جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

تولید داربست های پلیمر : قالب گیری حلال

PROCESSING OF POLYMER SCAFFOLDS : SOLVENT CASTING

گرگوری- ای- رات کوفسکی، چریل-ای- میله، و سوریا- کی-مالاپراگادا

پیشگفتار

قالب گیری حلال یک روش ساده برای تولید ساختارها در مهندسی بافت است. در این روش پلیمر در یک حلال مناسب حل شده و در قالب ریخته می شود. سپس حلال حذف گردیده و حالت پلیمر را در شکل دلخواه (مورد نظر)حفظ می کند این شیوه به شکل های قابل حصول محدود می شود. عموماً، صفحات صاف و لوله ها تنها طرح های قابل شکل گیری هستند اما با قرار دادن صفحات صاف روی هم نیز می توان ترکیبات پیچیده تری تهیه کرد (فصل ۵۹، لایه بندی غشاء را ببینید) فیلم ها را می توان با شستن ذراتی مانند کریستال های نمک کاشته شده درون پلیمر به صورت متخلخل در آورد. همچنین ترکیب حلال- پلیمر ر می توان در یک غیر حلال پلیمر که قابلیت مخلوط شدن در حلال اول را دارد قرار داد. این روش به نام وارونگی فاز یا جداسازی (فصل ٦٢، جداسازی فاز را ببینید) شناخته شده و برای شکل دادن به غشاهای متخلخل نامتقارن استفاده می شود.

مزیت اصلی قالب گیری حلال، سادگی ساخت بدون احتیاج به تجهیزات خاص است. همچنین به دلیل اینکه عمل ساخت در دمای اتاق انجام می گیرد نرخ تخریب پلیمر زیست تخریب پذیر به روش قالب‌گیری حلال کمتر از فیلم های قالب گرفته شده از طریق تراکم خواهد بود. (شکل ۱-۵۸) عیب اصلی قالب گیری حلال باقی ماندن احتمالی حلال سمی دورن پلیمر است. برای رفع این عیب باید به پلیمر اجازه داد تا کاملاً خشک شده و سپس با استفاده از خلا (مکش) حلال باقی مانده را خارج نمود. همچنین استفاده از حلال می تواند ماهیت پروتئین و دیگر مولکولهای موجود

جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

در پلیمر را تغییر دهد که این حالت در فیلم های ساخته شده توسط شیوه های دیگر مانند قالب گیری تراکمی (فشاری) نیز می تواند رخ دهد.

-انتخاب حلال CHOICE OF SOLVENT

فاکتورهایی را که باید در زمان انتخاب حلال در نظر گرفت عبارتند از: قدرت حلال، نرخ تبخیر، ویسکوزیته، بقای حلال و خصوصیات سمیت. حلال ها به وسیله نیروهای بین مولکولیشان طبقه بندی می شوند (جدول ۱-۵۸). اینها فاکتورهایی هستند که بر چگونگی بر هم کنش حلال با پلیمر تأثیر گذاشته و قدرت و بقای حلال را تحت تأثیر قرار می دهد. پارامتر قابلیت حلالیت برای تعیین قدرت حلال به کار برده می شود. سرعت حل شدن پلیمر توسط حلال متناسب با پارامتر قابلیت حلالیت است. پارامترهای قابلیت حلالیت برای حلال های متداول در جدول ۲-۵۸ آمده است . پارامتر قابلیت حلالیت برای پلیمرها از طریق آزمایش و استفاده از حلال های مختلف یا بر اساس مقادیر محاسبه شده بر روی گروهی از پلیمرها تعیین می شود. روش های توسعه یافته دیگری نیز وجود دارند که از نیروهای پاشیدگی(dispersion forces)،قطبیت و باند شدن هیدروژن در پارامتر حلالیت حدسی(نظری) استفاده می کنند.

نرخ تبخیر بستگی به نقطه جوش حلال دارد. حلال هایی با نقطه جوش پائین با نرخ سریعتری تبخیر می شوند. عمل خشک کردن فیلم قالب حلال در دو مرحله اتفاق می افتد. در مرحله اول، حلال با نرخی تقریباً معادل با حلال خالص، تنها از فیلم بخار می