صغيرة من المستعمرة ونقلها على الشريحة وصبغها بصبغة جرام وتم فحصها بعدسة زيتية لتمييز شكل الخلايا وطريقة تجميعها وترتيبها وتأثيرها الإيجابي والسلبي للصبغة. (Tripathi and Sapra, 2020)

4-6-3 تحديد الاختبارات الكيموحيوية Biochemical reaction identification

تم اجراء جميع الفحوصات الكيميائية في هذه الدراسة وفقا لـ(Williams, 1989).

Urease tests 1-4-6-3

تم وضع وسط اليوريا بانبوب بشكل مائل وتم تلقيحة بمستعمرة واحدة ثم حضنت عند 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ان التغير في لون الوسط من اللون الاصفر الى اللون الوردي هو دليل على ان الاختبار موجب.

Catalase Test 2-4-6-3

تم وضع قطرة من 3 ٪ محلول مائي من بيروكسيد الهيدروجين على شريحة زجاجية مجهرية نظيفة. اخذت كمية صغيرة من البكتريا المراد اختبارها بواسطة اللوب المعقم ثم تم خلطها مع بيروكسيد الهيدروجين و يشير انتاج الغاز الى اطلاق غاز الاوكسجين بواسطة انزيم الكاتلايز الموجود في البكتريا و هذه تعتبر نتيجة ايجابية لفحص الكاتلايز.

Casein degradation 3-4-6-3

اخذت مستعمرة بواسطة اللوب و تم زرعها على طبق من أجار الكازين ثم حضن في الحاضنة عند 37 درجة مئوية وفحصها يوميا. تعطي النتيجة الايجابية وجود منطقة او هالة واضحة حول منطقة النمو تشير الى استخدام الكازين من قبل البكتريا وعدم ظهور هذه المنطقة تعني النتيجة سلبية.

Starch degradation 4-4-6-3

تم زرع البكتريا المراد اختبارها على طبق بتري يحتوي على وسط النشا ثم حضنها عند 37 درجة مئوية و فحصها يوميا ونتيجة الاختبار تتم بعد اضافة اليود الى النشا. أظهرت الكائنات الحية التي تستخدم النشا منطقة شفافة حول نمو البكتريا وخلاف ذلك تعني ان هذه الكائنات لا تستخدم النشا.

Tyrosine degradation 5-4-6-3

تم زرع البكتريا المراد اختبارها على طبق التيروسين الجاف ثم تم حضن الطبق عند 37 درجة مئوية وفحصها يوميا لرؤية هالة شفافة حول منطقة النمو و هذه تدل على تحطم التيروسين.

5-6-3 التشخيص الجزيئي للعلزلات Molecular Identification of the Isolates

1-5-6-3 استخلاص الحمض النووي للبكتريا DNA Isolation

تم استخلاص الحمض النووي للبكتريا المزروعة على الاكار المغذي بإستخدام

[GBB \(geneaid.com\)](http://geneaid.com) Presto™MinigDNA bacteria kit

وفقا لتعليمات الشركة المصنعة, تم تخزين الحمض النووي الجينومي عند -20 درجة مئوية

واتبعت الطريقة حسب ما يأتي :-

1- تحضير العينات Sample preparation

1- اضافة 1 مل من عينة البكتيريا المنشطة الى انبوب ابندروف ووضعها في جهاز الطرد المركزي 14000 دورة في الدقيقة.

2- إضافة 180 مايكرو ليتر من buffer GT الى الانبوب.

3- اضافة 20 مايكرو ليتر من انزيم محلل للبروتين نوع Proteinase K ثم إضافة ماء مقطر منزوع الأيونات وخلطه بواسطة جهاز vortex

4- يوضع في حمام مائي عند 60 درجة مئوية لمدة 10 دقائق و رجه كل ثلاث دقائق اثناء الحمام المائي.

2- التحلل Lysis

أضيف 200 ميكرو لتر من المخزن المؤقت GB إلى العينة وتم خلطها بواسطة جهاز الدوار لمدة 10 ثوانٍ. ثم وضعت العينة في حاضنة عند درجة حرارة 70 درجة مئوية لمدة 10 دقائق على الأقل للتأكد من وضوح العينة المحللة. خلال فترة الحضانة، تم عكس الأنبوب كل 3 دقائق. في الوقت نفسه، تم تسخين المحلول المطلوب (200 ميكرو لتر لكل عينة) إلى 70 درجة مئوية (لخطوة غسل الحمض النووي).

3- ربط الحمض النووي DNA Binding

تم اضافة 200 ميكرو لتر من الإيثانول المطلق إلى العينة وخلطها على الفور عن طريق الرج بقوة. بعد ظهور الراسب، تم تفتيته قدر الإمكان باستخدام ماصة. ثم وضع عمود GD في أنبوب جمع سعة 2 مل. و بنقل خليط النقل (بما في ذلك أي راسب غير قابل للذوبان) إلى عمود GD، ثم تم تشغيل الطرد المركزي على سرعة 14-16000 x ج لمدة دقيقتين. نتخلص أنبوب جمع سعة 2 مل الذي يحتوي على التدفق، ثم وضع عمود GD في أنبوب جمع جديد سعة 2 مل.

4- الغسل Wash

أضيف 400 ميكرو لتر من المخزن المؤقت W1 إلى عمود GD. شغل جهاز الطرد المركزي على سرعة 14-16000 x ج لمدة 30 ثانية، ثم تخلص من الراسب. و وضع عمود GD مرة أخرى في أنبوب التجميع سعة 2 مل. أضيف 600 ميكرو لتر من مخزون الغسيل المؤقت (تأكد من إضافة الإيثانول) إلى عمود GD. ثم شغل جهاز الطرد المركزي على سرعة 14-16000 x ج لمدة 30 ثانية، ثم تجاهل التدفق. ضع عمود GD مرة أخرى في أنبوب التجميع سعة 2 مل. قم بتشغيل أجهزة الطرد المركزي مرة أخرى لمدة 3 دقائق على سرعة 14-16000 x ج لتجفيف مصفوفة العمود.

Elution -5

إذا كان حجم العينة أقل من الحجم المستخلص البالغ 100 ميكرو لتر، يمكن تقليل حجم الاستخلاص إلى ما بين 30 و 50 ميكرو لتر لزيادة تركيز الحمض النووي. وإذا كان هناك حاجة لزيادة إنتاج الحمض النووي، يمكن تكرار خطوة تنقية الحمض النووي لزيادة الحمض النووي المسترد وزيادة حجم الشطف الكلي إلى حوالي 200 ميكرو لتر.

الترحيل الكهربائي Electrophoresis

يتضمن الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز ثلاث خطوات رئيسية :-

أ. تحضير وصب الهلام

1- تحضر جل بتركيز 0.08 % , يوزن 0.2 غم من الاكاروز ويضاف على 25 مل من محلول TBE بتركيز 0.5x في بيكر معقم و يوضع المزيج على الصفيحة الساخنة Hot plate او بالميكروويف للتسخين الى ان يذوب الاكاروز ويتجانس مع المحلول.

2- يترك الخليط يبرد بدرجة حرارة الغرفة الى درجة 45 مئوية ثم تضاف نصف مايكرو ليتر من صبغة ethidium bromide. يصب الجل المحضر بقالب الصب بعد غلق الحواف لمنع انسياب الجل و توضع الامشاط بالحفر. يترك الجل يتصلب بدرجة حرارة الغرفة.

ب. تحضير العينات

يمزج 3 ml من عينة الـ DNA مع 1 ml الـ Loading buffer (3 : 1)

ج. تحميل العينات Loading DNA in agarose gel

تنزع المشط من الثقوب بعد التأكد من تصلب الهلام ثم ينقل مع القلب cast ويوضع بالوعاء Tank ليغمر بـ 0.5 x TBE buffer. تحمل العينات الممزوجة بالصبغة اي توضع باستخدام المايكروبايبييت بالثقوب بحذر لكي تستقر في قاع الثقب و تجنب فقدان العينة.

د. هجرة الجزيئات المرحلة

الفصل الثالث :- المواد وطرائق العمل

تتم بربط الاقطاب بمجهاز الطاقة Power supplier بالشكل الصحيح وضبط الفولتية والامبيرية على 60 فولت و 10 امبير. يترك الترحيل لفترة تتراوح بين 45 دقيقة الى ساعة.

فحص العينات Assessment of samples

1- ينقل الهلام بحذر ويوضع على جهاز كمصدر للاشعة فوق البنفسجية مثل UV transilluminator بطول موجي 300 نانومتر.

2- تظهر حزم الـ DNA بلون مائل للبرتقالي ويتم قياسها باستخدام DNA marker (Ladder)

Polymerase Chain Reaction (PCR) 2-5-6-3

ضخم التسلسل المستهدف لـ (DNA (16 sRNA , Specific primer باستخدام تقنية

PCR بحجم 50 مل في انبوبة PCR باستخدام البرايمرات كما في الجدول (3-5)

الجدول 3-5 : الابدانات المستخدمة في عملية PCR

Primer name	Primer sequences	Length (bp)	The manufacturer
Universal	'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG- F: 35' R: 5'-TACCTTGTTACGACTT-'3	1300 bp	Musaib Bridge Company
Specific	F: ACCGACCACAAGGGGG R: GGTTGTAACCTCTTCGA	16bp 17bp	Musaib Bridge Company

تم تنفيذ خليط التفاعل بالاحجام التالية :

(3-6) : يوضح خليط التفاعل المستخدم لتضخيم تفاعل البوليميراز المتسلسل

Reagents	Volume
Master mix	12.5 ml
Forward Primer	1.0 ml

الفصل الثالث :- المواد وطرائق العمل

Reverrs Primer	1.0 ml
DNA	50 ng/ml (1-2 ml)
Nuclease-free water	9.5
Final volume	25 ml

الجدول (7-3) : برنامج تفاعل البوليميريز المتسلسل لتضخيم جين 16 SrDNA

المرحلة	درجة الحرارة	الوقت	عدد الدورات
تمسخ او تحول اولي Initial denaturation	95 °C	5 دقائق	دورة واحدة
تمسخ او التحول Denaturation	95 °C	30 ثانية	35 دورة
التلدين Annealing	50 °C	30 ثانية	
الاستطالة Elongation	72 °C	1 دقيقة	
الاستطالة الاخيرة Final Elongation	72 °C	5 دقائق	دورة واحدة

3-5-6-3 تسلسل جين 16 S rDNA

تم تحويل جميع العينات إلى شركة ماكروجين للتكنولوجيا الحيوية في كوريا الجنوبية لتنقيتها وتحليل التسلسل الجيني. تمت مقارنة نتائج التسلسل مع تسلسلات البادئات الجاهزة الأمامية والعكسية، وذلك باستخدام نفس الشركة. بعد ذلك، تمت مقارنة نتائج التسلسل مع تسلسلات الجينات الجاهزة في مركز المعلومات التكنولوجية الحيوية. (center for

Biotechnology Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

وتم تحليلها للكشف عن الاقرب تطابق للعزلات البكتيريا (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

7-3 تحضير محلول كلوريد الذهب 2 ملي مولار (HAuCl₄.3H₂O)

لغرض الحصول على تركيز 2 ملي مولار من ملح كلوريد الذهب اذيب 0.0393 غم من ملح كلوريد الذهب في 50 مل من ماء لا ايوني وحسب قانون المولارية وتم التصنيع في

ظل ظروف معتمدة و غربلت البكتريا *Nocardia asteroides* , *Nocardia good fellowii* لمعرفة قابليتها على تخليق جسيمات اوكسيد الذهب النانوية.

1-7-3 تخليق جسيمات اوكسيد الذهب النانوية (Au₂O₃-NPs) من بكتريا

Nocardia asteroides *Nocardia good fellow*

حسب ماذكر (Manivasagan *et al.*, 2015) كانت خطوات تخليق الجسيمات النانوية كالآتي:-

مع بعض التغييرات في هذه الدراسة

1- خمرت البكتريا على وسط Nutrient broth لمدة 3 ايام في درجة حرارة 30 درجة مئوية في الحاضنة الهزازة بمعدل 120 دورة في الدقيقة.

2- اخذ مسحة من المزرعة البكتيرية النامية ووضعها في فلاسك زجاجي سعة 500 مل يحتوي على 100 مل من الوسط Nutrient broth

3- بعد نمو البكتيريا تم فصل رواشح المزارع البكتيرية عن طريق جهاز الطرد المركزي بسرعة 10.000 دورة لمدة 20 دقيقة

4- تم اضافة 5 مل من راشح كل بكتيريا وبشكل منفصل الى 50 مل من محلول كلوريد الذهب تركيز 2 ملي مولار

5- تم تسخين المزيج على الصفيحة الحرارية الهزازة الممغنطة لمدة 15 دقيقة عند 50 درجة مئوية ثم حضان في الحاضنة الهزازة (120 دورة في الدقيقة) في درجة حرارة 30 درجة مئوية لمدة ثلاثة ايام

6- تمت مراقبة التخليق الحيوي لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية عن طريق الفحص البصري لتغيير لون خليط التفاعل

7- تم ترسيب جسيمات اوكسيد الذهب النانوية المصنعة عن طريق الطرد المركزي عند 10الاف دورة في الدقيقة لمدة 30 دقيقة، غسلت ثلاث مرات بماء منزوع الأيونات ، وأخيراً تم تجفيفها للحصول على مسحوق نانوي.

2-7-3 التشخيص الفيزيائي لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية المصنعة حيويًا

الذهب عنصر له مزيج فريد من الخصائص الفيزيائية والكيميائية في كل من الظروف كانت المجهرية والعيانية.

أن الخصائص العينية تتعلق باللون الأصفر الفريد ، والاستقرار الكيميائي ، وإمكانية الأكسدة العالية ، اما على المستوى النانوي (المجهري) ، يتم توضيح مميزات الذهب من خلال مزيج من الهيكل الإلكتروني مع تأثيرات أخرى بسبب الأبعاد الصغيرة للغاية . (Kaminker *et al.*, 2010).

يمكن أن يتم تشخيص جسيمات اوكسيد الذهب النانوية باستخدام عدد مختلف من الطرق البصرية والفيزيائية. هذه الطرق ناتجة بسبب الاختلاف في الأحجام والأشكال والتركييب البلوري و التضاريس للجسيمات اوكسيد الذهب النانوية. لذلك ، فإن التشخيص الشامل مع التقنيات المختلفة له أهمية كبيرة لمراقبة جودة هذه الجسيمات المنتجة من هذه التقنيات (Urban *et al.*, 2018) .

1-2-7-3 التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية Ultra Violete visible

يبدأ تشخيص الجسيمات الذهب النانوية بتغيير في اللون المرئي الذي يعمل على مبدأ رنين البلازمون السطحي يحدث هذا التغير في اللون عندما يزداد حجم الجسيمات، وفي حالة الذهب يكون من الأحمر الغامق إلى الأرجواني ترجع التغيرات اللونية التي تعرضها، وتقع في المنطقة المرئية من الطيف المتغيرة بسبب ظاهرة الرنين الموضعي السطحي للبلازمون الكهرومغناطيسي SPR ، مما يعني أن جزءاً معيناً من الطول الموجي في المنطقة المرئية يتم امتصاصه بينما ينعكس جزء آخر وسيعكس الطول الموجي المنبعث اللون الخاص و يتم قياس امتصاص هذه التغيرات اللونية باستخدام التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية المرئية (Zhang *et al.*, 2016) .

تعود الخاصية البصرية المميزة التي تظهرها الجسيمات النانوية المعدنية إلى اهتزازات نطاق التوصيل للإلكترونات التي تسطح الجسيمات النانوية. على سبيل المثال ، عندما أعيد تعليق بكتيريا الإشريكية القولونية في الماء المقطر ، أظهرت لوناً أبيض قبل إضافة المحلول المخفف من جسيمات الذهب النانوي مع الإضافة تظهر لوناً أصفر باهتاً وهو لون محلول. ولكن بعد تم وضع البكتيريا في حالة الاحتضان (وضع البكتيريا في ظروف ملائمة لعملياتها الحيوية) ، يتحول المحلول إلى عديم اللون مما يشير إلى أن البكتيريا قد ساعدت في تقليل جزيئات الذهب النانوية (Seo *et al.*, 2015).

2-2-7-3 التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء

Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

تم إجراء تحليل FTIR لتحديد وجود مجموعات وظيفية في Au_2O_3 المصنعة مما يسهل عملية التخليق الحيوي باستخدام مطياف التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء، تم قياس العينات (في شكل مسحوق) في نطاق 4000-400 cm^{-1} (Huq and Akter, 2021)

3-2-7-3 حيود الأشعة السينية (X-Ray diffraction)

تقنية تمكن الباحثين من تقييم اتجاه بلورة واحدة أو حبة واحدة وحجم وشكل المناطق البلورية الصغيرة. يفسر قانون براغ حيود الأشعة السينية بواسطة البلورة ، والذي يعرف بأنه العلاقة بين الطول الموجي للأشعة السينية التباعد بين الذرات تم فحص حيود الأشعة السينية للجسيمات النانوية المحضرة بواسطة جهاز XRD تم استخدام تقنية حيود الأشعة السينية لدراسة البنية البلورية من المواد حيث أن الأطوال الموجية للأشعة السينية بين (0.2 و 10) نانومتر تساوي مقارنة بالتباعد بين الذرات للمواد الصلبة البلورية يحدد متوسط المسافة بين الذرات في الطبقات أو الصفوف (Murty et al., 2013).

4-2-7-3 مجهر القوة الذرية Atomic force microscope

تم استخدام مجهر القوة الذرية لمسح سطح المواد النانوية مع مسبار ، مما يخلق صوراً عالية الدقة ثلاثية الأبعاد تم استخدامه لمسح المواد مادياً في مستوى دون الميكرون مما يؤدي إلى صور عالية الدقة لقياس حجم الجسيمات يؤخذ طبقة رقيق من العينة من كل نوع من الجسيمات النانوية توضع على شريحة زجاجية عن طريق إسقاط 100 ميكرو لتر من العينة على الشريحة وتترك لتجف لمدة 5 دقائق. ثم توضع الشرائح ليتم مسحها ضوئياً باستخدام جهاز AFM. (Kotakadi et al., 2016).

5-2-7-3 المجهر الإلكتروني الماسح للانبعاث الميداني (FE-SEM) Field Emission Scanning Electron Microscope

المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) ممتاز للجسيمات النانوية توصيف الحجم والشكل المجهر الإلكتروني الماسح قادرة على إنتاج دقة عالية من الصور المجهرية علاوة على ذلك ، فإن يمكن تصنيفها إلى ثلاث اصناف

- 1- SE1 ، أي تلك المتولدة عند نقطة التأثير من تفاعل حزمة الالكترونات مع العينة
- 2- SE2 ، أي تلك الناتجة عن الطاقة العالية الإلكترونات داخل العينة
- 3- SE3 ، أي تلك الناتجة عن اصطدام إلكترونيات متناثرة (BSE) الأسطح الداخلية لجزرة عينة المجهر

(Vladár and Hodoroaba 2020). تم فحص هذه العينة في دولة ايران – طهران

6-2-7-3 تحليل الأشعة السينية المشتتة للطاقة (Energy-dispersive X-ray spectroscopy)

تقنية التحليل الأولي المرتبط بالمجهر الإلكتروني هو (EDX) التحليل المجهرية للأشعة السينية المشتتة للطاقة بناء على توليد الأشعة السينية المميزة التي تكشف عن وجود عناصر موجودة في العينات (Vale de Macedo *et al.*, 2021).

7-2-7-3 Zeta-Potential analysis تحليل جهد زيتا

جهد زيتا هو تحديد الشحنة الكهربائية للجسيمات التي تقيهم منفصلين عن بعضهم البعض (Olson, 2012). الجسيمات النانوية لها شحنة سطحية تجذب طبقة رقيقة من أيونات الشحنة المعاكسة لسطح الجسيمات النانوية هذه الطبقة المزدوجة من الأيونات ينتقل مع الجسم النانوي أثناء انتشاره في جميع أنحاء المحلول. يعرف الجهد الكهربائي عند حدود الطبقة المزدوجة باسم ضغط زيتا لهذه الجسيمات و لها قيم تتراوح عادة من +100 الى - 100 مللي فولت (Hunter, 2013) من المهم ملاحظة أن جهد زيتا هو الاحتمال عند انزلاق المستوى ، وليس الشحنة على سطح الجسم ، كما يفترض غالبا. انزلاق المستوى هو موقع افتراضي على بعد حوالي 2 نانومتر من سطح الجسم (Olson, 2012) .

يشير مقدار جهد زيتا إلى غروية الاستقرار المحتمل للنظام مع زيادة جهد زيتا ، تنافر بين الجسيمات سيكون أكبر ، مما يؤدي إلى الغروية تشتت أكثر استقرارا إذا كانت جميع الجسيمات النانوية لها قيمة سالبة أو موجبة كبيرة، فسيلجأون إلى التصادم , وسيكون هناك

تتأخر كبير بين الجسيمات، مما يعني عدم وجود فرصة للتلاقي أو التفاعل معًا (Mady *et al.*, 2012).

8-2-7-3 المجهر الإلكتروني النافذ Transmission electron microscope (TEM)

تم استخدام المجهر الإلكتروني النافذ من أجل تحليل شكل و حجم وتوزيع الجسيمات النانوية (جسيمات اوكسيد الذهب النانوية) المجهر الإلكتروني النافذ هو شكل من أشكال الفحص المجهرية الذي يتم تمرير حزمة من الإلكترونات عبر عينة رقيقة جدا ، مما يتداخل معها أثناء انتقالها تفاعل الإلكترونات المنقولة عبر العينة ينتج صورة، يتم تكبيرها و تركيزها على جهاز تصوير مثل شاشة الفلورسنت fluorescent screen او صفائح التصوير الفوتوغرافي sheet of photographic أو يتم اكتشافه بواسطة جهاز استشعار .
(Mudalige *et al.*, 2019) discovered by a sensor
ايران – طهران

8-3 التطبيقات البيولوجية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية المحضرة Biological applications of prepared of oxide gold nanoparticles

1-8-3-1 الفعالية ضد بكتيرية من جسيمات اوكسيد الذهب النانوية Anti-bacterial activity of prepared -Au₂O₃NPs

1-1-8-3 طريقة الاقراص agar disk diffusion method

تم استخدام اربعة انواع بكتيريا وهم (*Stphylococcus aureus* , *E.coli* , *Pseudomonas* , *Enterococcus aureus*)

بالاعتماد على بحث (Diksha *et al.*, 2023) مع بعض التغييرات:-

تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا من خلال طريقة انتشار القرص. حيث تم اخذ قرص معقم وتم تشريب القرص المعقم بالمادة النانوية (اوكسيد الذهب النانوي) لمدة 24 ساعة ثم

بعدها تم زرع المعلق للبكتيريا المختبرة على طبق يحتوي على وسط Muller hinton agar ثم وضع الاقراص المشبعة بالمادة النانوية فوق المعلق البكتيري المزروع و تم وضع اقراص مشبعة بالمحلول الملحي Normal saline ثم حضنت الاطباق في الحاضنة عند 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة

2-1-8-3 نشاط مضاد البكتيريا بطريقة التخفيف Antibacterial Activity by dilution method

تم اخذ 1مل من المادة النانوية مع 1مل من البكتيريا بتركيز 10×1.5 مكفرلاند ثم يتم خلط المحلول وتركه بالحاضنة لمدة ساعة.

ثم زرع باطباق اخرى بكتريا نقية غير معاملة بالمادة النانوية المستخدمة زرعه على اطباق تحتوي على وسط Muller hinton agar وهي تمثل كونترول للمقارنة بين الاطباق ثم حضنت جميع الاطباق في الحاضنة عند 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة (Sathiyaraj et al., 2021).

2-8-3 تطبيقات الجسيمات النانوية (او اكسيد الذهب النانوي) على خطوط الخلايا السرطانية Applications of Synthetic Au₂O₃ NPs Nanoparticles on tumour cell lines

تم اختيار خطين من الخلايا السرطانية خط سرطان الكبد (HepG2) وخط سرطان الثدي (MCF-10)، تم الحصول على خلايا الثدي والكبد والخلايا الطبيعية من وحدة بنك التكنولوجيا الحيوية من محافظة بغداد في العراق. ثم تمت مقارنتهما مع خلايا الخط الطبيعي MEF وهو الخط الطبيعي لجنين الفأر لنمو الخلايا السرطانية على النحو التالي تم استخدام طريقة (Freshney, 2015).

1- تم وضع خلايا كل خط في وعاء زرع بقطر 25 سم² يحتوي على وسط زرعي RBMI-16401 و10% مصل البقر B

2- تم تحضير الصفيحة التي تحتوي على معلق الخلية ووسط الزراعة في حاضنة 5% CO2 عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة

الفصل الثالث :- المواد وطرائق العمل

- 3- بعد يوم من التحضين، وعندما تم التأكد من وجود نمو في مزرعة الخلية وخلوها من التلوث، أجريت لها زراعة ثانوية
- 4- تم فحص الخلايا بالمجهر المقلوب للتأكد من قابليتها للحياة وخلوها من التلوث ونموها إلى العدد المطلوب حوالي 500 إلى 800 ألف خلية/مل.
- 5- تم نقل الخلايا إلى حجرة النمو والتخلص من وسط الاستزراع المستخدم
- 6- تم غسل الخلايا بمحلول PBS ثم تم التخلص منها وتكرر العملية مرتين لمدة 10 دقائق في كل مرة
- 7- تمت إضافة كمية كافية من إنزيم التربسين/فيرسين إلى الخلايا وحضنت لمدة 30-60 ثانية عند 37 درجة مئوية ومراقبتها حتى تتحول من طبقة أحادية من الخلايا إلى خلايا مفردة، ثم تم إيقاف الإنزيم بإضافة مزرعة جديدة متوسطة تحتوي على مصل
- 8- تم جمع الخلايا في أنابيب طرد مركزي ووضعها في جهاز طرد مركزي بسرعة 2000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق عند درجة حرارة الغرفة، لترسيب الخلايا والتخلص من التربسين ووسط الاستزراع المستخدم
- 9- تم التخلص من المرشح وتعليق الخلايا في وسط زرع جديد يحتوي على 10% مصل
- 10- فحص عدد الخلايا عن طريق أخذ حجم معين من معلق الخلية وإضافة نفس الحجم من صبغة التريبيان الأزرق لتحديد عدد الخلايا وحيويتها باستخدام شريحة مقياس الكريات الدموية حسب المعادلة

$$C = N \times 10^4 \times F \times m$$

C = عدد الخلايا في مل واحد من المحلول

N = عدد الخلايا في الشريحة

F = معامل التخفيف

10^4 = أبعاد الشريحة

11- كما تم حساب النسبة المئوية لحيوية الخلية في العينة باستخدام شريحة Hemacytomete ايضا وفقا للمعادلة

$$\text{Live cell viability} = (\text{live cells}) \setminus (\text{dead cells}) \times 100$$

$$\text{صلاحية الخلية الحية} = (\text{الخلايا الحية}) \setminus (\text{الخلايا الميتة}) \times 100$$

12- وزعت الخلية المعلقة في أوعية جديدة ثم تم تحضينها في حاضنة 5% CO2 عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة.

3-8-3 اختبار سمية المادة النانوية على نمو الخطوط الخلوية السرطانية Cytotoxic

Assay of Nana Extracted on Cancer Cell Lines3

استخدمت تراكيز (6.25 , 12.5 , 25 , 50 , 75 , 100) مايكروغرام/مل من المادة وعقمت باستخدام مرشح ذي ثقب بقطر 0.22 مايكرون وتحت ظروف معقمة وأستخدمت التراكيز المحضرة جميعها مباشرة بعد إكمال عملية التحضير.

1. جهز عالق الخلايا عن طريق معاملة محتويات قنينة الزرع النسيجي حجم 25 سم² بمحلول التريسين/فرسين بعد تفريغ الوسط الزرع القديم وتحريك القنينة برفق، ثم حضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37م° لمدة 10 دقائق، ثم أضيف إليه 20 مل من الوسط الزرع الحاوي على المصل ثم مزج عالق الخلايا جيداً وتم نقل 0.2 مل إلى كل حفرة من طبق الزرع النسيجي ذي القعر المسطح Microtiter plate for tissue culture باستخدام ماصة اوتوماتيكية دقيقة.

2. ترك الطبق في الحاضنة بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة الى حين التصاق الخلايا في الحفرة، وبعدها تم التخلص من الوسط الزرع القديم في الحفر وأضيف 0.2 مل من التراكيز المحضرة سابقاً للمستخلص وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز، فضلاً عن انه تم عمل ثلاثة مكررات للسيطرة (معلق خلوي فقط) وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م°.

3. بعد مرور مدة التعريض Exposure time المحددة للحضن 24 ساعة، اخرج الطبق من الحاضنة وأضيف إليه محلول صبغة البنفسج البلوري للحفر الحاوية على الخلايا جميعها بمقدار 100 مايكروليتر لكل حفرة.

الفصل الثالث :- المواد وطرائق العمل

4. أعيد الطبق مرة ثانية إلى الحاضنة لمدة 20 دقيقة، بعدها اخرج الطبق وأزيلت محتوياته وغسلت الخلايا بالماء لحين زوال الصبغة الزائدة، إذ ان الخلايا الحية تأخذ الصبغة اما الميتة فلا تأخذها.

5. قرأت النتائج باستخدام جهاز الاليزا بطول موجي 492 نانوميتر.
تم حساب نسبة التثبيط حسب المعادلة:

النسبة المئوية لتثبيط الخلايا= (قراءة امتصاصية خلايا السيطرة- قراءة امتصاصية الخلايا المعاملة لكل تركيز/ قراءة امتصاصية خلايا السيطرة)×100

9-3 التحليل الاحصائي

تم تحليل النتائج إحصائيًا باستخدام برنامج التحليل Graph Pad Prism الاصدار 6 واختبار تحليل (One-way Anova) تم مقارنة المتوسطات مع تجربة Duncan Multiplex مع اختلافات معنوية عند مستوى احتمال $P \geq 0.05$.

الفصل الرابع النتائج والمناقشة

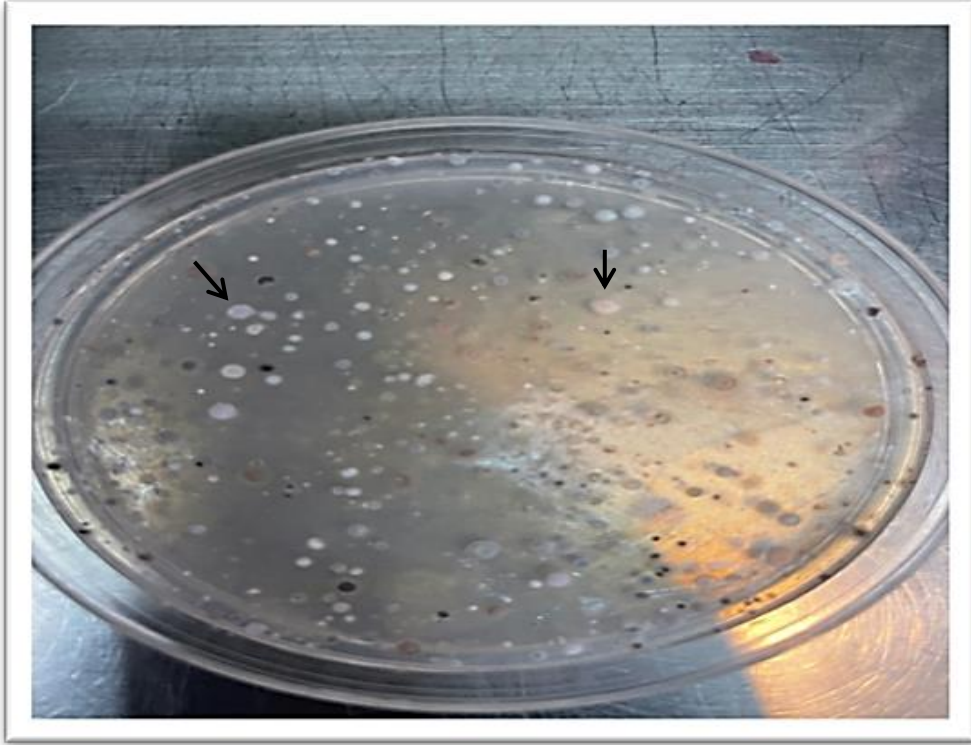
Results and Discussion

1-4 عزل البكتيريا من التربة Isolation of Bacteria from Soil

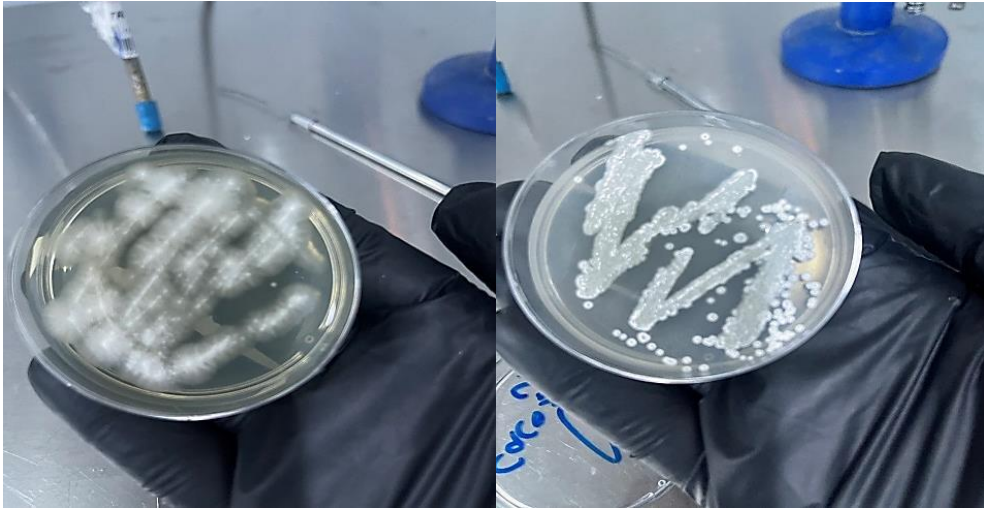
تم استخدام 35 عينة من التربة من مواقع مختلفة في ميسان لعزل بكتيريا النوكارديا *Nocardia* باستخدام وسط Humic acid VB حيث يعتبر هذا الوسط مناسباً لنمو واستخلاص النوكارديا حيث يدعم نمو البكتيريا بصورة جيدة وكذلك نمو السبورات و تم تطوير هذا الوسط كمصدر وحيد للنيتروجين والكاربون وان هذا الوسط المغذي لوحظ تفوقه على بقية الاوساط حيث يسمح بعزل اكبر عدد من بكتيريا الاكتينو *Actino* مثل بكتيريا الـ *Nocardia* (Hayakawa and Nonomura, 1987).

تم وضع الأطباق في حاضنة عند درجة حرارة 30 درجة مئوية لمدة 14 يوماً. هذه الفترة الزمنية كانت مهمة لنمو وتكاثر النوكارديا على سطح الوسط. تمت مراقبة الأطباق بانتظام للتحقق من وجود نمو بكتيريا النوكارديا. بعد فترة النمو، لاحظت أن المستعمرات كانت مختلفة في العدد واللون. تم العثور على عدد كبير من المستعمرات في تخفيف رقم 2، والتي كانت تتميز بشكل (15).

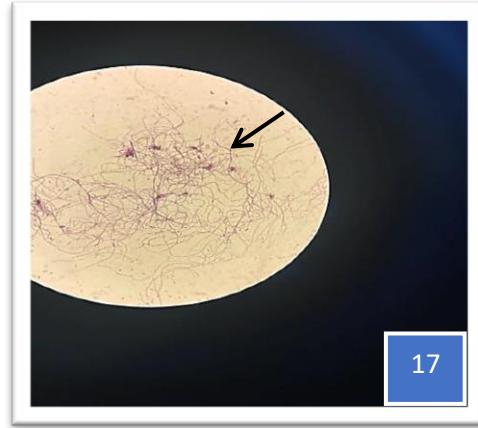
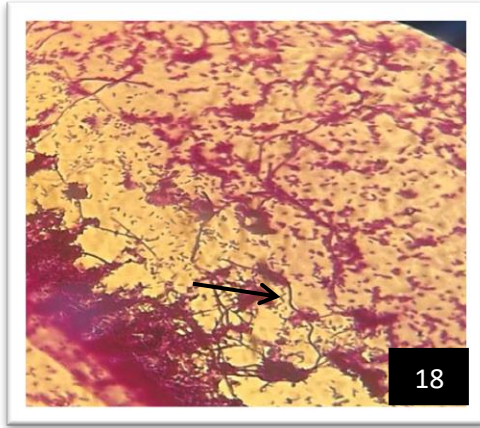
وقد تنوعت المستعمرات في الملمس من خشنة إلى ناعمة، وكذلك في اللون من الأبيض إلى اللون الأصفر. يشير الباحثون Adıgüzel وآخرون (2018) إلى أن المستعمرات تظهر عادة بلون أبيض وتأخذ شكل مسحوق ناعم المظهر شكل (16). نتيجة الفحص المجهرى لبكتيريا النوكارديا تشير إلى أن البكتيريا هي موجبة لصبغة جرام وتظهر على هيئة خيوط شكل (18,17). وتم تحديد العزلتين الإيجابيتين لصبغة جرام وهما *Nocardia goodfellow* و *Nocardia asteroides*.



الشكل (15): شكل المستعمرة البكتيرية المعزولة على وسط
Humic acid VB agar



الشكل (16) : لون وملامس المستعمرة البكتيرية المعزولة على وسط Humic acid



الشكل 17 :-الفحص المجهرى لبكتريا *Nocardia asteroides*

الشكل 18 : الفحص المجهرى لبكتريا *Nocardia good fellow*

2-4 الاختبارات الكيموحيوية Biochemical Tests

توضح نتائج الفحص الكيمو حيوي أن العزلات , *Nocardia asteroides* , *Nocardia goodfellow* تتطابق مع ما ذكر في (Williams, 1989). التي بينت ان بكتريا *Nocardia asteroides* كانت موجبة للفحوصات ,, Catalase ,, Starch, Urease وسالبة لفحصي Tyrosine, Casein بينما اظهرت النتائج ان بكتريا *Nocardia goodfellow* كانت موجبة للفحوصات Tyrosine, Casein, Urease ,, Catalase ,, وسالبة لفحص Starch.

1-4 جدول الاختبارات الكيموحيوية لبكتيريا *Nocardia Asteroides*, *Nocardia good fellow*

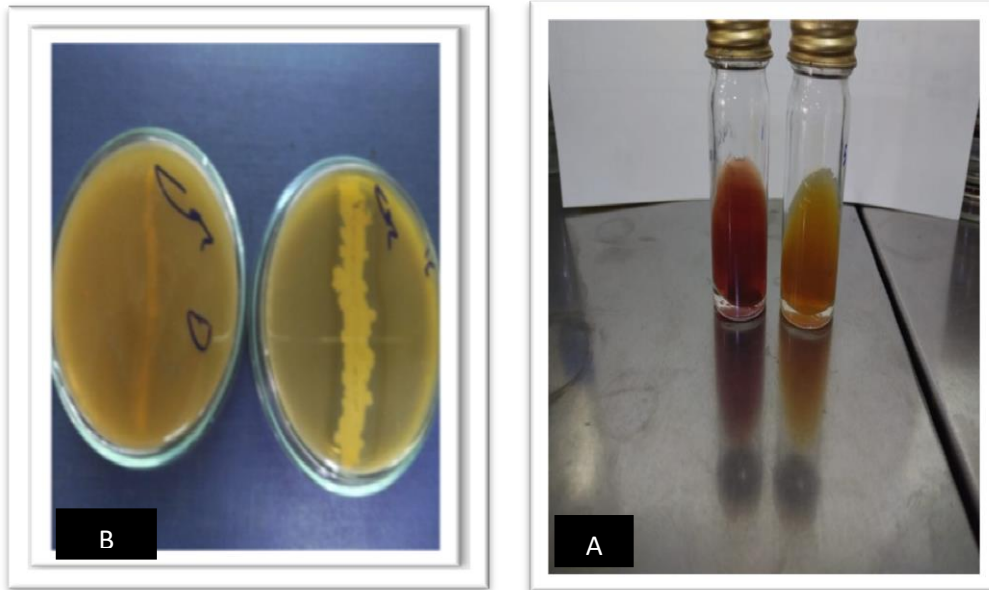
اختبار تحطم Starch	اختبار تحطم Tyrosine	اختبار تحطم Casein	اختبار Catalase	اختبار Urease	الاختبارات الكيميائية
-	+	+	+	+	Nocardia good fellow
+	-	-	+	+	Nocardia asteroids

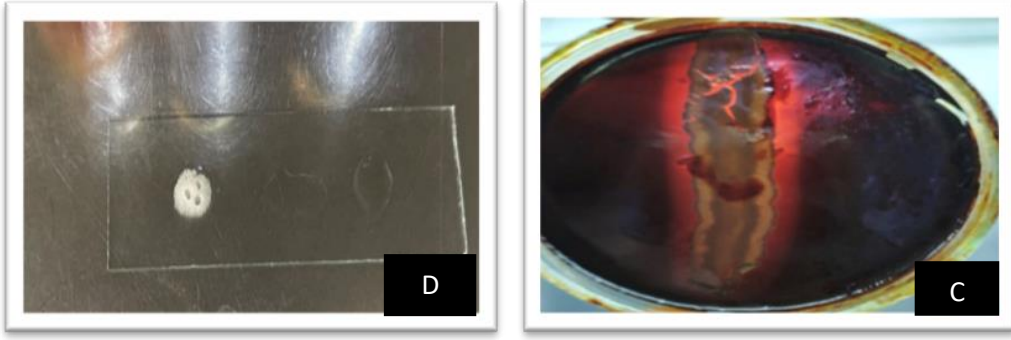
الفصل الرابع :- النتائج والمناقشة

تبينت النتائج ان بكتريا *Nocardia Asteroides*, *Nocardia good fellow* موجبة لأختبار الكاتاليز وذلك بظهور فقاعات والتي تنتج بفعل أنزيم الكاتاليز الذي يحول بيروكسيد الهيدروجين الى اوكسجين وماء

واعطت نتيجة موجبة لفحص *Urease* وهو يعني ان البكتريا قادرة على تحلل اليوريا بالماء لإنتاج الأمونيا وثاني أكسيد الكربون,

اعطت *Nocardia asteroid* نتيجة سالبة لفحص الكازين وهو يعني عدم قدرة البكتريا على تحلل بروتين الكازين بينما اعطت *Nocardia good fellow* نتيجة موجبة لاختبار الكازين وهو يعني قدرة البكتريا على تحلل بروتين الكازين وكذلك اعطت *Nocardia asteroides* نتيجة موجبة لاختبار النشا وهو يبين قدرة البكتريا على تحلل النشا بناءً على نشاط إنزيم ألفا أميليز ونتيجة سالبة لاختبار *Tyrosine* و هو عدم قدرة البكتريا على تحلل الأحماض الأمينية إلى منتجات معينة بينما اعطت بكتريا *Nocardia good fellow* نتيجة موجبة لاختبار *Tyrosine* وسالبة لاختبار النشا شكل (19)





شكل 19 :- يوضح الاختبارات الكيموحيوية حيث ان A يمثل اختبار اليوريا لبكتريا *nocardia* و *asteroides* B يمثل اختبار الكازين و C تمثل اختبار النشا & D تمثل اختبار الكاتاليز

3-4 التشخيص بواسطة تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل *Diagnosis by polymerase chain reaction technology*

أكدت نتائج الترحيل الكهربائي لاستخراج الحمض النووي الجينومي وجود الحمض النووي في عزلتين فقط من جميع العزلات التي تم جمعها من التربة قيد الدراسة شكل (20) و تم تأكيد تضخيم الحمض النووي بإستعمال تقنية PCR وبأحجام 1300 زوج قاعدة نثروجينية (Base pairs, bp) و 570 زوج قاعدة نيثروجينية وبإستعمال البادئات SRNA (16, Nocardia primer) تم استخدام برنامج BLAST لتحليل ومطابقة تسلسل الحمض النووي و نتائج العزلات مع سلاطاتها المرجعية في بنك الجينات. تم إدراج عينتين فقط في هذه الدراسة، حيث تم فحص العينات لتحديد التسلسل الجزئي لـ 16SRNA في النوكارديا.

باستخدام تحليل تسلسل S RNA16، يمكن وصف تلك العينات بشكل أفضل نظرًا لقدرتها المحتملة على التكيف مع التنوع الجيني المتغير كما هو مشاهد في البكتيريا المختلفة. بعد تنفيذ تفاعلات التسلسل، أظهرت النتائج هوية دقيقة بعد تحليلها باستخدام NCBI PCR لهذا الأمبليكون (Amplicon).

بالنسبة للأمبليكون الاول ، أظهرت محرك بحث NCBI BLASTn تشابهًا عاليًا في التسلسل بنسبة 99% بين العينات المتسلسلة والتسلسلات المستهدفة المرجعية لـ *Nocardia asteroides*. من خلال مقارنة تسلسل الحمض النووي المحدد لهذه العينات التي تم فحصها

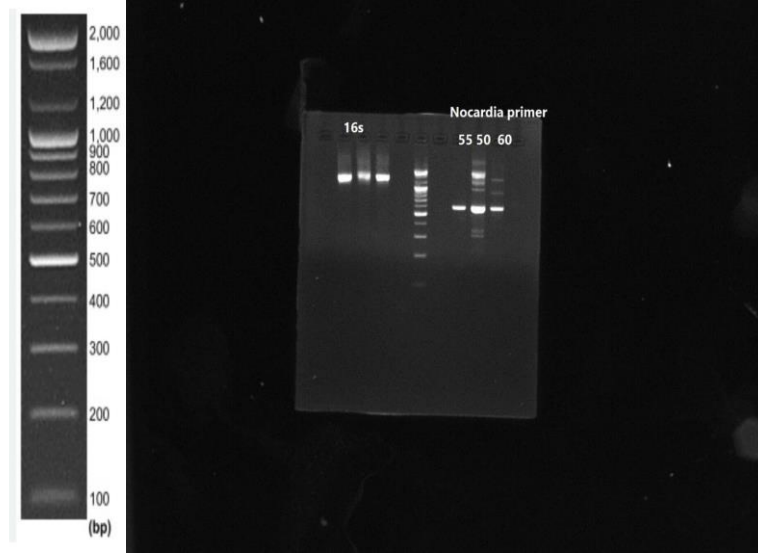
مع تسلسل الحمض النووي المسترجع لـ (*Nocardia asteroides* GenBank acc. MT355849.1) تم تحديد المواقع الدقيقة والتفاصيل الأخرى لقطع PCR المضخمة.

تم تحليل الطول الكلي للموقع المستهدف باستخدام خادم NCBI، وتم تأكيد مواقع الموقع المستهدف داخل الجين البكتيري المستهدف الأكثر تطابقاً. اتضح ان عزلة البكتريا *Nocardia asteroides* هي عزلة جديدة وتم تسجيلها في مركز NCBI تحت رقم ادخال OR625083 وسميت العزلة بأسم Sameh-S2.

بالنسبة للأمبليكون الثاني ، أظهر محرك بحث NCBI BLASTn تطابقاً تسلسلياً كاملاً بنسبة 100% بين العينات المتسلسلة والتسلسلات المستهدفة المرجعية لـ *Nocardia goodfellowii*.

من خلال مقارنة تسلسل الحمض النووي المحدد لهذه العينات التي تم فحصها مع تسلسل الحمض النووي المسترجع لـ (*Nocardia goodfellowii* GenBank acc. NR_109056.1) تم تحديد المواقع الدقيقة والتفاصيل الأخرى لشظايا PCR المستردة. تم تحليل الطول الكلي للموقع المستهدف باستخدام خادم NCBI، وتم تأكيد مواقع الموقع المستهدف ضمن الجين البكتيري المستهدف الأكثر تطابقاً.

بعد استخدام تقنية PCR لتكرار أمبليكونات الـ S-rRNA16 في *Nocardia asteroides* وتسلسلات *Nocardia goodfellowii*، تم تحليل وتوثيق التسلسلات المستردة. التفاصيل الخاصة بالتسلسلات وطول الأمبليكونات المضخمة يمكن العثور عليها شكل (21) . تم تسجيل تسلسلات الـ S-rRNA16 في قواعد البيانات التي تحمل الأرقام التسلسلية التالية: MT355849.1 و NR_109056.1



شكل (20) صورة الترحيل الكهربائي على جل الاكاروز 1% لمدة 45 دقيقة باستعمال (100-2000)

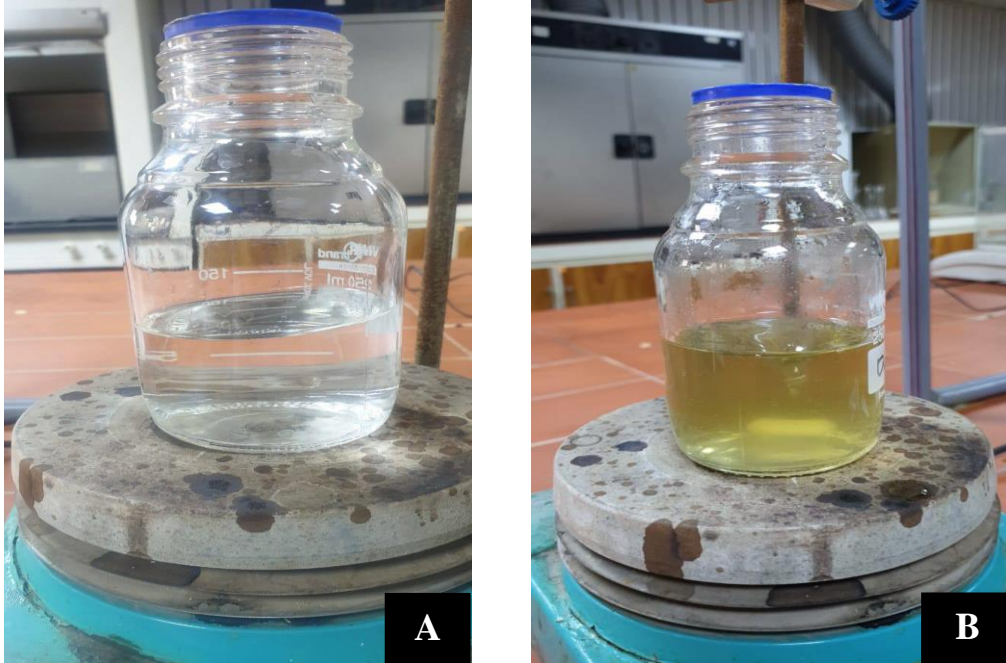
DNA ladder

4-4 التصنيع الحيوي لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية nanoparticles Au₂O₃NPs

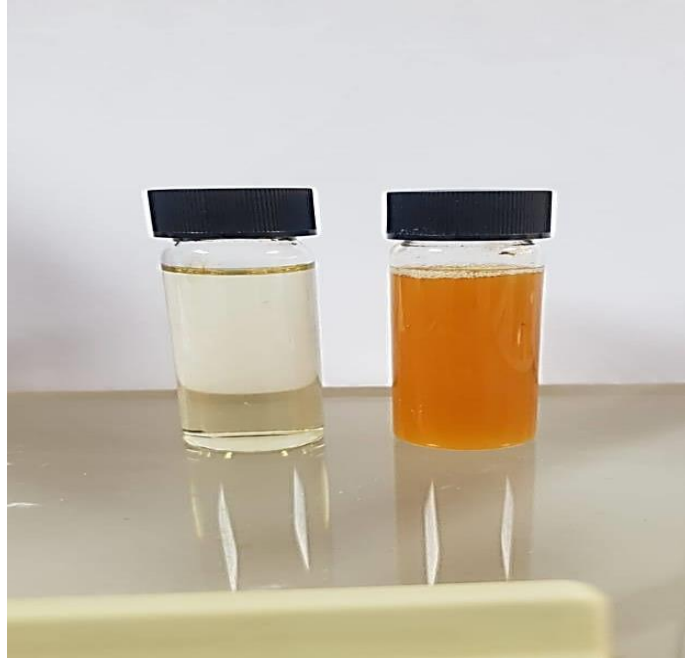
بعد انماء البكتريا المعزولة من التربة المختبرة في الوسط التخمري (Nutreint broth) والحصول على رواشح المزارع البكتيرية الخالية من الخلايا free cell extract تم استخدام هذه الرواشح البكتيرية للعزلتين والمشخصة جزئيا في التصنيع الحيوي لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية واطهرت ان عزلة واحدة فقط لها القابلية على تكوين جسيمات اوكسيد الذهب النانوية في درجات حرارة وفترات مختلفة.

بعد مزج المستخلص البكتيري الخالي من الخلايا مع محلول كلوريد الذهب أظهرت نتائج التصنيع الحيوي حدوث التغير اللوني بعد 45 دقيقة من اضافة مستخلص البكتريا الى كلوريد الذهب المذاب في ماء منزوع الايونات اذ تغير اللون من اللون الابيض الشفاف الى اللون الاصفر الفاتح شكل (21) مما يؤكد حدوث تفاعل بين المركبات الثانوية الفعالة في المستخلص البكتيري مع ملح كلوريد الذهب لحدوث عملية اختزال وتكوين الجسيمات النانوية وبعد مرور 48 ساعة تم ملاحظة تغيير اللون من الاصفر الفاتح الى البرتقالي شكل (22) اذ يعد التغير اللوني دليل اولي واضح على تكوين جسيمات اوكسيد الذهب النانوية وإيجابية التصنيع الحيوي الاخضر, ان التغييرات اللونية التي حصلت تعزى الى ظاهرة

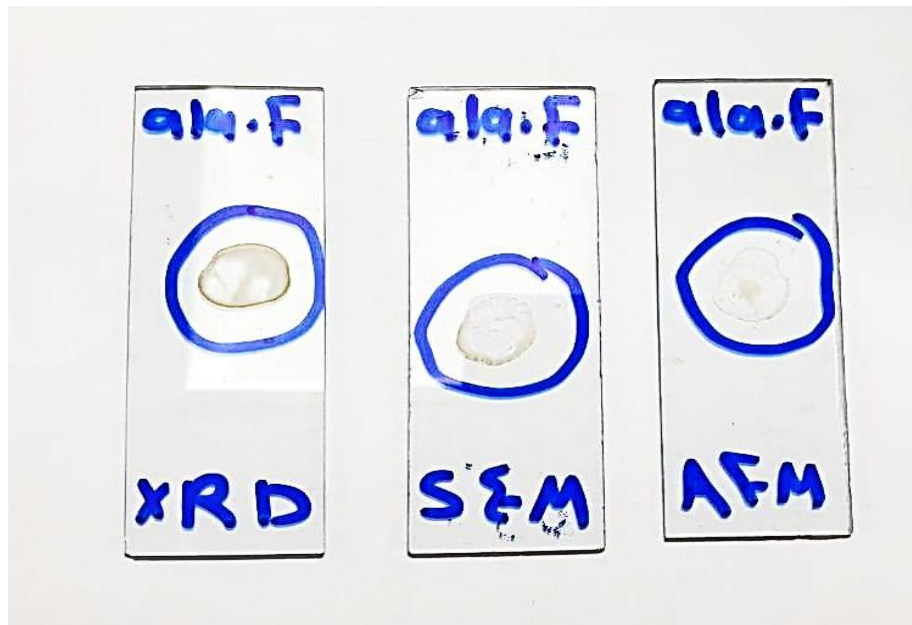
Plasmon Surface Resonance وتحدث الخاصية هذه في جزء من المعادن مثل الذهب والفضة وغيرها من المعادن وذلك بسبب تحول اقطار الجسيم المعدني الى الحجم النانوي حيث ان هذه الالوان المختلفة التي تحدث في المحلول هي اشكال كروية ودائرية ومثلثية وخماسية (Amendola et al., 2017; Roy et al., 2016; Yuan et al., 2019) تم إجراء العديد من الدراسات التي توضح أن تغيير ظروف التفاعل، مثل تركيز المحلول ومدة الحضانة والحرارة، تؤثر على سرعة التفاعل وشكل الجسيمات النانوية التي تتكون (Singh et al., 2018; Tao et al., 2008).



شكل 21: التغير اللوني من الابيض الشفاف الى الاصفر الفاتح لراشح مزرعة البكتيريا *Nocardia asteroid* بعد مرور 45 دقيقة من وقت التفاعل



الشكل 22: التغير اللوني من الابيض الشفاف الى البرتقالي لراشح البكتريا *Nocardia asteroid* بعد مرور 48 ساعة



الشكل 23 : يمثل عينات لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية بعد التجفيف لأجراء الفحوصات الفيزيائية

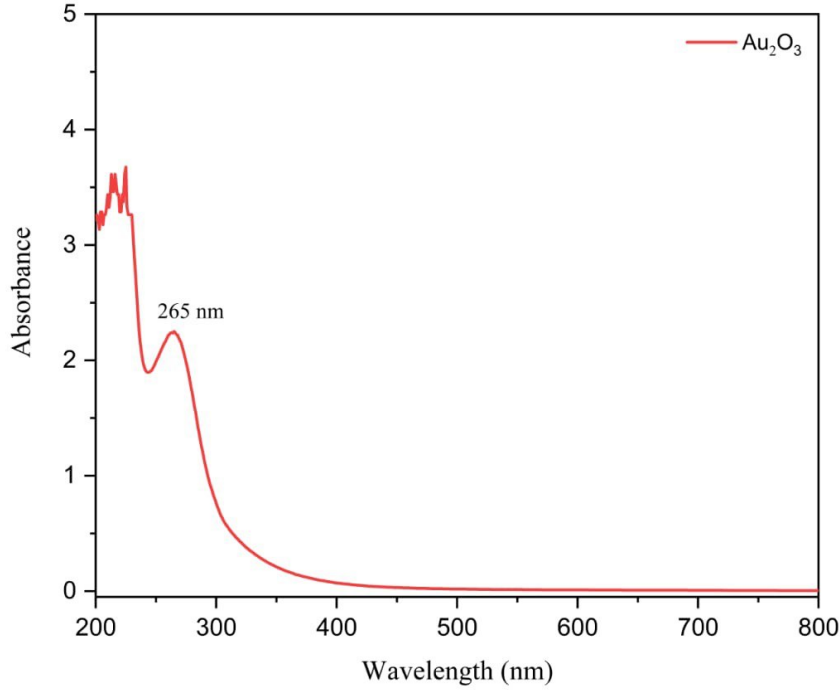
5-4 توصيف جسيمات اوكسيد الذهب النانوية nanoparticles

1-5-4 التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية UV-Visible

تم استخدام تقنية تحليل طيفي UV-Visible لقياس امتصاص الإشعاع الكهرومغناطيسي في نطاق فوق البنفسجي (UV) والمرئي (Visible) لمعرفة مدى امتصاص العينة للضوء في طول موجي محدد بين 200-800 نانومتر. يتم استخدام هذا النوع من التحليل لدراسة امتصاص الإلكترونات في المواد، ويعتمد على قدرة العينة على امتصاص أو فقدان الطاقة عند ترددات محددة.

في سياق استخراج ذرات أوكسيد الذهب باستخدام البكتيريا، الهدف هو تحويل معدن الذهب المتواجد في المواد الخام إلى ذرات أوكسيد الذهب باستخدام عمليات حيوية مثل الاستخلاص البيولوجي. تم في هذه الدراسة استخدام بكتيريا النوكارديا للقيام بهذا الغرض. تعرف هذه الذرات الصغيرة بالنانو ذرات وتتمتع بخصائص مميزة يمكن استغلالها في مجموعة متنوعة من التطبيقات، بما في ذلك التطبيقات الطبية مثل القضاء على البكتيريا والخلايا السرطانية تم إجراء تحليل طيف الامتصاص للمادة الخام (الملح) والمستخلص وذرات أوكسيد الذهب شكل (24).

وظهر انحراف في قمة الامتصاص نحو الأطوال الموجية القصيرة، وتحديدًا في منطقة الأشعة فوق البنفسجية، عند الأطوال الموجية 306 نانومتر، 296 نانومتر، و 265 نانومتر. هذه القراءات تشير إلى زيادة امتصاص الضوء في المنطقة القصيرة من الأطوال الموجية نتيجة للانتقالات الإلكترونية في ذرات أوكسيد الذهب. وظهر قمة الامتصاص عند الطول الموجي 265 نانومتر يشير إلى وجود ذرات أوكسيد الذهب التي تعاني من تأثير الحجم الكمي، مما يؤثر على سلوكها البصري ويجعلها تمتص الضوء في هذه المنطقة. يمكن أن يكون لتأثير الحجم الكمي تأثير كبير على الخصائص البصرية والإلكترونية للمواد النانوية، مما يجعلها مثيرة للاهتمام في مجالات مثل النانو تكنولوجيا والمواد المتقدمة والمجالات الطبية. (Ahmed & Mohammed, 2020; Hu *et al.*, 2006).



شكل 24 : طيف الاشعة فوق البنفسجية لراشح البكتريا *Nocardia asteroid*

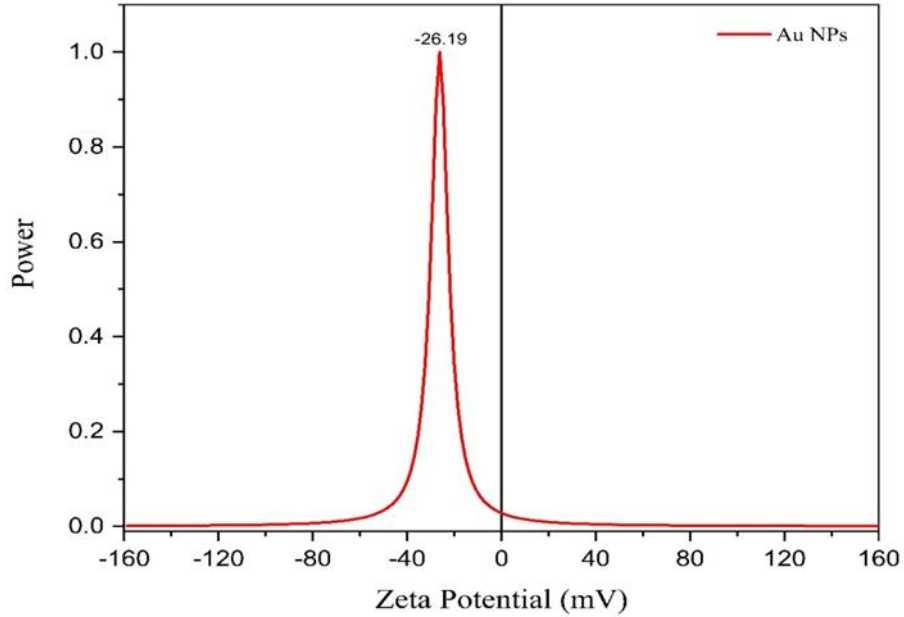
2-5-4 جهد زيتا Zeta Potential

جهد زيتا (Zeta potential) هو مقياس يُستخدم لتقدير الشحنة الكهربائية على سطح الجسيمات النانوية أو الكولويدات في السوائل. عند النظر إلى جسيمات اوكسيد الذهب النانوية، تظهر القيمة السالبة لجهد زيتا (26.19 ملي فولت) كإشارة على وجود شحنات سالبة على سطح هذه الجسيمات شكل (25).

تكون هذه الشحنات السالبة نتيجة تفاعل الجسيمات مع الأيونات في السائل المحيط بها، حيث تنزلق الأيونات ذات الشحنة السالبة (مثل أيونات الهيدروكسيد) نحو سطح جسيمات اوكسيد الذهب. وان جود الشحنة السالبة على سطح جسيمات اوكسيد الذهب يلعب دورًا أساسيًا في استقرار هذه الجسيمات في السائل. تعمل هذه الشحنات على تباعد الجسيمات ومنع تكتلها والترسيب في السائل.

هذا يحدث نتيجة للقوى الكهربائية المتنافرة التي تنشأ بين الجسيمات المشحونة بنفس الطريقة، حيث يتنافر المتشابهين بسبب الشحنات المماثلة على سطحهم.

علاوة على ذلك، تؤثر الشحنة السالبة على سطح جسيمات اوكسيد الذهب على تفاعلاتها مع الكائنات الحية مثل البكتيريا والخلايا. يمكن أن تؤدي هذه الشحنة إلى تأثير مختلف في التفاعلات مع هذه الكائنات بناءً على الشحنات السطحية والقوى الكهربائية المنافرة المشتركة بينهما. (Dhamecha *et al.*, 2015).



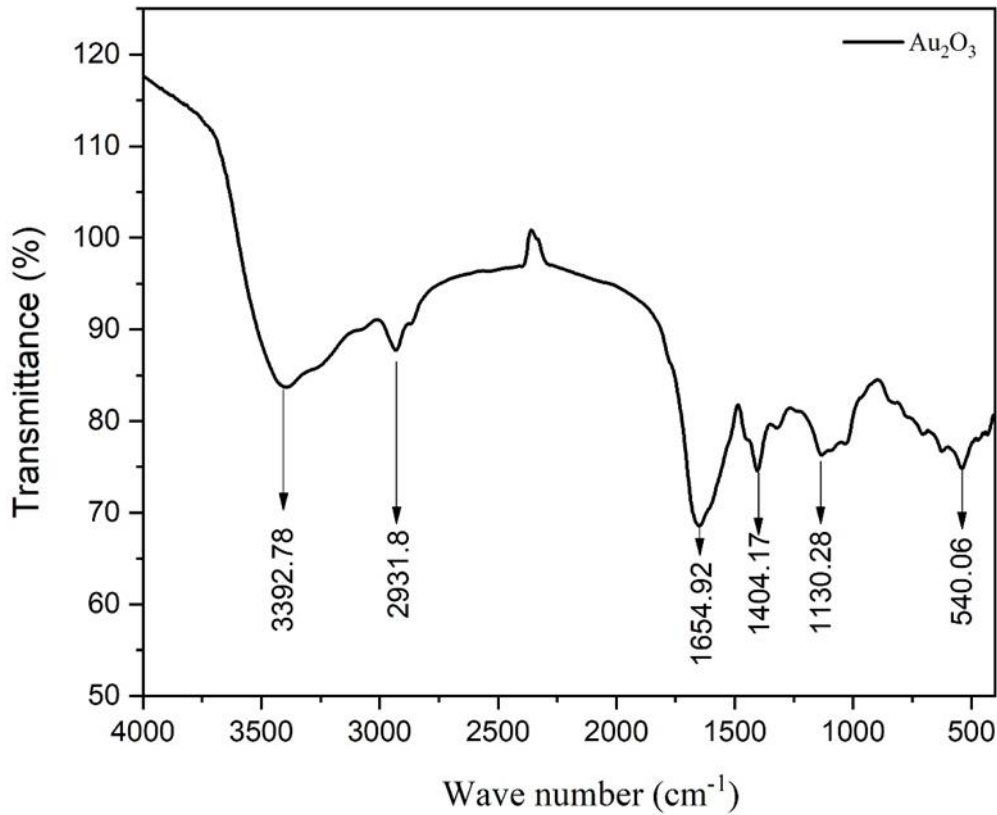
الشكل 25 : جهد زيتا لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية لراشح المستخلص البكتيري *Nocardia asteroid*

3-5-4 طيف الاشعة تحت الحمراء Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)

يُظهر طيف الأشعة تحت الحمراء (FTIR) لجسيمات اوكسيد الذهب المخلفة بواسطة راسح بكتريا *Nocardia asteroide*. تم تنفيذ طيف FTIR هنا لتحديد القمم والحزم الوظيفية والتي تعتبر بصمة ابهام لذرات اوكسيد الذهب النانوية تشير النطاقات العريضة لامتصاص الطاقة في المنطقة 3392.78 سم⁻¹ إلى وجود ترددات ممتدة لأوكسجين هيدروجين (O-H) والنطاقات الموجودة في المنطقة من 2931.8 سم⁻¹ تتوافق مع اهتزاز التمدد للرابطة C-H. اما القمة الموجودة في المنطقة 1654.92 سم⁻¹ يُعزى إلى وجود مجموعة الأמיד من تمدد الكربونيل (C=O).

بالإضافة إلى ذلك، النطاقات الموجودة في منطقة 1404.17 cm^{-1} و 1130.28 cm^{-1} تُعزى إلى اهتزاز تكوير C-O-H لاهتزازات الأحماض الكربوكسيلية وترددات انكسار C-O بالتتابع. النطاق الموجود عند 540 cm^{-1} هو نطاق ضعيف قد يشير إلى الاصرة (Au-O) وهو مشابه لنتائج الباحثين (Schwarzmann & Erika., 1971). تظهر دراسة طيف الأشعة تحت الحمراء لجسيمات أكسيد الذهب المخلفة باستخدام بكتريا النوكارديا محاطة ببعض البروتينات والمركبات الثانوية، مثل القلويدات التي تحتوي على مجموعات وظيفية مثل هيدروكسيل، أمينات، كحولات، فينول وأحماض الكربوكسيل.

استنادًا إلى نتائج طيف FTIR، تعتبر طريقة تخليق ذرات أكسيد الذهب النانوية باستخدام بكتريا النوكارديا من الطرق البسيطة والناجحة في الحصول على ذرات نانوية صغيرة الحجم وبالامكان استخدامها في جميع المجالات البيولوجية مثل قتل البكتريا وكذلك القضاء على الخلايا السرطانية. (Ahmed & Mohammed, 2020; Singh *et al.*, 2013)



شكل 26 : طيف الاشعة تحت الحمراء لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية المصنعة من بكتريا *Nocardia asteroide*

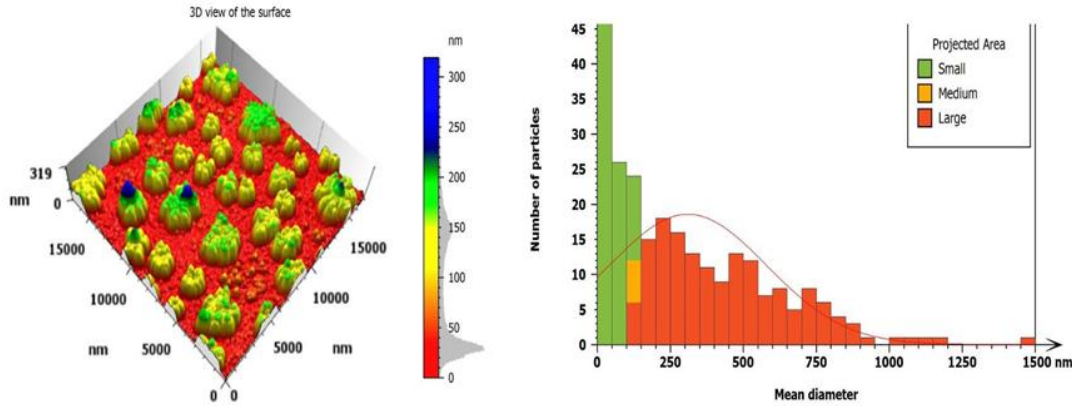
4-5-4 مجهر القوة الذرية (Atomic Force Microscopy - AFM)

تم دراسة سطح جسيمات أوكسيد الذهب باستخدام مجهر القوة الذرية (Atomic Force Microscopy - AFM) هي تقنية تستخدم لتحليل السطوح بدقة على المستوى الذري والجزيئي. تسمح هذه التقنية برؤية وتصوير الذرات والجزيئات على السطح بدقة فائقة، بحيث يمكن دراسة الخصائص التفاعلية والتركيبية للمواد بشكل مفصل. ويمكن الوصول إلى صور ثنائية وثلاثية الأبعاد للأسطح، وتحليل هذه الصور لفهم تفاصيل البنية والخصائص السطحية. يعتبر هذا النوع من التحليل الكمي مفيداً لدراسة وفهم السطوح وتطبيقاتها في مجالات مثل النانوتكنولوجيا والمواد الحيوية والإلكترونيات والطاقة وغيرها. (Salman & Abd, 2021). الشكل (27) يعرض لنا صور ثلاثية الابعاد لسطح ذرات أوكسيد الذهب. يحتوي سطح الذرات على ارتفاعات تتراوح ارتفاعها بين (56.1-319 نانو متر) وبمساحات يتراوح قطرها بين (24.7 – 1473 نانومتر) ومعدل قطر مساحة القم 309 نانومتر. ان سطح المادة يعتبر خشنا" بناء على صور مجهر القوة الذرية (AFM) لاحتواء على قمم ذات ابعاد مختلفة. يؤدي وجود خشونة سطح ذرات أوكسيد الذهب إلى زيادة فعالية قتل البكتيريا والخلايا السرطانية.

تعمل الخشونة على زيادة مساحة التفاعل بين الذرات والكائنات الحية، مثل البكتيريا والخلايا السرطانية، مما يسمح بمزيد من التفاعلات الكيميائية والتأثيرات العلاجية بفضل التضخيم السطحي الناتج عن الخشونة، يمكن للذرات التفاعل مع مزيد من الجزيئات والبنى الخلوية، مما يزيد من قدرتها على تحقيق تأثيرات علاجية قوية. كما تزيد الخشونة من القدرة على الالتصاق بالكائنات الحية المستهدفة، مما يسمح بتحقيق استهداف أكثر دقة للأماكن المرادة، مثل مناطق الإصابة بالسرطان أو العدوى.

ويجب الإشارة إلى أن الخشونة السطحية لذرات أوكسيد الذهب تزيد من الإجهاد الميكانيكي على البكتيريا والخلايا السرطانية، مما قد يؤدي إلى تلف الجدران الخلوية والغشاء الخارجي لهذه الكائنات، وبالتالي يؤدي إلى موتها

(Ono & Roldan Cuenya, 2008; Rutherford *et al.*, 2015)

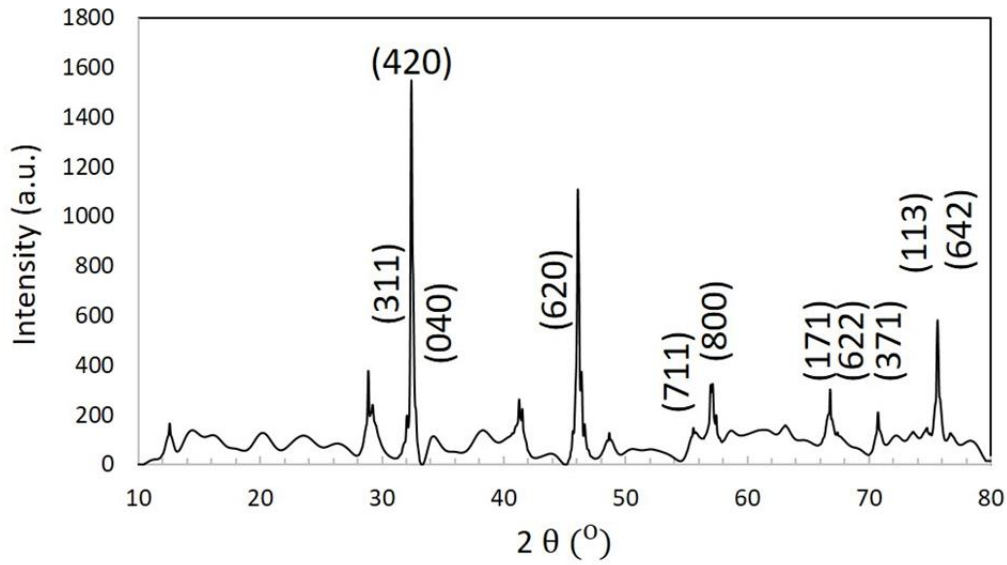


شكل (27): صور مجهر القوة الذرية الثلاثية الأبعاد ومخطط لمعدل قطر الارتفاعات لذرات الذهب
أوكسيد الذهب.

5-5-4 حيود الأشعة السينية X-ray diffraction

تم استخدام جهاز حيود الأشعة السينية (XRD) لدراسة البنية البلورية لذرات أكسيد الذهب النانوية التي تم تخليقها من بكتيريا النوكارديا. تم رصد زوايا الحيود التي تمثل الزوايا للذرات النانوية لأكسيد الذهب بالقيم 32.12، 32.41، 34.47، 45.7، 56.26، 57.24، 67.24، 67.96، 75.4، و 75.71 وهذه القيم تتطابق مع معامل ملر : (311)، (420)، (620)، (711)، (800)، (171)، (67.96)، (622)، (371)، (113)، و (642) على التوالي. والتي تتوافق مع الملف المرجعي JCPDS43-1039 نمط حيود الأشعة السينية (XRD) يبين أن جسيمات أكسيد الذهب التي تم تخليقها باستخدام الطريقة الخضراء لها هيكل بلوري مكعبي المعيني (Orthorhombic).

تعتبر هذه الجسيمات من أكسيد الذهب المصنعة نقية بسبب انتمائها جميعاً إلى قمم جسيمات أكسيد الذهب النانوي. يعني ذلك أنه تم تصنيع هذه الجسيمات باستخدام تقنيات محددة ومتقدمة للحصول على منتج نقي وخالي من الشوائب.



شكل 28 : نمط حيود الأشعة السينية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية المخلفة من *Nocardia asteroides*

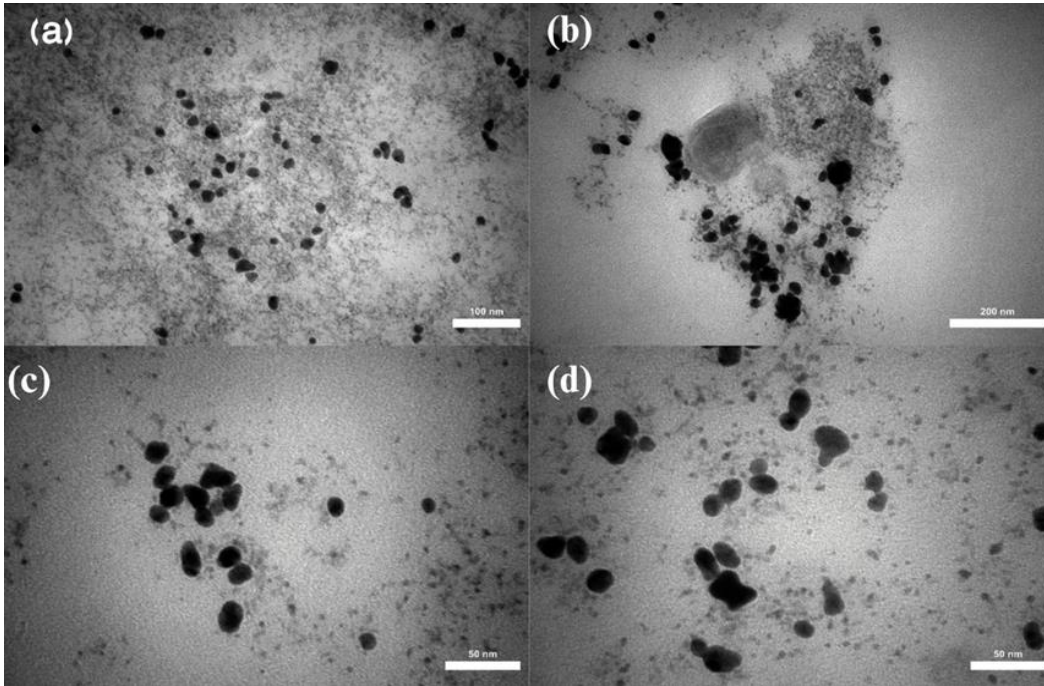
6-5-4 المجهر الإلكتروني النافذ Transmission Electronic Microscope

تم إجراء تحليل المجهر الإلكتروني النافذ لدراسة أشكال وتوزيع الحجم وحساب حجم جسيمات أكسيد الذهب النانوي. في الشكل رقم (29)، يُظهر المجهر الإلكتروني النافذ صور بمقاييس تكبير مختلفة للعينة التي تم تحضيرها من راشح بكتيريا *Nocardia asteroides*. ومن خلال صور المجهر الإلكتروني النافذ، تم ملاحظة وجود جسيمات صغيرة ذات لون داكن تشير إلى تكوين جسيمات أكسيد الذهب النانوي.

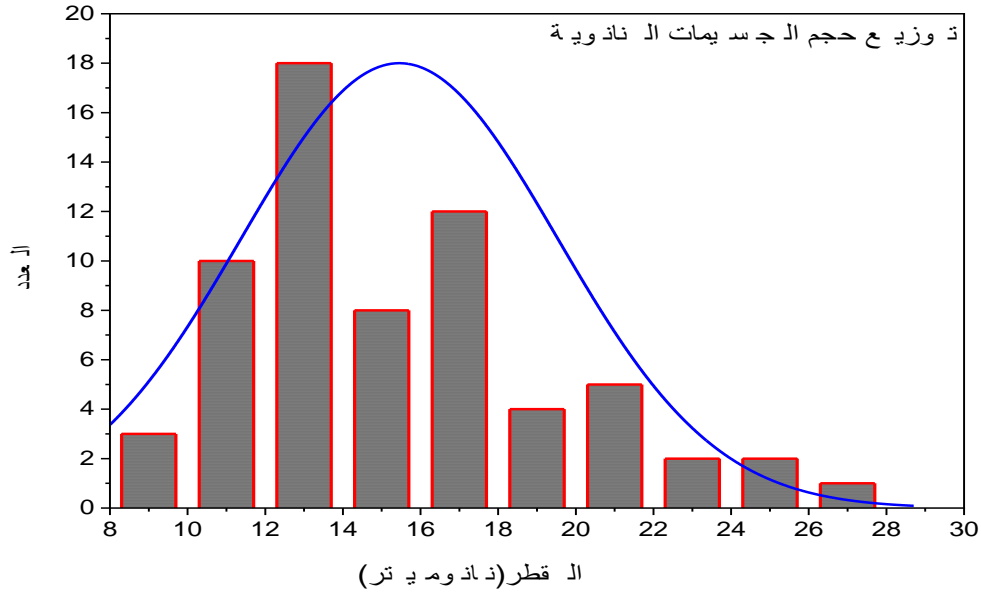
وتظهر معظم الجسيمات بشكل كروي وبعضها قريب من الشكل الكروي. وفي الشكل (29)، يلاحظ وجود جسيمات اوكسيد الذهب النانوية بأحجام مختلفة تتراوح بين 50-200 نانومتر و وفقاً لنتائج طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV)، يتوافق قيمة الطول الموجي مع حجم الجسيمات النانوية (Haiss *et al.*, 2007) تم ملاحظة أن الجسيمات الأصغر بحجم 50 نانومتر لها أشكال كروية تقريباً، في حين تعرض الجسيمات الأكبر بحجم 200 نانومتر مجموعة من الأشكال الهندسية مثل المثلثات والمثلثات المقطوعة والخماسيات والسداسيات. تُعتبر هذه الأشكال الهندسية نموذجية لجسيمات الذهب النانوية ومركباته (Jadoun *et al.*, 2021).

الفصل الرابع :- النتائج والمناقشة

تم استخدام برنامج التحليل IMAGE J لحساب أحجام الجسيمات من خلال قياس أقطارها. تم رسم توزيع الهستوغرام لأبعاد أقطار الجزيئات النانوية، وجاء متوسط قطر الجسيمات بحوالي 15.45 نانومتر كما هو موضح في الشكل (30)، حيث يوضح أن متوسط أقطار الجسيمات في هذا الشكل كان حوالي 12، 14، 15، 17، 19، و 23 نانومتر. لذلك قد تبين وجود جسيمات كروية بأحجام مختلفة تتراوح بين 12 و 23 نانومتر، وهذا يظهر تطابقاً مع نتائج المجهر الماسح الإلكتروني ويظهر أيضاً تحكماً دقيقاً في حجم وتوزيع الجسيمات في النانومتر (Said et al., 2019)



الشكل رقم (29): صور المجهر الإلكتروني النفوذي بمستويات تكبير مختلفة لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية لراشح البكتريا *Nocardia asteroides*.



شكل (30) : توزيع الحجم لجسيمات الذهب النانوية لراشح البكتريا *Nocardia asteroides*

7-5-4 المجهر الالكتروني الماسح للانبعاث المجالي Field emission Scanning EDX و Electronic Microscope

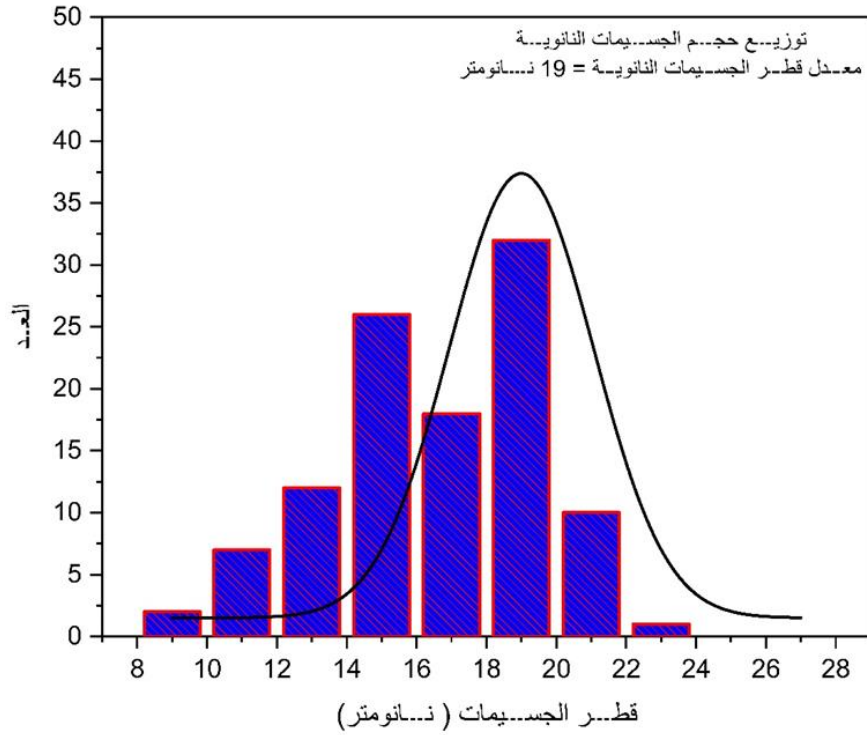
تم فحص التشكل السطحي والتركيبى والحجم والشكل لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية المخلقة من الرواشح المائية المستخلصة لبكتريا *Nocardia asteroides* المعزولة من التربة قيد الدراسة باستعمال المجهر الالكتروني الماسح.

تم التقاط صور بمقاييس تكبير مختلفة، وأظهرت جميع الصور تكوين جسيمات كروية من أوكسيد الذهب النانوي. تم استخدام برنامج Image J لتحليل حجم هذه الجسيمات النانوية من خلال رسم توزيع الهستوجرام histogram distribution للجسيمات وكما موضح في الشكل (31). حيث تم حساب متوسط قطر الجسيمات النانوية وجاءت القيمة النهائية لهذا القطر تبلغ ١٩ نانومتر ويُظهر هذا القطر النانوي الصغير تفسيراً متوافقاً مع نتائج تحليل الامتصاص الضوئي UV-Visible ، حيث تم رصد امتصاص الضوء في منطقة الأشعة فوق البنفسجية. هذا الامتصاص يتماشى مع صغر حجم جسيمات أكسيد الذهب النانوية ويشير إلى تفاعلها مع الإشعاع فوق بنفسجي (McCormick *et al.*, 2021)

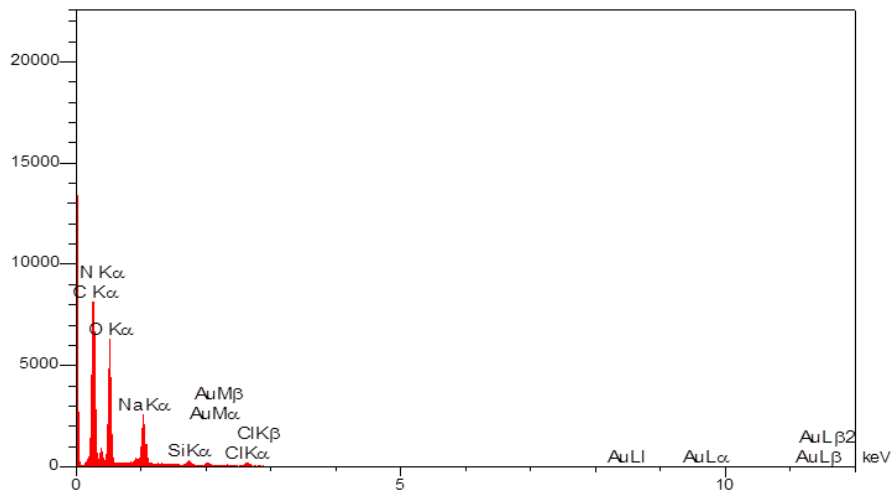
وظهر ايضا تحليل الاشعة السينية المشتتة للطاقة EDX عن قمم امتصاص بصرية حادة ومكثفة تكشف عن تأكيد وجود عنصر الاوكسجين لجسيمات اوكسيد الذهب وذلك من

الفصل الرابع :- النتائج والمناقشة

خلال اظهار اقوى إشارة بصرية الى جانب وجود معادن أخرى كالنيتروجين والكاربون وغيرها إذ تظهر البلورات النانوية لأكسيد الذهب المعدنية ذروة امتصاص بصرية قوية وهو امر نموذجي للامتصاص لبلورات الذهب النانوية ومركباته (Amendola et al., 2017).



الشكل (31): توزيع الهستوگرام لقطر جسيمات اوكسيد الذهب النانوية.

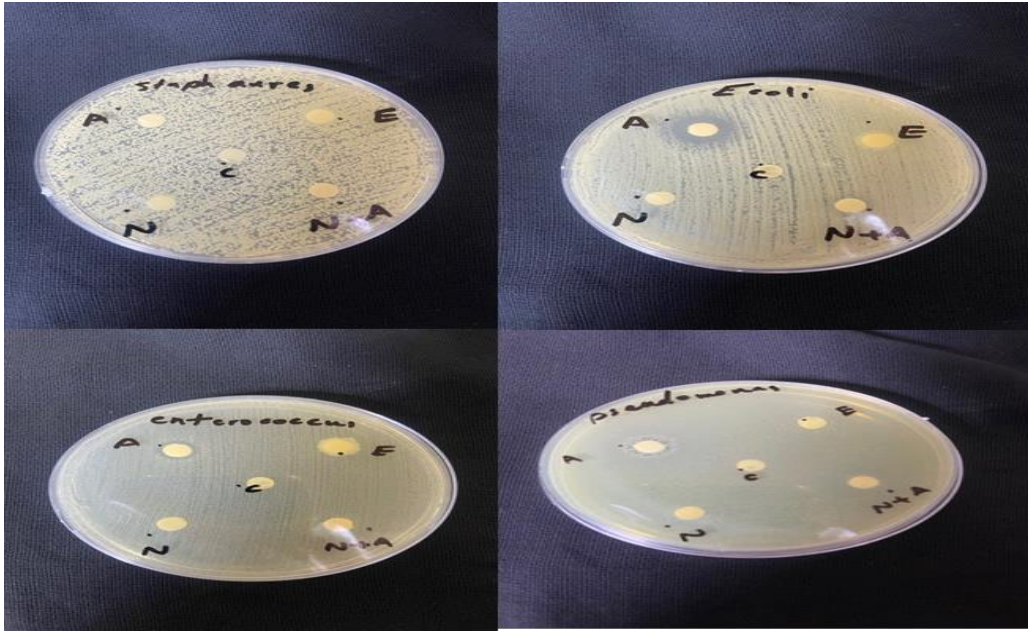


الشكل (32) : مخطط EDX لجسيمات الذهب النانوي المخلقة من راشح *Nocardia asteroides*

6-4 نشاط جسيمات أوكسيد الذهب النانوي المضاد للبكتريا Gold oxide nanoparticles' antibacterial activity

في هذه الدراسة تم اجراء الفحص بطريقتين هم طريقة انتشار الاقراص و طريقة التخفيف ولم تظهر الجسيمات اوكسيد الذهب النانوية في الدراسة اي فعالية تثبيطية اتجاه العزلات البكتيريا المختبرة وهي

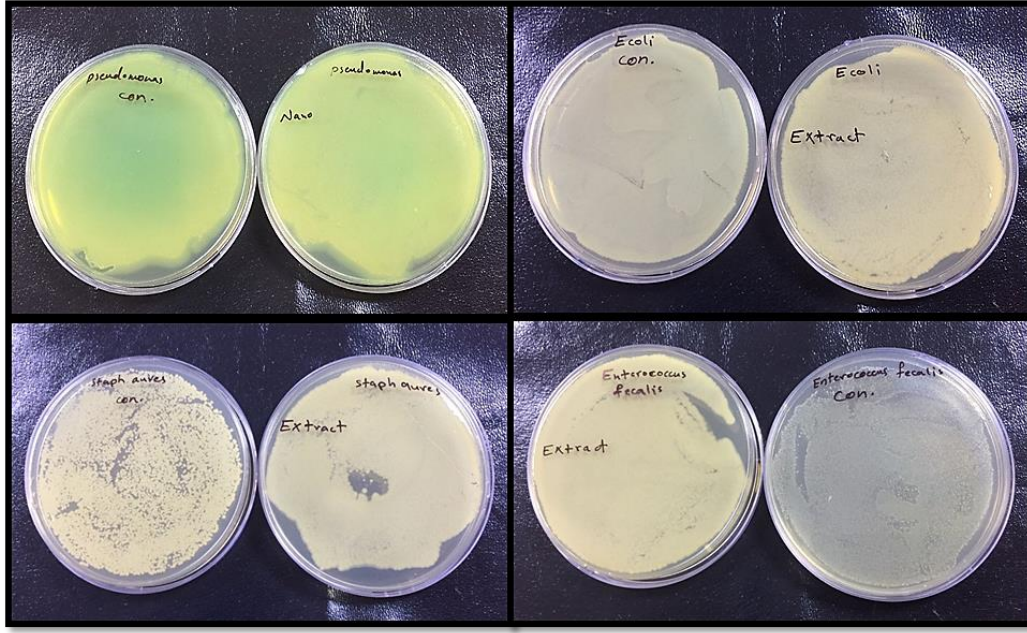
(*Staphylococcus aureus* ,*E.coli*, *Pseudomonas*, *Enterococcus aureus*)



الشكل (33) : النشاط المضاد لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية (طريقة النشر بالاقراص) ضد بكتريا

Staphylococcus aureus, *E.coli*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*

N:nano , A: antibiotic , c: control



الشكل (34): النشاط المضاد لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية (طريقة التخفيف) ضد بكتريا *Pseudomonas*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*

7-4 السمية الخلوية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية على السرطان و خطوط الخلايا الطبيعية Cytotoxicity of gold oxide nanoparticles on cancer and normal cell lines

تم استخدام طريقة اختبار (Freshney, 2015) لتقييم سمية التراكيز المختلفة من جسيمات اوكسيد الذهب النانوية ضد خلايا سرطان الثدي MCF-7، خلايا سرطان الكبد HepG2، و خطوط الخلايا الطبيعية لجنين الفأر MEF.

تم استخدام جسيمات اوكسيد الذهب النانوية المخلقة حيويًا من راسح البكتيريا *Nocardia asteroides* لتقييم النشاط المضاد للسرطان. تم استخدام ستة تراكيز مختلفة لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية في كل عينة وهي (6.25، 12.5، 25، 50، 75، 100) ميكروغرام لكل مل، وتم تكرار القياسات لنسب التنشيط في خلايا MCF7 بتأثير تراكيز مختلفة من النانو لمدة تعرض 24 ساعة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لثلاثة مكررات. أظهر الجدول (2-4) أن مادة جسيمات اوكسيد الذهب النانوية لها تأثير مثبط لنمو الخلايا السرطانية لخط MCF-7 بدءاً بتركيز 6.25 ميكروجرام/مل، حيث بلغت نسبة التنشيط 21.17%، وارتفعت هذه النسبة إلى 33.65% و 35.70% و 52.34% و 60.29%

الفصل الرابع :- النتائج والمناقشة

و89.00% للتراكيز 12.5 و 25 و 50 و 75 و 100 ميكروجرام/مل على التوالي . تشير النتائج التي تم الاشارة إليها إلى أن سمية جسيمات الذهب النانوية المخلفة حيويًا تزداد مع زيادة التركيز.

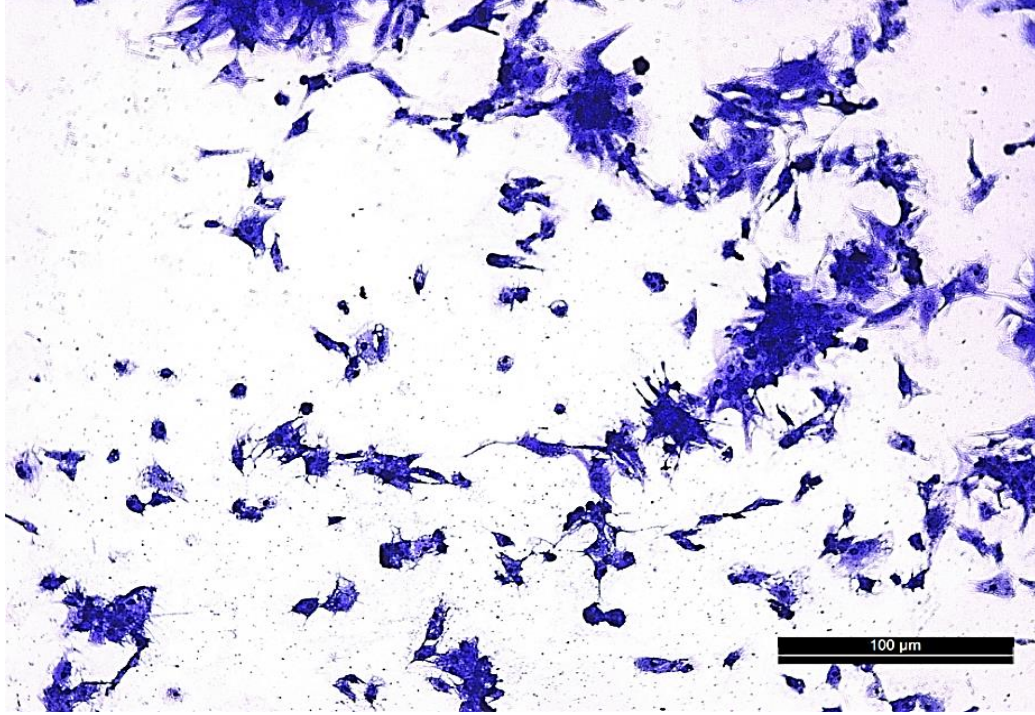
وهذه النتيجة تتفق مع دراسة (Clarance *et al.*, 2020)، حيث أثبتت أن جسيمات الذهب النانوية المشتقة من الفطر *Fusarium solani* لها القدرة على تثبيط خلايا سرطان الثدي بناءً على تركيزها. تم التوثيق في دراسة (Abdullah & Mohammed, 2020) أن خط الخلايا PC-3 أظهر موتًا كبيرًا للخلايا عند تعرضها لتركيزات عالية من جسيمات الذهب النانوية (AuNPs).

ووجدت دراسة (El Domany *et al.*, 2018) أن تركيزات مختلفة من جسيمات الذهب النانوية (AuNPs) تسبب تأثيرات سامة على خطوط خلايا أخرى وأشارت إلى أن AuNPs المُصنَّعة حيويًا كانت أكثر سمية للخلايا من تلك التي تم تصنيعها كيميائيًا. وأكدت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين التراكيز المختلفة.

جدول 2-4 نتائج التحليل الاحصائي لتراكيز خط خلايا الكبد السرطانية

Standard deviation. inhibition ratio100%	Con . µg/ml
1.0 ± 21.17 f	6.25
1.1 ± 33.65 e	12.5
1.2 ± 35.70 d	25
1.2 ± 52.34 c	50
1.3 ± 60.29 b	75
2.1 ± 89.00 a	100

تشير الحروف المختلفة في نفس العمود إلى وجود فروق ذات دلالة إحصائية عند مستوى (P≤0.05).

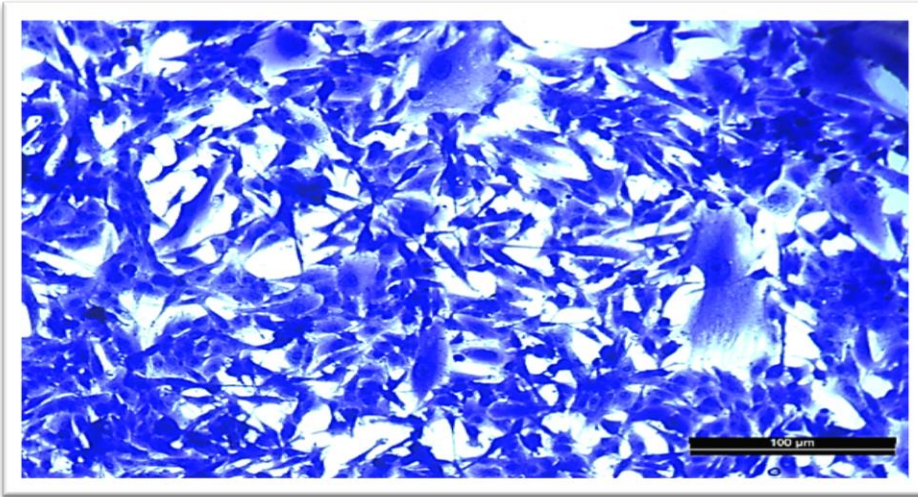


شكل (36): تم استخدام خط الخلايا MCF7 بتركيز 100 ميكروغرام من جسيمات اوكسيد الذهب النانوية المصبوغة بصبغة الكريستال البنفسجي.

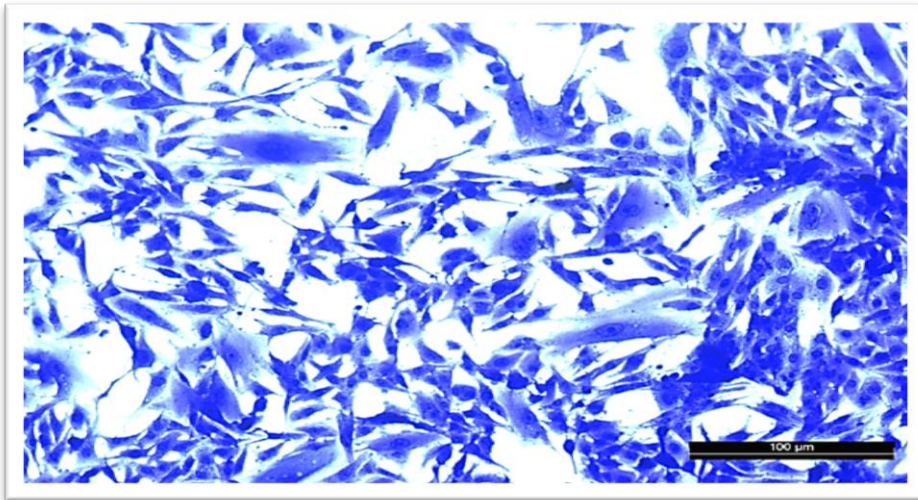
اما خلايا سرطان الكبد فأن مادة جسيمات اوكسيد الذهب النانوية لها تأثير مثبط بدءاً من تركيز 6.25 حيث كان معدل التثبيط 35.82% وازدادت نسبة التثبيط الى 78.20 % عند اعلى تركيز وهو 100 ميكروجرام / مل وكدت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين التراكيز.

جدول 3-4 نتائج التحليل الاحصائي لتراكيز خط خلايا الثدي السرطانية

Standard deviation. inhibition ratio100%	Con . µg/ml
1.0 ± 35.82 d	6.25
1.2 ± 53.22 c	12.5
1.3 ± 65.92 b	25
2.1 ± 67.94 b	50
2.1 ± 77.66 a	75
2.3 ± 78.20 a	100



الشكل (37) : خط خلايا HepG2 بتركيز 100 غير معاملة بجسيمات اوكسيد الذهب النانوية و مصبغة بصبغة crystal violet

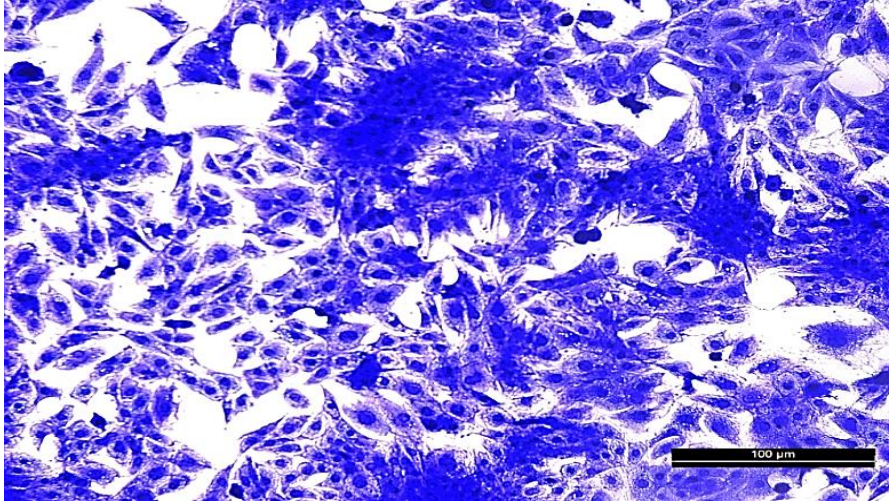


الشكل (38) : خط خلايا HepG2 معاملة بجسيمات اوكسيد الذهب النانوية و مصبغة بصبغة crystal violet

تم ملاحظة أن خلايا MEF (الخلايا الطبيعية لجنين الفأر) أظهرت نتائج أقل سمية بالمقارنة مع خلايا السرطان عند تعرضها لجسيمات أكسيد الذهب النانوية. في التركيز 6.25 ميكروجرام/مل، كان معدل التنشيط لخلايا MEF يبلغ 5.12٪، ولكن زادت نسبة التنشيط إلى 51.34 ٪ عند تركيز الجسيمات 100 ميكروجرام/مل.

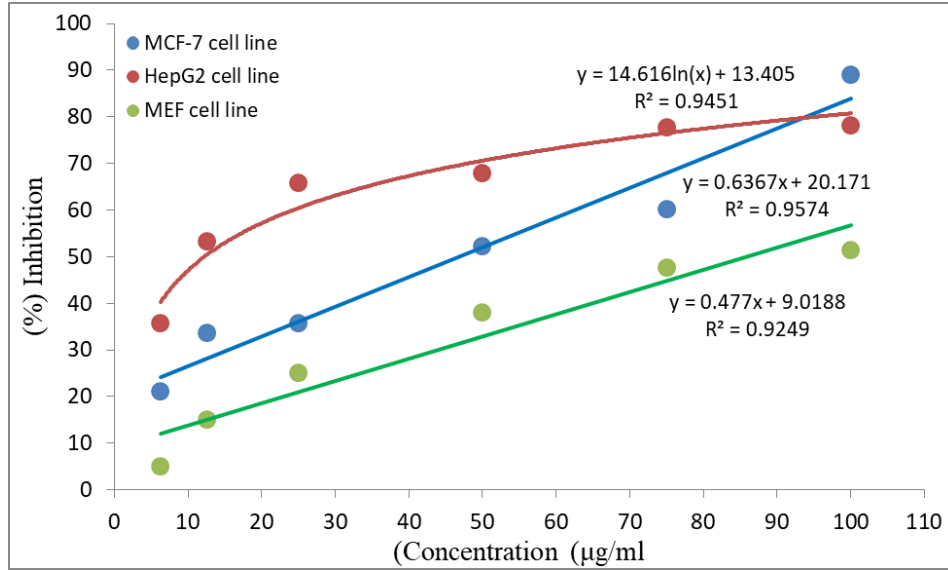
جدول 4-4 نتائج التحليل الاحصائي لتراكيز خط خلايا MEF الطبيعية

Standard deviation. inhibition ratio100%	Con . µg/ml
1.0 ± 05.12 e	6.25
1.2 ± 15.10 d	12.5
1.3 ± 25.02 c	25
1.2 ± 37.96 b	50
1.2 ± 47.76 a	75
1.3 ± 51.34 a	100



شكل (39) : خط الخلايا MEF بتركيز 100 ميكروغرام من جسيمات اوكسيد الذهب النانوية المصبغة بصبغة الكريستال البنفسجي.

تشير النتائج الى أن الفعالية السمية لجسيمات أوكسيد الذهب النانوية اتجاه خلايا الكبد كانت أعلى بالمقارنة مع خلايا سرطان الثدي والخلايا الطبيعية. حيث كانت قيمة IC_{50} لخلايا سرطان الكبد 12.22، بينما كانت قيمتها لسرطان الثدي 46.84 وللخلايا الطبيعية 85.91. هذا يشير إلى أن سمية جسيمات أكسيد الذهب النانوية اتجاه الخلايا الطبيعية هي ضعيفة جداً، أي أنها تؤثر بشكل أقل على هذه الخلايا مقارنة بالخلايا السرطانية.



شكل (40) : منحنيات IC₅₀ لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية لخلايا HepG2 , MCF7, MEF

ان السمية الخلوية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية فعالة في هذه الدراسة بسبب صغر حجم الجسيمات النانوية حيث تشير الدراسات المتعددة إلى أن فعالية الجسيمات النانوية الذهبية في القضاء على الخلايا السرطانية تزداد عندما يكون حجم الجسيمات أصغر. فعامل صغر حجم الجسيمات النانوية يعتبر عاملاً مهماً في تسببها في موت الخلايا السرطانية (Yang *et al.*, 2019; Ismail *et al.*, 2018 ;Choi *et al.*, 2014)

تتوافق نتائج فعالية جسيمات اوكسيد الذهب النانوية ضد سرطان الكبد في الدراسة الحالية مع الدراسة التي أجريت (Rajeshkumar, 2016), واستخدمت خطوط خلايا HepG-2. أظهرت الدراسة أن جزيئات الذهب النانوية تمتلك نشاطاً ساماً جيداً ضد الخلايا السرطانية وأن التركيز يلعب دوراً هاماً في النشاط المضاد للسرطان. توصلت الدراسة إلى أن أفضل تأثير مثبت للنمو السرطاني تم تحقيقه عند تركيز 100 ميكروجرام، تليها 50 ميكروجرام ، 25 ميكروجرام و10 ميكروجرام كأدنى تركيز مثبت للنمو السرطاني.

لُوَظَ أن جسيمات أوكسيد الذهب النانوية تتمتع بفعالية قوية في السمية الخلوية ضد خطوط الخلايا السرطانية عند تراكيز متفاوتة. ومن الجدير بالذكر أن نسبة السمية الخلوية على الخلايا الطبيعية كانت ضئيلة جداً وتوافقت هذه النتائج مع دراسة (Malaikolundhan *et al.*, 2020) التي أظهرت تثبيطاً كبيراً لجسيمات الذهب النانوية ضد خطوط MCF-7

وPC-3 ولم تؤثر على خلايا MCF-10 الطبيعية. حيث ثبتت الدراسات أن بعض الجسيمات النانوية الأخرى لها سمية خلوية انتقائية تجاه بعض خلايا السرطان. على سبيل المثال، في دراسة قام بها (Ahamed *et al.*, 2013) تبين أن جسيمات أكسيد الحديد (Fe_3O_4) النانوية قادرة على قتل خلايا السرطان (A-549 و HepG2) دون التأثير على الخلايا السليمة مثل خلايا الكبد للجرذان والبشر وخلايا الألياف الرئوية IMR-90. يتم تفسير زيادة السمية الخلوية للجسيمات النانوية ضد الخلايا السرطانية عن الخلايا الطبيعية بسبب امتصاصها العالي لهذه الجسيمات مقارنةً بالخلايا الطبيعية. يعتقد أن الخلايا السرطانية تعاني من استقلاب غير طبيعي ونمو سريع، مما يجعلها أكثر عرضة للأضرار (Khorrami *et al.*, 2018; Pucelik *et al.*, 2022).

لوحظ في هذه الدراسة أن خط خلايا الكبد HepG2 كانت أكثر مقاومة بقيمة IC_{50} من خط خلايا الثدي MCF7. يمكن أن يعزى ذلك إلى مستوى التعبير عن بروتين Bcl-2، وهو بروتين مضاد لموت الخلايا المبرمج (Akl *et al.*, 2014). بعد التعرض لجسيمات أكسيد الذهب النانوية، يتم إطلاق مركبات الأوكسجين النشطة (ROS) عادةً من المايكوكوندريا. ويمكن أن يؤدي ذلك إلى حدوث إجهاد تأكسدي وتقليل التعبير عن بروتين Bcl-2، وهو أمر هام أيضًا لعمليات السمية الخلوية وموت الخلايا المبرمج (Gurunathan *et al.*, 2015; Raja *et al.*, 2020).

ومع ذلك، زيادة التعبير عن بروتينات مضادة لموت الخلايا المبرمج مثل عائلة Bcl-2 تزيد من مقاومة موت الخلايا المبرمج والعكس (Safa, 2022). دراسة أخرى أشارت إلى أن قابلية خط الخلايا A-549 للإيزورينتئين isoorientin (مركب طبيعي) كانت مرتبطة بانخفاض إنتاج بروتين Bcl-2، وهو ما أدى إلى موت الخلايا المبرمج عن طريق آلية تعتمد على الميتوكوندريا (Xu *et al.*, 2020). ولوحظت ظاهرة مشابهة عند معالجة خلايا A-549 باستخدام جسيمات أكسيد النحاس النانو (Kalaiarasi *et al.*, 2018).

الفصل الخامس

الإستنتاجات

والتوصيات

Concludion and

Recommendation

5-الاستنتاجات

- 1- توضح الدراسة الحالية وجود تنوع قليل في تركيبة التربة لبكتريا النوكارديا ، حيث تم عزل سلالتين فقط من بكتريا النوكارديا و اكتشاف سلالة واحدة جديدة.
- 2- تم غربلة بكتريا النوكارديا لتصنيع جسيمات اوكسيد الذهب النانوية خارج الخلية وكانت البكتريا *Nocardia asteroides* هي الاكثر فعالية في التصنيع.
- 3- تم التأكد من تركيبة جسيمات اوكسيد الذهب البلورية ووجود عنصر اوكسيد الذهب عن طريق الفحوصات المختلفة مثل
Zet POTENTIAL,AFM, XRD , TEM , FSEM- EDX ,FTIR ,UV
- 4- أظهرت النتائج أن البكتيريا المسببة للأمراض السالبة والموجبة لصبغة الجرام غير حساسة لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية.
- 5- توفر الدراسة نهجاً صديقاً للبيئة وفعالاً من حيث التكلفة في تخليق جسيمات اوكسيد الذهب النانوية قوية ضد الاورام السرطانية، ويمكن استخدامها كبديل للعلاجات الكيميائية المتاحة تجارياً والتي لها تأثيرات سلبية عديدة على جسم الانسان.
- 6- أظهرت جسيمات اوكسيد الذهب النانوية تثبيطاً كبيراً لتكاثر خلايا الكبد HepG2 اكثر من خلايا الثدي MCF-7 والخلايا الطبيعية MEF حسب قيمة IC_{50} .

التوصيات

1. تعزيز تنوع أنواع التربة وتوسيع نطاقها في ظل ظروف مختلفة مثل البيئة المائية، المناطق الجبلية، والتربة ذات الحالات القصوى، وعلى اعماق متنوعة.
2. استكشاف استخدام كائنات حية أخرى بالإضافة إلى البكتيريا ، مثل الفطريات والطحالب وغيرها من الكائنات الحية لتخليق جسيمات اوكسيد الذهب حيويًا.
3. دراسة تخليق جسيمات معدنية نانوية أخرى مثل اوكسيد الفضة , النحاس, البلاتين باستخدام الطرق الحيوية.
4. استكشاف مجموعة واسعة من العوامل الفيزيائية والكيميائية، بما في ذلك قابلية الذوبان، ونقاط الانصهار، وغيرها من الخصائص.
5. دراسة تأثير جسيمات اوكسيد الذهب النانوية نانوية على البكتيريا مباشرة باستخدام وسائط سائلة لتحديد المناطق التي تتأثر بها البكتيريا بجسيمات اوكسيد الذهب نانوية.
6. إجراء اختبارات السمية لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية على حيوانات التجارب أو خلايا الدم الحمراء.
7. إجراء اختبارات النشاط لجسيمات اوكسيد الذهب النانوية على بعض أنواع الفطريات مثل الفطريات الجلدية.
8. استخدام خطوط خلايا سرطانية أخرى لتحديد النشاط المضاد للورم لجسيمات Au_2O_3 ، مثل خطوط الخلايا PC3 و A375

المصادر

References

References

- **Abad-Segura, E., González-Zamar, M.-D., Infante-Moro, J. C., & Ruipérez García, G. (2020).** Sustainable management of digital transformation in higher education: Global research trends. *Sustainability*, *12*(5), 2107.
- **Abdullah, A., & Mohammed, A. (2020).** Green synthesis of aunps from the leaf extract of prosopis farcta for antibacterial and anti-cancer applications. *Dig. J. Nanomater. Biostructures*, *15*(3), 943-951.
- **Agam, M. A., & Guo, Q. (2007).** Electron beam modification of polymer nanospheres. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, *7*(10), 3615-3619.
- **Ahamed, M., Akhtar, M. J., Khan, M. M., Alhadlaq, H. A., & Alrokayan, S. A. (2016).** Cytotoxic response of platinum-coated gold nanorods in human breast cancer cells at very low exposure levels. *Environmental toxicology*, *31*(11), 1344-1356.
- **Ahamed, M., Alhadlaq, H. A., Khan, M. M., & Akhtar, M. J. (2013).** Selective killing of cancer cells by iron oxide nanoparticles mediated through reactive oxygen species via p53 pathway. *Journal of nanoparticle research*, *15*, 1-11.
- **Ahari, H., Karim, G., Anvar, S. A., Paidari, S., Mostaghim, S. A., & Mazinani, A. S. (2022).** Method for producing antimicrobial nanofilms packaging cover based on titanium nano-dioxide through extrusion for extension of food shelf-life. In: Google Patents.
- **Ahmed, D. S., & Mohammed, M. K. (2020).** Studying the bactericidal ability and biocompatibility of gold and gold oxide nanoparticles decorating on multi-wall carbon nanotubes. *Chemical Papers*, *74*(11), 4033-4046.
- **Ajello, G., Brown, J., El Mahgoub, S., & Ajello, L. (1979).** A note on the isolation of pathogenic aerobic actinomycetes from Sudanese soils. *Current Microbiology*, *2*, 25-26.
- **Akinyemiju, T., Abera, S., Ahmed, M., Alam, N., Alemayohu, M. A., Allen, C., Al-Raddadi, R., Alvis-Guzman, N., Amoako, Y., & Artaman, A. (2017).** The burden of primary liver cancer and underlying etiologies from 1990 to 2015 at the global, regional, and national level: results from the global burden of disease study 2015. *JAMA oncology*, *3*(12), 1683-1691.

- **Akl, H., Vervloessem, T., Kiviluoto, S., Bittremieux, M., Parys, J. B., De Smedt, H., & Bultynck, G. (2014).** A dual role for the anti-apoptotic Bcl-2 protein in cancer: mitochondria versus endoplasmic reticulum. *Biochimica et biophysica acta (BBA)-molecular cell research*, 1843(10), 2240-2252.
- **Alharbi, K. K., Abudawood, M., & Khan, I. A. (2021).** Amino-acid amendment of arginine-325-tryptophan in rs13266634 genetic polymorphism studies of the SLC30A8 gene with type 2 diabetes-mellitus patients featuring a positive family history in the Saudi population. *Journal of King Saud University-Science*, 33(1), 101258.
- **Alshammary, A. F., & Khan, I. A. (2021).** Screening of obese offspring of first-cousin consanguineous subjects for the angiotensin-converting enzyme gene with a 287-bp Alu sequence. *Journal of obesity & metabolic syndrome*, 30(1), 63.
- **Amendola, V., Pilot, R., Frasconi, M., Maragò, O. M., & Iatì, M. A. (2017).** Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 29(20), 203002.
- **Anand, K., Tiloke, C., Naidoo, P., & Chuturgoon, A. (2017).** Phytonanotherapy for management of diabetes using green synthesis nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 173, 626-639.
- **Annamalai, A., Christina, V., Sudha, D., Kalpana, M., & Lakshmi, P. (2013).** Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of Au NPs using *Euphorbia hirta* L. leaf extract. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 108, 60-65.
- **Aoki, H., SAKAI, H.-I., KOHSAKA, M., KONOMI, T., HOSODA, J., KUBOCHI, Y., IGUCHI, E., & IMANAKA, H. (1976).** Nocardicin A, a new monocyclic β -lactam antibiotic I. Discovery, isolation and characterization. *The Journal of Antibiotics*, 29(5), 492-500.
- **Ardelean, I. L., Ficai, D., Sonmez, M., Oprea, O., Nechifor, G., Andronescu, E., Ficai, A., & Titu, M. A. (2019).** Hybrid magnetic nanostructures for cancer diagnosis and therapy. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 19(1), 6-16.
- **Azad, S., Meeravali, S. N., Babu, P. C., & Kumar, K. R. (2020).** Gold nanoparticles in cancer therapy: Overview and perspectives. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34-40.

- **Banales, J. M., Marin, J. J., Lamarca, A., Rodrigues, P. M., Khan, S. A., Roberts, L. R., Cardinale, V., Carpino, G., Andersen, J. B., & Braconi, C. (2020).** Cholangiocarcinoma 2020: the next horizon in mechanisms and management. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, *17*(9), 557-588.
- **Bandeira, M., Giovanela, M., Roesch-Ely, M., Devine, D. M., & da Silva Crespo, J. (2020).** Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A review of the synthesis methodology and mechanism of formation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, *15*, 100223.
- **Baptista, P. V., McCusker, M. P., Carvalho, A., Ferreira, D. A., Mohan, N. M., Martins, M., & Fernandes, A. R. (2018).** Nano-strategies to fight multidrug resistant bacteria—"A Battle of the Titans". *Frontiers in microbiology*, *9*, 1441.
- **Baranwal, A., Srivastava, A., Kumar, P., Bajpai, V. K., Maurya, P. K., & Chandra, P. (2018).** Prospects of nanostructure materials and their composites as antimicrobial agents. *Frontiers in microbiology*, *9*, 422.
- **Beik, J., Khateri, M., Khosravi, Z., Kamrava, S. K., Kooranifar, S., Ghaznavi, H., & Shakeri-Zadeh, A. (2019).** Gold nanoparticles in combinatorial cancer therapy strategies. *Coordination Chemistry Reviews*, *387*, 299-324.
- **Bennur, T., Javdekar, V., Tomar, G. B., & Zinjarde, S. (2020).** Gold nanoparticles biosynthesized by *Nocardia* *dassonvillei* NCIM 5124 enhance osteogenesis in gingival mesenchymal stem cells. *Applied microbiology and biotechnology*, *104*, 4081-4092.
- **Bharadwaj, K. K., Rabha, B., Pati, S., Sarkar, T., Choudhury, B. K., Barman, A., Bhattacharjya, D., Srivastava, A., Baishya, D., & Edinur, H. A. (2021).** Green synthesis of gold nanoparticles using plant extracts as beneficial prospect for cancer theranostics. *Molecules*, *26*(21), 6389.
- **Bhorkade, S., Pandey, P. K., Ansari, M. M., & Jain, S. (2022).** Nano-Cargo Boarded Defensins to Combat Multidrug Resistance. In *Emerging Modalities in Mitigation of Antimicrobial Resistance* (pp. 441-459). Springer.
- **Bindhu, M., Rekha, P. V., Umamaheswari, T., & Umadevi, M. (2014).** Antibacterial activities of *Hibiscus cannabinus* stem-assisted silver and gold nanoparticles. *Materials Letters*, *131*, 194-197.

- **Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018).** Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394-424.
- **Brown-Elliott, B. A., Brown, J. M., Conville, P. S., & Wallace Jr, R. J. (2006).** Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. *Clinical microbiology reviews*, 19(2), 259-282.
- **Bulychev, N. (2022).** Synthesis of gaseous hydrogen and nanoparticles of silicon and silicon oxide by pyrolysis of tetraethoxysilane in an electric discharge under the action of ultrasound. *International Journal of Hydrogen Energy*, 47(84), 35581-35587.
- **Carrere, C. (2017).** Optimization of an in vitro chemotherapy to avoid resistant tumours. *Journal of theoretical biology*, 413, 24-33.
- **Chandira, R. M., Prabakaran, M., Jaykar, B., Venkateswarlu, B., & Palanisamy, P. (2019).** BRCA mutation: A review of breast cancer. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(4), 750-758.
- **Cheung-Ong, K., Giaever, G., & Nislow, C. (2013).** DNA-damaging agents in cancer chemotherapy: serendipity and chemical biology. *Chemistry & biology*, 20(5), 648-659.
- **Cheung, H.-Y., Yip, S., Han, N., Dong, G., Fang, M., Yang, Z.-x., Wang, F., Lin, H., Wong, C.-Y., & Ho, J. C. (2015).** Modulating electrical properties of InAs nanowires via molecular monolayers. *ACS nano*, 9(7), 7545-7552.
- **Chithrani, D. B., Dunne, M., Stewart, J., Allen, C., & Jaffray, D. A. (2010).** Cellular uptake and transport of gold nanoparticles incorporated in a liposomal carrier. *Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine*, 6(1), 161-169.
- **Choi, J.-S., Cao, J., Naeem, M., Noh, J., Hasan, N., Choi, H.-K., & Yoo, J.-W. (2014).** Size-controlled biodegradable nanoparticles: preparation and size-dependent cellular uptake and tumor cell growth inhibition. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 545-551.
- **Clarance, P., Luvankar, B., Sales, J., Khusro, A., Agastian, P., Tack, J.-C., Al Khulaifi, M. M., Al-Shwaiman, H. A., Elgorban, A. M., & Syed, A. (2020).** Green synthesis and

- characterization of gold nanoparticles using endophytic fungi *Fusarium solani* and its in-vitro anticancer and biomedical applications. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(2), 706-712.
- **Colaprico, A., Olsen, C., Bailey, M. H., Odom, G. J., Terkelsen, T., Silva, T. C., Olsen, A. V., Cantini, L., Zinovyev, A., & Barillot, E. (2020).** Interpreting pathways to discover cancer driver genes with Moonlight. *Nature communications*, 11(1), 69.
 - **Corti, M. E., & Fioti, M. E. V. (2003).** Nocardiosis: a review. *International Journal of Infectious Diseases*, 7(4), 243-250.
 - **Dam, D. H. M., Culver, K. S., & Odom, T. W. (2014).** Grafting aptamers onto gold nanostars increases in vitro efficacy in a wide range of cancer cell types. *Molecular pharmaceutics*, 11(2), 580-587.
 - **De Souza, C. D., Nogueira, B. R., & Rostelato, M. E. C. (2019).** Review of the methodologies used in the synthesis gold nanoparticles by chemical reduction. *Journal of Alloys and Compounds*, 798, 714-740.
 - **DeOliveira, M. L., Cunningham, S. C., Cameron, J. L., Kamangar, F., Winter, J. M., Lillemoe, K. D., Choti, M. A., Yeo, C. J., & Schulick, R. D. (2007).** Cholangiocarcinoma: thirty-one-year experience with 564 patients at a single institution. *Annals of surgery*, 245(5), 755.
 - **Devan, R. S., Patil, R. A., Lin, J. H., & Ma, Y. R. (2012).** One-dimensional metal-oxide nanostructures: recent developments in synthesis, characterization, and applications. *Advanced Functional Materials*, 22(16), 3326-3370.
 - **Devillanova, F. A., & Du Mont, W.-W. (2013).** *Handbook of chalcogen chemistry: new perspectives in sulfur, selenium and tellurium* (Vol. 1). Royal Society of Chemistry.
 - **Deymehkar, E., Taher, M. A., Karami, C., & Arman, A. (2018).** Synthesis of SPR nanosensor using gold nanoparticles and its application to copper (II) determination. *Silicon*, 10, 1329-1336.
 - **Dhakal, D., Rayamajhi, V., Mishra, R., & Sohng, J. K. (2019).** Bioactive molecules from *Nocardia*: diversity, bioactivities and biosynthesis. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 46(3-4), 385-407.

- **Dhakal, D., & Sohng, J. K. (2015).** Laboratory maintenance of *Nocardia* species. *Current Protocols in Microbiology*, 39(1), 10F. 11.11-10F. 11.18.
- **Dhamecha, D., Jalalpure, S., & Jadhav, K. (2015).** Doxorubicin functionalized gold nanoparticles: Characterization and activity against human cancer cell lines. *Process Biochemistry*, 50(12), 2298-2306.
- **Dichello, G. A., Fukuda, T., Maekawa, T., Whitby, R. L., Mikhalovsky, S. V., Alavijeh, M., Pannala, A. S., & Sarker, D. K. (2017).** Preparation of liposomes containing small gold nanoparticles using electrostatic interactions. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105, 55-63.
- **Diksha, D., Gupta, S. K., Gupta, P., Banerjee, U. C., Kalita, D., & Gupta, S. (2023).** Antibacterial Potential of Gold Nanoparticles Synthesized From Leaf Extract of *Syzygium cumini* Against Multidrug-Resistant Urinary Tract Pathogens. *Cureus*, 15(2).
- **Donga, S., Bhadu, G. R., & Chanda, S. (2020).** Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of gold nanoparticles green synthesized using *Mangifera indica* seed aqueous extract. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 48(1), 1315-1325.
- **Duha S. Ahmed, Mustafa K. A. Mohammed (2020)** Studying the bactericidal ability and biocompatibility of gold and gold oxide nanoparticles decorating on multi-wall carbon nanotubes *Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences 2020.*
- **Dykman, L., & Khlebtsov, N. (2019).** Gold nanoparticles in chemo-, immuno-, and combined therapy: review. *Biomedical optics express*, 10(7), 3152-3182.
- **El Domany, E. B., Essam, T. M., Ahmed, A. E., & Farghali, A. A. (2018).** Biosynthesis physico-chemical optimization of gold nanoparticles as anti-cancer and synergetic antimicrobial activity using *Pleurotus ostreatus* fungus. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(5), 119-128.
- **Eleraky, N. E., Allam, A., Hassan, S. B., & Omar, M. M. (2020).** Nanomedicine fight against antibacterial resistance: an overview of the recent pharmaceutical innovations. *Pharmaceutics*, 12(2), 142.

- **Einhard Schwarzmann & Erika Fellwock. (1971)** Characterization of Goldaquoide and Goldoxide. *Z. Naturforsch*, 26 b, 1369-1370.
- **Esakkimuthu, T., Sivakumar, D., & Akila, S. (2014).** Application of nanoparticles in wastewater treatment. *Pollut. Res*, 33(03), 567-571.
- **Ewert, K. K., Kotamraju, V. R., Majzoub, R. N., Steffes, V. M., Wonder, E. A., Teesalu, T., Ruoslahti, E., & Safinya, C. R. (2016).** Synthesis of linear and cyclic peptide-PEG-lipids for stabilization and targeting of cationic liposome-DNA complexes. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 26(6), 1618-1623.
- **Fatahi-Bafghi, M. (2018).** Nocardiosis from 1888 to 2017. *Microbial pathogenesis*, 114, 369-384.
- **Fayad, M. A., & Dhahad, H. A. (2021).** Effects of adding aluminum oxide nanoparticles to butanol-diesel blends on performance, particulate matter, and emission characteristics of diesel engine. *Fuel*, 286, 119363.
- **Feng, Y., Spezia, M., Huang, S., Yuan, C., Zeng, Z., Zhang, L., Ji, X., Liu, W., Huang, B., & Luo, W. (2018).** Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes & diseases*, 5(2), 77-106.
- **Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2019).** Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International journal of cancer*, 144(8), 1941-1953.
- **Forbes, B. A., Sahn, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007).** *Diagnostic microbiology*. Mosby St Louis.
- **Freshney, R. I. (2015).** *Culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications*. John Wiley & Sons.
- **Fu, P. P., Xia, Q., Hwang, H.-M., Ray, P. C., & Yu, H. (2014).** Mechanisms of nanotoxicity: generation of reactive oxygen species. *Journal of food and drug analysis*, 22(1), 64-75.
- **Gadekar, G. P., Ghaoshal, K. P., & Ghatole, A. M. (2021).** Butea monosperma bark extract to its green synthesis of silver nanoparticles and their antioxidant, total flavonoid content and

- antimicrobial activities. *Journal of Applied Biological Sciences*, 15(1), 64-74.
- **Gatoo, M. A., Naseem, S., Arfat, M. Y., Mahmood Dar, A., Qasim, K., & Zubair, S. (2014).** Physicochemical properties of nanomaterials: implication in associated toxic manifestations. *BioMed Research International*, 2014.
 - **Gauglitz, G. (2020).** Critical assessment of relevant methods in the field of biosensors with direct optical detection based on fibers and waveguides using plasmonic, resonance, and interference effects. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412, 3317-3349.
 - **Gholamali, I., Asnaashariisfahani, M., & Alipour, E. (2020).** Silver nanoparticles incorporated in pH-sensitive nanocomposite hydrogels based on carboxymethyl chitosan-poly (vinyl alcohol) for use in a drug delivery system. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*, 6, 138-153.
 - **Ghosh, S., Ahmad, R., Zeyaulah, M., & Khare, S. K. (2021).** Microbial nano-factories: synthesis and biomedical applications. *Frontiers in Chemistry*, 9, 626834.
 - **Goodfellow, M. (1992).** The family Streptosporangiaceae., 1115–1138 Balows A., Triiper HG, Dworkin M., Harder W., Schleifer K. *The prokaryotes*, 2nd. IL Springer-Verlag.
 - **Gu, X., Xu, Z., Gu, L., Xu, H., Han, F., Chen, B., & Pan, X. (2021).** Preparation and antibacterial properties of gold nanoparticles: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19, 167-187.
 - **Gupta, R., & Padmanabhan, P. (2018).** Biogenic synthesis and characterization of gold nanoparticles by a novel marine bacteria *Marinobacter algicola*: Progression from nanospheres to various geometrical shapes. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 8(1), 732.
 - **Gurunathan, S., Park, J. H., Han, J. W., & Kim, J.-H. (2015).** Comparative assessment of the apoptotic potential of silver nanoparticles synthesized by *Bacillus tequilensis* and *Calocybe indica* in MDA-MB-231 human breast cancer cells: targeting p53 for anticancer therapy. *International journal of nanomedicine*, 4203-4223.
 - **Haiss, W., Thanh, N. T., Aveyard, J., & Fernig, D. G. (2007).** Determination of size and concentration of gold nanoparticles

- from UV– Vis spectra. *Analytical chemistry*, 79(11), 4215-4221.
- **Hamidi, M., Azadi, A., & Rafiei, P. (2008).** Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1638-1649.
 - **Hammami, I., & Alabdallah, N. M. (2021).** Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications. *Journal of King Saud University-Science*, 33(7), 101560.
 - **Hamza, M. I., & Murtaza, G. (2020).** Green synthesis of gold nanoparticles using *Rumex nepalensis* leaf extract and evaluation of antibacterial efficacy.
 - **Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011).** Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674.
 - **Handy, R. D., Henry, T. B., Scown, T. M., Johnston, B. D., & Tyler, C. R. (2008).** Manufactured nanoparticles: their uptake and effects on fish—a mechanistic analysis. *Ecotoxicology*, 17, 396-409.
 - **Harby, A. G., El-Borady, O. M., & El-Kemary, M. (2022).** The exploitation of rice husk biomass for the bio-inspired synthesis of gold nanoparticles as a multifunctional material for various biological and photocatalytic applications. *Bioprocess and biosystems engineering*, 1-14.
 - **Hayakawa, M., & Nonomura, H. (1987).** Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *Journal of Fermentation Technology*, 65(5), 501-509.
 - **He, X., & Yang, H. (2013).** Au nanoparticles assembled on palygorskite: Enhanced catalytic property and Au–Au₂O₃ coexistence. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 379, 219-224.
 - **Hemashekhar, B., Chandrappa, C., Govindappa, M., & Chandrashekar, N. (2019).** Endophytic fungus *Alternaria* spp isolated from *Rauvolfia tetraphylla* root arbitrate synthesis of gold nanoparticles and evaluation of their antibacterial, antioxidant and antimitotic activities. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 10(3), 035010.
 - **Hong, L., Lu, M., Diné, M.-P., Blain, P., Peng, W., Gu, H., & Masson, J.-F. (2018).** Hybridization conditions of oligonucleotide-capped gold nanoparticles for SPR sensing of microRNA. *Biosensors and Bioelectronics*, 109, 230-236.

- **Hu, M., Chen, J., Li, Z.-Y., Au, L., Hartland, G. V., Li, X., Marquez, M., & Xia, Y. (2006).** Gold nanostructures: engineering their plasmonic properties for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 35(11), 1084-1094.
- **Hunter, R. J. (2013).** *Zeta potential in colloid science: principles and applications* (Vol. 2). Academic press.
- **Huq, M. A., and Akter, S. (2021).** Biosynthesis, characterization and antibacterial application of novel silver nanoparticles against drug resistant pathogenic klebsiella pneumoniae and salmonella enteritidis. *Molecules*, 26(19), 5996.
- **Ismail, E. H., Saqer, A. M., Assirey, E., Naqvi, A., & Okasha, R. M. (2018).** Successful green synthesis of gold nanoparticles using a Corchorus olitorius extract and their antiproliferative effect in cancer cells. *International journal of molecular sciences*, 19(9), 2612.
- **Jadoun, S., Arif, R., Jangid, N. K., & Meena, R. K. (2021).** Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19, 355-374.
- **Ji, H., Lou, X., Jiao, J., Li, Y., Dai, K., & Jia, X. (2023).** Preliminary Structural Characterization of Selenium Nanoparticle Composites Modified by Astragalus Polysaccharide and the Cytotoxicity Mechanism on Liver Cancer Cells. *Molecules*, 28(4), 1561.
- **Joshi, C. G., Danagoudar, A., Poyya, J., Kudva, A. K., & Dhananjaya, B. (2017).** Biogenic synthesis of gold nanoparticles by marine endophytic fungus-Cladosporium cladosporioides isolated from seaweed and evaluation of their antioxidant and antimicrobial properties. *Process Biochemistry*, 63, 137-144.
- **Kalaiarasi, A., Sankar, R., Anusha, C., Saravanan, K., Aarthi, K., Karthic, S., Mathuram, T. I., & Ravikumar, V. (2018).** Copper oxide nanoparticles induce anticancer activity in A549 lung cancer cells by inhibition of histone deacetylase. *Biotechnology letters*, 40, 249-256.
- **Kalashgrani, M. Y., & Javanmardi, N. (2022).** Multifunctional Gold nanoparticle: As novel agents for cancer treatment. *Advances in Applied NanoBio-Technologies*, 3(3), 1-6.

- **Kalimuthu, K., Cha, B. S., Kim, S., & Park, K. S. (2020).** Eco-friendly synthesis and biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Microchemical Journal*, *152*, 104296.
- **Kaminker, R., Lahav, M., Motiei, L., Vartanian, M., Popovitz-Biro, R., Iron, M. A., & van der Boom, M. E. (2010).** Molecular structure–function relations of the optical properties and dimensions of gold nanoparticle assemblies. *Angewandte Chemie*, *122*(7), 1240-1243.
- **Kanwal, F., Kramer, J., Asch, S. M., Chayanupatkul, M., Cao, Y., & El-Serag, H. B. (2017).** Risk of hepatocellular cancer in HCV patients treated with direct-acting antiviral agents. *Gastroenterology*, *153*(4), 996-1005. e1001.
- **Katti, K. S., & Katti, D. R. (2006).** Why is nacre so tough and strong? *Materials Science and Engineering: C*, *26*(8), 1317-1324.
- **Kerfahi, D., Tripathi, B. M., Singh, D., Kim, H., Lee, S., Lee, J., & Adams, J. M. (2015).** Effects of functionalized and raw multi-walled carbon nanotubes on soil bacterial community composition. *PloS one*, *10*(3), e0123042.
- **Khan, I. A., Vattam, K. K., Jahan, P., Mukkavali, K. K., Hasan, Q., & Rao, P. (2015).** Correlation between KCNQ1 and KCNJ11 gene polymorphisms and type 2 and post-transplant diabetes mellitus in the Asian Indian population. *Genes & diseases*, *2*(3), 276-282.
- **Khan, Y., Sadia, H., Ali Shah, S. Z., Khan, M. N., Shah, A. A., Ullah, N., Ullah, M. F., Bibi, H., Bafakeeh, O. T., & Khedher, N. B. (2022).** Classification, synthetic, and characterization approaches to nanoparticles, and their applications in various fields of nanotechnology: A review. *Catalysts*, *12*(11), 1386.
- **Khan, Z., Al-Sayer, H., Chugh, T. D., Chandy, R., Provost, F., & Boiron, P. (2000).** Antimicrobial susceptibility profile of soil isolates of *Nocardia asteroides* from Kuwait. *Clinical microbiology and infection*, *6*(2), 94-98.
- **Khatua, A., Priyadarshini, E., Rajamani, P., Patel, A., Kumar, J., Naik, A., Saravanan, M., Barabadi, H., Prasad, A., & Ghosh, I. (2020).** Phytosynthesis, characterization and fungicidal potential of emerging gold nanoparticles using *Pongamia pinnata* leaf extract: a novel approach in nanoparticle synthesis. *Journal of Cluster Science*, *31*, 125-131.

- **Khorrami, S., Zarrabi, A., Khaleghi, M., Danaei, M., & Mozafari, M. (2018).** Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties. *International journal of nanomedicine*, 8013-8024.
- **Könen-Adıgüzel, S., Adıgüzel, A. O., Ay, H., Alpdoğan, S., Şahin, N., Çaputçu, A., Ergene, R. S., Gübür, H. M., & Tunçer, M. (2018).** Genotoxic, cytotoxic, antimicrobial and antioxidant properties of gold nanoparticles synthesized by *Nocardia* sp. GTS18 using response surface methodology. *Materials Research Express*, 5(11), 115402.
- **Kotakadi, V. S., Gaddam, S. A., Venkata, S. K., Sarma, P. V. G. K., and Sai Gopal, D. V. R. (2016).** Biofabrication and spectral characterization of silver nanoparticles and their cytotoxic studies on human CD34 +ve stem cells. *3 Biotech*, 6(2), 1–11.
- **Krajina, B. A., Proctor, A. C., Schoen, A. P., Spakowitz, A. J., & Heilshorn, S. C. (2018).** Biotemplated synthesis of inorganic materials: An emerging paradigm for nanomaterial synthesis inspired by nature. *Progress in Materials Science*, 91, 1-23.
- **Kralj, S., & Makovec, D. (2015).** Magnetic assembly of superparamagnetic iron oxide nanoparticle clusters into nanochains and nanobundles. *ACS nano*, 9(10), 9700-9707.
- **Kumar, D., Mutreja, I., Chitcholtan, K., & Sykes, P. (2017).** Cytotoxicity and cellular uptake of different sized gold nanoparticles in ovarian cancer cells. *Nanotechnology*, 28(47), 475101.
- **Kumar, R., Kumar, M., & Luthra, G. (2023).** Fundamental approaches and applications of nanotechnology: A mini review. *Materials Today: Proceedings*.
- **Kumar, V., & Yadav, S. K. (2009).** Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 84(2), 151-157.
- **Kurapov, P., & Bakhtenko, E. Y. (2018).** Gold nanoparticles in the diagnosis and treatment of cancer. *Bull. Rsmu*, 6, 86-93.
- **Kuyucak, N., & Volesky, B. (1989).** The mechanism of cobalt biosorption. *Biotechnology and bioengineering*, 33(7), 823-831.

- **Lafont, E., Conan, P.-L., Rodriguez-Nava, V., & Lebeaux, D. (2020).** Invasive nocardiosis: disease presentation, diagnosis and treatment—old questions, new answers? *Infection and drug resistance*, 4601-4613.
- **Lee, Y. J., Ahn, E.-Y., & Park, Y. (2019).** Shape-dependent cytotoxicity and cellular uptake of gold nanoparticles synthesized using green tea extract. *Nanoscale research letters*, 14, 1-14.
- **Li, J., Liu, H., & Chen, J. P. (2018).** Microplastics in freshwater systems: A review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection. *Water research*, 137, 362-374.
- **Li, Y., Zhang, Z., Shen, J., & Ye, M. (2015).** Hierarchical nanospheres based on Pd nanoparticles dispersed on carbon coated magnetite cores with a mesoporous ceria shell: a highly integrated multifunctional catalyst. *Dalton Transactions*, 44(37), 16592-16601.
- **Lin, G., Revia, R. A., & Zhang, M. (2021).** Inorganic Nanomaterial-Mediated Gene Therapy in Combination with Other Antitumor Treatment Modalities. *Advanced Functional Materials*, 31(5), 2007096.
- **Lin, S., Li, M., Dujardin, E., Girard, C., & Mann, S. (2005).** One-dimensional plasmon coupling by facile self-assembly of gold nanoparticles into branched chain networks. *Advanced Materials*, 17(21), 2553-2559.
- **Lin, Z., Wu, J., Xue, R., & Yang, Y. (2005).** Spectroscopic characterization of Au³⁺ biosorption by waste biomass of *Saccharomyces cerevisiae*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61(4), 761-765.
- **Link, S., & El-Sayed, M. A. (1999).** Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 103(21), 4212-4217.
- **Liu, W., Wang, L., Wang, J., Du, J., & Jing, C. (2018).** New insights into microbial-mediated synthesis of Au@ biolayer nanoparticles. *Environmental Science: Nano*, 5(7), 1757-1763.
- **Luo, Q., Hiessl, S., & Steinbüchel, A. (2014).** Functional diversity of *Nocardia* in metabolism. *Environmental microbiology*, 16(1), 29-48.

- **Lytle, N. K., Barber, A. G., & Reya, T. (2018).** Stem cell fate in cancer growth, progression and therapy resistance. *Nature reviews cancer*, 18(11), 669-680.
- **Mady, M. M., Fathy, M. M., Youssef, T., & Khalil, W. M. (2012).** Biophysical characterization of gold nanoparticles-loaded liposomes. *Physica Medica*, 28(4), 288-295.
- **Malaikolundhan, H., Mookkan, G., Krishnamoorthi, G., Matheswaran, N., Alsawalha, M., Veeraraghavan, V. P., Krishna Mohan, S., & Di, A. (2020).** Anticarcinogenic effect of gold nanoparticles synthesized from *Albizia lebbek* on HCT-116 colon cancer cell lines. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 48(1), 1206-1213.
- **Malmsten, M. (2014).** Nanomaterials as antimicrobial agents. *Handbook of nanomaterials properties*, 1053-1075.
- **Mandaro, L. (2009).** China now world's largest gold producer; foreign miners at door. *MarketWatch*. Retrieved, 5.
- **Manimaran, M., & Kannabiran, K. (2017).** Actinomycetes-mediated biogenic synthesis of metal and metal oxide nanoparticles: progress and challenges. *Letters in applied microbiology*, 64(6), 401-408.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352492821008199>
- **Manivasagan, P., Alam, M. S., Kang, K.-H., Kwak, M., & Kim, S.-K. (2015).** Extracellular synthesis of gold bionanoparticles by *Nocardia* sp. and evaluation of its antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities. *Bioprocess and biosystems engineering*, 38, 1167-1177.
- **Martinaud, C., Verdonk, C., Bousquet, A., MacNab, C., Vaylet, F., Soler, C., Samson, T., & Margery, J. (2011).** Isolation of *Nocardia beijingensis* from a pulmonary abscess reveals human immunodeficiency virus infection. *Journal of clinical microbiology*, 49(7), 2748-2750.
- **Martínez-Jiménez, F., Muiños, F., Sentís, I., Deu-Pons, J., Reyes-Salazar, I., Arnedo-Pac, C., Mularoni, L., Pich, O., Bonet, J., & Kranas, H. (2020).** A compendium of mutational cancer driver genes. *Nature reviews cancer*, 20(10), 555-572.
- **Martínez Espinosa, J. C., Carrera Cerritos, R., Ramírez Morales, M. A., Sánchez Guerrero, K. P., Silva Contreras, R. A., & Macías, J. H. (2020).** Characterization of silver nanoparticles obtained by a green route and their evaluation in the bacterium of *Pseudomonas aeruginosa*. *Crystals*, 10(5), 395.

- **McCormick, W., McDonagh, P., Doran, J., & McCrudden, D. (2021).** Covalent immobilisation of a nanoporous platinum film onto a gold screen-printed electrode for highly stable and selective non-enzymatic glucose sensing. *Catalysts*, 11(10), 1161.
- **McHugh, J. (1988).** Concentration of gold in natural waters. *Journal of Geochemical Exploration*, 30(1-3), 85-94.
- **McNeil, M. M., & Brown, J. M. (1994).** The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology. *Clinical microbiology reviews*, 7(3), 357-417.
- **Menon, S., Rajeshkumar, S., & Kumar, V. (2017).** A review on biogenic synthesis of gold nanoparticles, characterization, and its applications. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 516-527.
- **Miao, X., Cheng, Z., Ma, H., Li, Z., Xue, N., & Wang, P. (2018).** Label-free platform for microRNA detection based on the fluorescence quenching of positively charged gold nanoparticles to silver nanoclusters. *Analytical chemistry*, 90(2), 1098-1103.
- **Mohanpuria, P., Rana, N. K., & Yadav, S. K. (2008).** Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of nanoparticle research*, 10, 507-517.
- **Molnár, Z., Bódai, V., Szakacs, G., Erdélyi, B., Fogarassy, Z., Sáfrán, G., Varga, T., Kónya, Z., Tóth-Szeles, E., & Szűcs, R. (2018).** Green synthesis of gold nanoparticles by thermophilic filamentous fungi. *Scientific reports*, 8(1), 3943.
- **Mudalige, T., Qu, H., Van Haute, D., Ansar, S. M., Paredes, A., & Ingle, T. (2019).** Characterization of nanomaterials: Tools and challenges. *Nanomaterials for food applications*, 313-353.
- **Muthuvel, A., Adavallan, K., Balamurugan, K., & Krishnakumar, N. (2014).** Biosynthesis of gold nanoparticles using *Solanum nigrum* leaf extract and screening their free radical scavenging and antibacterial properties. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(2), 325-332.
- **Niemeyer, C. M., & Mirkin, C. A. (2004).** *Nanobiotechnology: concepts, applications and perspectives* (Vol. 1). John Wiley & Sons.
- **Nossier, A. I., Shehata, N. I., Morsy, S. M., Saeed, D. F., Elsayed, N. M., Ismail, M. F., & Eissa, S. (2020).** Determination of certain urinary microRNAs as promising

- biomarkers in diabetic nephropathy patients using gold nanoparticles. *Analytical biochemistry*, 609, 113967.
- **Nyqvist, J., Parris, T. Z., Helou, K., Sarenmalm, E. K., Einbeigi, Z., Karlsson, P., Nasic, S., & Kovács, A. (2020).** Previously diagnosed multiple primary malignancies in patients with breast carcinoma in Western Sweden between 2007 and 2018. *Breast Cancer Research and Treatment*, 184, 221-228.
 - **Olson, E. (2012).** Zeta potential and colloid chemistry. *Journal of GXP Compliance*, 16(1), 81.
 - **Ono, L. K., & Roldan Cuenya, B. (2008).** Formation and thermal stability of Au₂O₃ on gold nanoparticles: size and support effects. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(12), 4676-4686.
 -
 - **Oza, G., Pandey, S., Gupta, A., Kesarkar, R., & Sharon, M. (2012).** Biosynthetic reduction of gold ions to gold nanoparticles by *Nocardia farcinica*. *J Microbiol Biotechnol Res*, 2(4), 511-515.
 - **Padoley, K., Mudliar, S., & Pandey, R. (2009).** Microbial degradation of pyridine and α -picoline using a strain of the genera *Pseudomonas* and *Nocardia* sp. *Bioprocess and biosystems engineering*, 32, 501-510.
 - **Pan, G.-H., Barras, A., Boussekey, L., Addad, A., & Boukherroub, R. (2013).** Alkyl passivation and SiO₂ encapsulation of silicon nanoparticles: Preparation, surface modification and luminescence properties. *Journal of Materials Chemistry C*, 1(34), 5261-5271.
 - **Parashar, U. K., Saxena, P. S., & Srivastava, A. (2009).** Bioinspired synthesis of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures (DJNB)*, 4(1).
 - **Peter. G. Jones, Horst Rumpel, Einhard. Schwarzmann, George. M. Sheldrick and H. Paulus. (1979)** Gold(III) oxide . *International Union of Crystallography*
 - **Pucelik, B., Sulek, A., Borkowski, M., Barzowska, A., Kobielski, M., & Dąbrowski, J. M. (2022).** Synthesis and characterization of size-and charge-tunable silver nanoparticles for selective anticancer and antibacterial treatment. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 14(13), 14981-14996.
 - **Qi, H., & Zhang, C. (2022).** Organic nanoparticles for electrogenerated chemiluminescence assay. *Current Opinion in Electrochemistry*, 34, 101023.

- **Qiao, J., & Qi, L. (2021).** Recent progress in plant-gold nanoparticles fabrication methods and bio-applications. *Talanta*, 223, 121396.
- **Qin, L., Zeng, G., Lai, C., Huang, D., Xu, P., Zhang, C., Cheng, M., Liu, X., Liu, S., & Li, B. (2018).** “Gold rush” in modern science: fabrication strategies and typical advanced applications of gold nanoparticles in sensing. *Coordination Chemistry Reviews*, 359, 1-31.
- **Rahib, L., Smith, B. D., Aizenberg, R., Rosenzweig, A. B., Fleshman, J. M., & Matrisian, L. M. (2014).** Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer research*, 74(11), 2913-2921.
- **Raja, G., Jang, Y.-K., Suh, J.-S., Kim, H.-S., Ahn, S. H., & Kim, T.-J. (2020).** Microcellular environmental regulation of silver nanoparticles in cancer therapy: a critical review. *Cancers*, 12(3), 664.
- **Rajeshkumar, S. (2016).** Anticancer activity of eco-friendly gold nanoparticles against lung and liver cancer cells. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14(1), 195-202.
- Ramezani, N., Ehsanfar, Z., Shamsa, F., Amin, G., Shahverdi, H. R., Esfahani, H. R. M., ... & Shahverdi, A. R. (2008). Screening of medicinal plant methanol extracts for the synthesis of gold nanoparticles by their reducing potential. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 63(7), 903-908.
- **Ranjitha, V., & Ravishankar Rai, V. (2021).** Bioassisted synthesis of gold nanoparticles from *Saccharomonospora glauca*: Toxicity and biocompatibility study. *BioNanoScience*, 11, 371-379.
- **Rao, C. V., Asch, A. S., & Yamada, H. Y. (2017).** Frequently mutated genes/pathways and genomic instability as prevention targets in liver cancer. *Carcinogenesis*, 38(1), 2-11.
- **Rasouli-Nasab, M., Fatahi-Bafghi, M., Habibnia, S., Heidarieh, P., & Eshraghi, S. S. (2017).** Comparison of various methods for isolation of *Nocardia* from soil. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 19(2).
- **Ray, C., Ryan, K., & Kenneth, R. (2004).** Sherrish Medical Microbiology: An introduction to infectious Diseases McGraw Hill. New York, NY.[Google Scholar].

- **Revia, R. A., & Zhang, M. (2016).** Magnetite nanoparticles for cancer diagnosis, treatment, and treatment monitoring: recent advances. *Materials today*, 19(3), 157-168.
- **Riggio, A. I., Varley, K. E., & Welm, A. L. (2021).** The lingering mysteries of metastatic recurrence in breast cancer. *British journal of cancer*, 124(1), 13-26
- **Roy, S., Das, T. K., Maiti, G. P., & Basu, U. (2016).** Microbial biosynthesis of nontoxic gold nanoparticles. *Materials Science and Engineering: B*, 203, 41-51.
- **Rutherford, G., Xiao, B., Carvajal, C., Farrell, M., Santiago, K., Cashwell, I., & Pradhan, A. (2015).** Photochemical growth of highly densely packed gold nanoparticle films for biomedical diagnostics. *ECS Journal of Solid State Science and Technology*, 4(10), S3071.
- **Safa, A. R. (2022).** Drug and apoptosis resistance in cancer stem cells: a puzzle with many pieces. *Cancer Drug Resistance*, 5(4), 850.
- **Said, D., Ali, A., Khayyat, M., Boustimi, M., Loulou, M., & Seoudi, R. (2019).** A study of the influence of plasmonic resonance of gold nanoparticle doped PEDOT: PSS on the performance of organic solar cells based on CuPc/C60. *Heliyon*, 5(11).
- **Sajid, M., Ilyas, M., Basheer, C., Tariq, M., Daud, M., Baig, N., & Shehzad, F. (2015).** Impact of nanoparticles on human and environment: review of toxicity factors, exposures, control strategies, and future prospects. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 4122-4143.
- **Salem, S. S., & Fouda, A. (2021).** Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. *Biological trace element research*, 199, 344-370.
- **Salman, Y. M. & Abd Atae, F. G. (2021).** Antibacterial and immunological effects of biosynthesized magnesium oxide (MgO) nanoparticles produced by bacteria. M.Sc. thesis. college of Science, Department of Biology, Babylon. University Babylon.Iraq.
- **Sánchez-López, E., Gomes, D., Esteruelas, G., Bonilla, L., Lopez-Machado, A. L., Galindo, R., Cano, A., Espina, M., Ettcheto, M., & Camins, A. (2020).** Metal-based nanoparticles as antimicrobial agents: an overview. *Nanomaterials*, 10(2), 292.

- **Santhosh, P. B., Genova, J., & Chamati, H. (2022).** Green synthesis of gold nanoparticles: An eco-friendly approach. *Chemistry*, 4(2), 345-369.
- **Sathishkumar, M., Pavagadhi, S., Mahadevan, A., & Balasubramanian, R. (2015).** Biosynthesis of gold nanoparticles and related cytotoxicity evaluation using A549 cells. *Ecotoxicology and environmental safety*, 114, 232-240.
- **Sathiyaraj, S., Suriyakala, G., Gandhi, A. D., Babujanathanam, R., Almaary, K. S., Chen, T.-W., & Kaviyarasu, K. (2021).** Biosynthesis, characterization, and antibacterial activity of gold nanoparticles. *Journal of infection and public health*, 14(12), 1842-1847.
- **Sau, S., Alsaab, H. O., Bhise, K., Alzhrani, R., Nabil, G., & Iyer, A. K. (2018).** Multifunctional nanoparticles for cancer immunotherapy: A groundbreaking approach for reprogramming malfunctioned tumor environment. *Journal of Controlled release*, 274, 24-34.
- **Schaeublin, N. M., Braydich-Stolle, L. K., Schrand, A. M., Miller, J. M., Hutchison, J., Schlager, J. J., & Hussain, S. M. (2011).** Surface charge of gold nanoparticles mediates mechanism of toxicity. *Nanoscale*, 3(2), 410-420.
- **SCHWARZM. E., & FELLWOCK, E. (1971).** CHARACTERIZATION OF GOLDQUOXIDE AND GOLD-OXIDE. ZEITSCHRIFT FUR NATURFORSCHUNG PART B-CHEMIE BIOCHEMIE BIOPHYSIK BIOLOGIE UND VERWANDTEN GEBIETE, (12), 1369.
- **Seo, J. M., Kim, E. B., Hyun, M. S., Kim, B. B., & Park, T. J. (2015).** Self-assembly of biogenic gold nanoparticles and their use to enhance drug delivery into cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 135, 27-34.
- **Könen-Adıgüzel, S., Adıgüzel, A. O., Ay, H., Alpdoğan, S., Şahin, N., Çaputçu, A., ... & Tunçer, M. (2018).** Genotoxic, cytotoxic, antimicrobial and antioxidant properties of gold nanoparticles synthesized by *Nocardia* sp. GTS18 using response surface methodology. *Materials Research Express*, 5(11), 115402.1
- **Shaheen, T. I., Salem, S., & Fouda, A. (2021).** Current advances in fungal nanobiotechnology: Mycofabrication and applications. *Microbial nanobiotechnology: Principles and applications*, 113-143.

- **Shahriari, M., Hemmati, S., Zangeneh, A., & Zangeneh, M. M. (2019).** Biosynthesis of gold nanoparticles using *Allium noeanum* Reut. ex Regel leaves aqueous extract; characterization and analysis of their cytotoxicity, antioxidant, and antibacterial properties. *Applied organometallic chemistry*, 33(11), e5189.
- **Shukla, R., Bansal, V., Chaudhary, M., Basu, A., Bhonde, R. R., & Sastry, M. (2005).** Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: a microscopic overview. *Langmuir*, 21(23), 10644-10654.
- **Siddiqi, K. S., & Husen, A. (2017).** Recent advances in plant-mediated engineered gold nanoparticles and their application in biological system. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 40, 10-23.
- **Singh, M., Sandhu, R. S., & Randhawa, H. S. (1987).** Comparison of paraffin baiting and conventional culture techniques for isolation of *Nocardia asteroides* from sputum. *Journal of clinical microbiology*, 25(1), 176-177.
- **Singh, P., Pandit, S., Mokkapati, V., Garg, A., Ravikumar, V., & Mijakovic, I. (2018).** Gold nanoparticles in diagnostics and therapeutics for human cancer. *International journal of molecular sciences*, 19(7), 1979.
- **Smith, A. T., LaChance, A. M., Zeng, S., Liu, B., & Sun, L. (2019).** Synthesis, properties, and applications of graphene oxide/reduced graphene oxide and their nanocomposites. *Nano Materials Science*, 1(1), 31-47.
- **Sohn, E. K., Chung, Y. S., Johari, S. A., Kim, T. G., Kim, J. K., Lee, J. H., Lee, Y. H., Kang, S. W., & Yu, I. J. (2015).** Acute toxicity comparison of single-walled carbon nanotubes in various freshwater organisms. *BioMed Research International*, 2015.
- **Soliman, S. S., Alhamidi, T. B., Abdin, S., Almeahdi, A. M., Semreen, M. H., Alhumaidi, R. B., Shakartalla, S. B., Haider, M., Husseiny, M. I., & Omar, H. A. (2020).** Effective targeting of breast cancer cells (MCF7) via novel biogenic synthesis of gold nanoparticles using cancer-derived metabolites. *PloS one*, 15(10), e0240156.
- **Soloviev, M. (2012).** *Nanoparticles in biology and medicine: methods and protocols*. Springer.

- **Soltaninezhad, M., Khatami, M., & SHAHIDI, B. G. (2015).** Streptomyces somaliensis mediated green synthesis of silver nanoparticles.
- **Song, G., Cheng, N., Zhang, J., Huang, H., Yuan, Y., He, X., Luo, Y., & Huang, K. (2021).** Nanoscale cerium oxide: Synthesis, biocatalytic mechanism, and applications. *Catalysts*, *11*(9), 1123.
- **Spoială, A., Ilie, C.-I., Motelica, L., Fikai, D., Semenescu, A., Oprea, O.-C., & Fikai, A. (2023).** Smart magnetic drug delivery systems for the treatment of cancer. *Nanomaterials*, *13*(5), 876.
- **Stratton, M. R. (2011).** Exploring the genomes of cancer cells: progress and promise. *science*, *331*(6024), 1553-1558.
- **Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021).** Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, *71*(3), 209-249.
- **Sykes, G., & Skinner, F. A. (1973).** Actinomycetales; characteristics and practical importance. The Society for Applied Bacteriology Symposium. Series No. 2. Actinomycetales; characteristics and practical importance. The Society for Applied Bacteriology Symposium. Series No. 2.,
- **Tai, C. Y., Tai, C.-T., Chang, M.-H., & Liu, H.-S. (2007).** Synthesis of magnesium hydroxide and oxide nanoparticles using a spinning disk reactor. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, *46*(17), 5536-5541.
- **TANAKA, Y., KOMAKI, H., YAZAWA, K., MIKAMI, Y., NEMOTO, A., TOJYO, T., KADOWAKI, K., SHIGEMORI, H., & KOBAYASHI, J. I. (1997).** Brasilinolide A, a new macrolide antibiotic produced by *Nocardia brasiliensis*: producing strain, isolation and biological activity. *The Journal of Antibiotics*, *50*(12), 1036-1041.
- **Tao, A. R., Habas, S., & Yang, P. (2008).** Shape control of colloidal metal nanocrystals. *small*, *4*(3), 310-325.
- **Tchaplyguine, M., Mikkela, M.-H., Zhang, C., Andersson, T., & Bjorneholm, O. (2015).** Gold oxide nanoparticles with variable gold oxidation state. *The Journal of Physical Chemistry C*, *119*(16), 8937-8943.
- **Teimouri, M., Khosravi-Nejad, F., Attar, F., Saboury, A. A., Kostova, I., Benelli, G., & Falahati, M. (2018).** Gold

- nanoparticles fabrication by plant extracts: synthesis, characterization, degradation of 4-nitrophenol from industrial wastewater, and insecticidal activity—a review. *Journal of cleaner production*, 184, 740-753.
- **Tripathi, G. K. (2019).** Engineered Nanomaterials And Their Properties: A Review. *Biosci. Biotechnol. Res. Commun*, 12, 764-771.
 - **Tufail, M., Cui, J., & Wu, C. (2022).** Breast cancer: molecular mechanisms of underlying resistance and therapeutic approaches. *American Journal of Cancer Research*, 12(7), 2920.
 - **Urban, D. A., Milosevic, A. M., Bossert, D., Crippa, F., Moore, T. L., Geers, C., Balog, S., Rothen-Rutishauser, B., & Petri-Fink, A. (2018).** Taylor dispersion of inorganic nanoparticles and comparison to dynamic light scattering and transmission electron microscopy. *Colloid and Interface Science Communications*, 22, 29-33.
 - **Vale de Macedo, G. H. R., Costa, G. D. E., Oliveira, E. R., Damasceno, G. V., Mendonça, J. S. P., Silva, L. d. S., Chagas, V. L., Bazán, J. M. N., Aliança, A. S. d. S., & Miranda, R. d. C. M. d. (2021).** Interplay between escape pathogens and immunity in skin infections: An overview of the major determinants of virulence and antibiotic resistance. *Pathogens*, 10(2), 148.
 - **AndrásE. Vladára , Vasile-Dan Hodoroabab(2020)** a *Characterization* of nanoparticles by scanning electron microscopy. *Characterization of Nanoparticles*, 7–27. doi:10.1016/b978-0-12-814182-3.00002-x
 - **Vos, T., Abajobir, A. A., Abate, K. H., Abbafati, C., Abbas, K. M., Abd-Allah, F., Abdulkader, R. S., Abdulle, A. M., Abebo, T. A., & Abera, S. F. (2017).** Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet*, 390(10100), 1211-1259.
 - **Waks, A. G., & Winer, E. P. (2019).** Breast cancer treatment: a review. *Jama*, 321(3), 288-300.
 - **Wang, K., Zhang, W., Zhang, X., Hu, X., Chang, S., & Zhang, H. (2020).** Highly sensitive gold nanoparticles–DNA nanosensor for γ -radiation detection. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12(37), 42403-42409.

- **Watkins, J., Elder, R., Greene, B., & Darnall, D. W. (1987).** Determination of gold binding in an algal biomass using EXAFS and XANES spectroscopies. *Inorganic Chemistry*, 26(7), 1147-1151.
- **Wauters, G., Avesani, V., Charlier, J., Janssens, M., Vanechoutte, M., & Delmée, M. (2005).** Distribution of *Nocardia* species in clinical samples and their routine rapid identification in the laboratory. *Journal of clinical microbiology*, 43(6), 2624-2628.
- **Weiherr, N., Willneff, E., Figulla-Kroschel, C., Jansen, M., & Schroeder, S. (2003).** Extended X-ray absorption fine-structure (EXAFS) of a complex oxide structure: a full multiple scattering analysis of the Au L3-edge EXAFS of Au₂O₃. *Solid state communications*, 125(6), 317-322.
- **Williams, S. T. (1989).** *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams & Wilkins.
- **Wilson, J. W. (2012).** Nocardiosis: updates and clinical overview. *Mayo Clinic Proceedings*,
- **Wu, G., Wilson, G., George, J., Liddle, C., Hebbard, L., & Qiao, L. (2017).** Overcoming treatment resistance in cancer: Current understanding and tactics. *Cancer letters*, 387, 69-76.
- **Wu, S., Zhu, W., Thompson, P., & Hannun, Y. A. (2018).** Evaluating intrinsic and non-intrinsic cancer risk factors. *Nature communications*, 9(1), 3490.
- **Xu, W. T., Shen, G. N., Li, T. Z., Zhang, Y., Zhang, T., Xue, H., Zuo, W. B., Li, Y. N., Zhang, D. J., & Jin, C. H. (2020).** Isoorientin induces the apoptosis and cell cycle arrest of A549 human lung cancer cells via the ROS-regulated MAPK, STAT3 and NF-κB signaling pathways. *International journal of oncology*, 57(2), 550-561.
- **Yamamura, H., Hayakawa, M., & Iimura, Y. (2003).** Application of sucrose-gradient centrifugation for selective isolation of *Nocardia* spp. from soil. *Journal of applied microbiology*, 95(4), 677-685.
- **Yang, W., Liang, H., Ma, S., Wang, D., & Huang, J. (2019).** Gold nanoparticle based photothermal therapy: Development and application for effective cancer treatment. *Sustainable Materials and Technologies*, 22, e00109.
- **Yin, H., Casey, P. S., & McCall, M. J. (2010).** Surface modifications of ZnO nanoparticles and their cytotoxicity.

- Journal of nanoscience and nanotechnology*, 10(11), 7565-7570.
- **Yu, T., Xu, C., Qiao, J., Zhang, R., & Qi, L. (2019).** Green synthesis of gold nanoclusters using papaya juice for detection of L-lysine. *Chinese Chemical Letters*, 30(3), 660-663.
 - **Yuan, H., Ji, W., Chu, S., Liu, Q., Qian, S., Guang, J., Wang, J., Han, X., Masson, J.-F., & Peng, W. (2019).** Mercaptopyridine-functionalized gold nanoparticles for fiber-optic surface plasmon resonance Hg²⁺ sensing. *ACS sensors*, 4(3), 704-710.
 - **Zhang, J., Liu, Z., & Goodfellow, M. (2004).** *Nocardia xishanensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54(6), 2301-2305.
 - **Zhang, Y., Zhou, Y., Mao, F., Yao, R., & Sun, Q. (2020).** Ki-67 index, progesterone receptor expression, histologic grade and tumor size in predicting breast cancer recurrence risk: A consecutive cohort study. *Cancer Communications*, 40(4), 181-193.

الملاحق

Appendex

ملحق رقم (1) يبين تسلسل القواعد النروجينية للبكتيريا المعزولة من التربة
 قيد الدراسة بإستعمال برنامج Blast

B) 16S sequences of *Nocardia asteroides*

GATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACC
 TCTTTCGACAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGC
 ACCGGCCAACACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAG
 CGTTGTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTCGTCTG
 CGTCGTTTCGTGAAAACCTTGGGGCTCAACCCCAAGCTTGCGGGCGATA
 CGGGCGGACTAGAGTACTTCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGC
 GGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGT
 CTCTGGGAAGTAACTGACGCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAAC
 AGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGTACTAGG
 TGTGGGTTTTCCTTCCACGGGATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGT
 ACCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAAC TCAAAGGAATTG
 ACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAA
 CGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATACACCGGAAACCTGCAGAG
 ATGTAGGCCCCCTTGTGGTCCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGT
 CAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
 CCTTATCTTATGTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGGACTCGTGAGAGAC
 TGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCAT
 GCCCCTTATGTCCAGGGCTTCACACATGCTACAATGGCCGGTACAGA
 GGGCTGCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCTTAAAGCCGGTCTCA
 GTTCGGATCGGGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTTGGAGTCGCTA
 GTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
 TACACACCGCCCGTCACGTCATGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGG
 TGGCCTAACCTTGTGGAGGGAGCCGTCGAAG

bp 1066

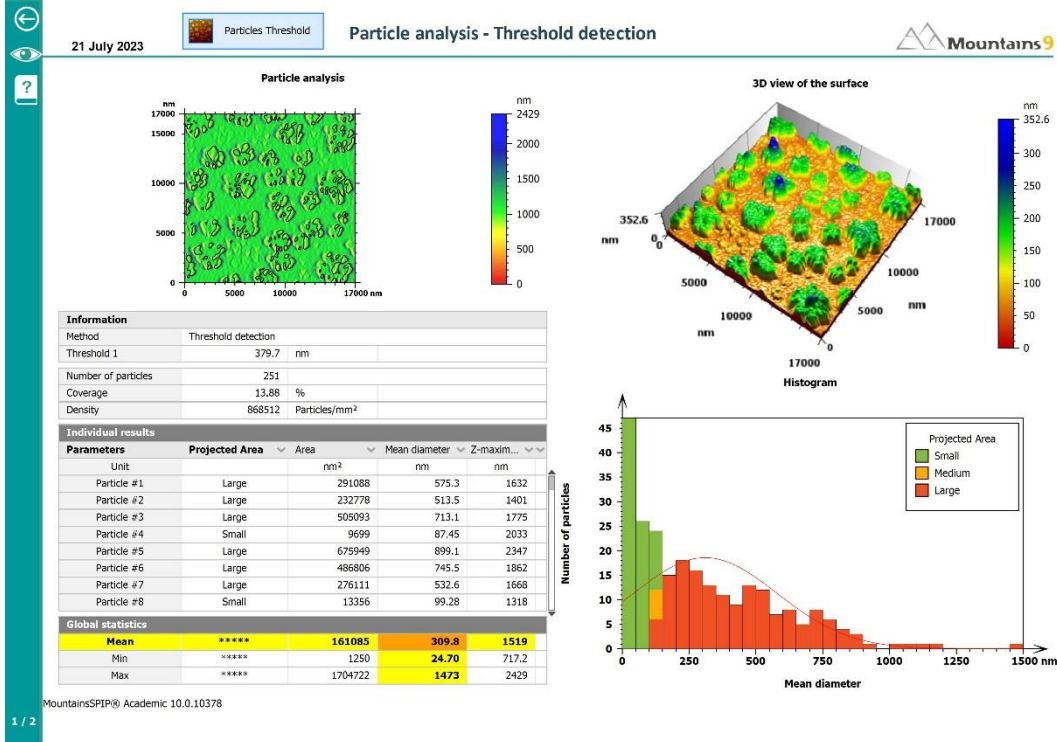
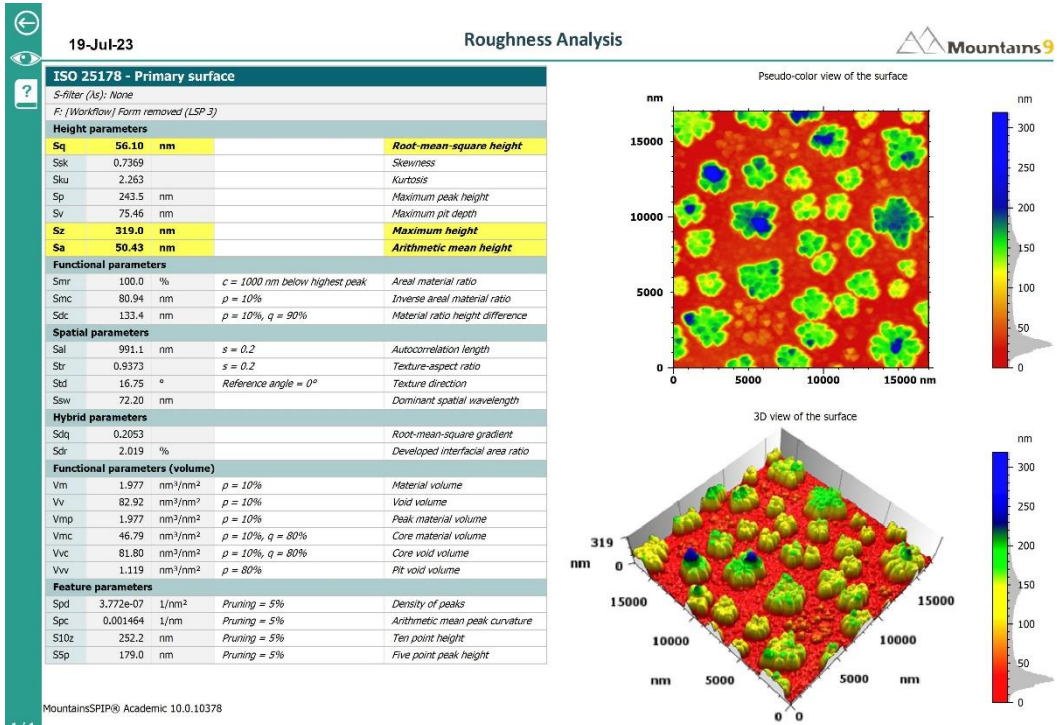
C) 16S sequences of *Nocardia goodfellowii*

GCGCAAGTGACGGTACCTGTAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGTGCC
 AGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAGCGTGTCCGGAATTACTG
 GCGTAAAGAGCTTGTAGGCGGTTTGTGCGGTCGTTTGTGAAAACCTT
 GGGGCTCAACCCCAAGCTTGCAGGCATACGGGCAGACTAGAGTACT
 TCAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATAT
 CAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGAAGTAACTGAC

GCTGAGAAGCGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCGTAACCGGTGGGTACTAGGTGTGGGTTTCCTTCCACG
GGATCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTAC
GGCCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
GGCGGAGCATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTG
GGTTTGACATACACCAGAAACACCTAGAGATAGGTGCCCCCTTGTGG
TTGGTGTACAGGTGGTG

bp 581

ملحق رقم (2) يبين مجهر القوة الذرية



Abstract

Abstract

The current study focuses on the production of gold oxide nanoparticles by an easy and low-cost environmentally friendly method using (extract) *Nocardia* bacteria.

Nanotechnology has been known as a modern field that deals with the development of technology at the atomic or molecular level, in which structures and devices with a length scale in the range of 1 to 100 nanometers are processed and studied.

During the current study, soil samples were collected for the period from November 2022 to mid-May 2023 from different areas in Maysan Governorate, including rice fields (Greater Hungary), home gardens in various areas, and agricultural lands.

The soil samples were brought to the Biotechnology Laboratory at the Faculty of Science at Maysan University. A large number of bacteria were then isolated using the Serial dilution method. The bacteria were initially diagnosed using a light microscope, then diagnosed by biochemical examinations, and finally by Polymerase chain reaction (PCR) for molecular diagnostics. Two types of nocardia bacteria, *Nocardia asteroides* and *Nocardia goodii*, were isolated. A new strain of isolated bacteria was obtained and registered at the NCBI Center under accession number OR625083, and the isolate was named Sameh-S2. After the bacteria were diagnosed, the bacterial species were screened to test their potential for use in the biosynthesis of gold oxide nanoparticles .

The bacterial filtrate was mixed with a gold chloride solution, and the results showed a change in color for one bacterium, *Nocardia*

Abstract

asteroides, as an indication and preliminary evidence of the formation of gold oxide nanoparticles. The production of bioprepared gold oxide nanoparticles was confirmed by physical characterization such as UV-VIS spectrophotometer examination showed the presence of UV spectrophotometer peaks at wavelengths between 265 and 306 nm, and X-ray diffraction analysis revealed the presence of an orthorhombic crystal structure of gold oxide particles. The results of the electron transition microscope (TEM) showed that the bioprepared gold nanoparticles in this study possess sizes between 23 and 12 nanometers and different shapes.

The field emission scanning microscope also showed the examination of surface and structural morphology, size and shape, where the average diameter of the nanoparticles was calculated and the final value of this diameter was 19 nm and the results of the atomic force microscope showed that gold oxide nanoparticles have a surface ranging from (56.1-319 nm) with areas ranging in diameter from (24.7 – 1473 nm) and the average diameter of the peaks is 309 nm. Zeta potential data showed that gold oxide nanoparticles gained negative surface charges at -26.19 mV. FTIR data revealed effective ranges and aggregates that may be involved in the reduction and biosynthesis of gold oxide nanoparticles. The anti-gold oxide nanoparticles efficacy against four types of antibiotic-resistant bacteria was tested using two methods, disk diffusion technique and dilution method.

The cytotoxicity of gold oxide nanoparticles has also been tested against MCF-7 human breast cancer cells and HepG2 liver cancer

Abstract

cells. Human and normal cells of the MEF embryo using different concentrations

(100,75,50,25,12.5, 6.25) ug/ml The data revealed that these particles showed efficacy against the mentioned cells in a concentration-based manner, as the inhibitory concentration of half of the cells was IC₅₀ for gold oxide nanoparticles manufactured from the bacteria *Nocardia asteroides* MT355849 against cell lines, MEF MCF-7, HepG2 is 46.84, 12.22, 85.91 µg/ml respectively These results showed that the toxicity of gold oxide nanoparticles towards liver cells was higher compared to breast cancer cells and normal cells. The results of the statistical analysis Using Graph Pad Prism software confirmed the existence of significant differences between the inhibitory concentrations of cancer cells at a significant level of 0.05.

**Ministry of Higher Education
And Science Research
University of Misan
Collage of Science
Department of Biology**



**Isolation and identification of Nocardia bacteria from
soil and their use in the synthesis of nano-gold oxide for
medical purposes**

**Submitted to the council of the college of science\ University of
Misan as partial fulfilment of the requiriements for the master
degree in biology**

By

Ala Faleh Hassan

B.Sc.Biology(2019)

Supervised

Assist . Prof . Dr. Rashid Rahim Hateet

Supervised

Assist . Prof . Munther ABD Alhasan Khudair

2023 A.D

1444A.H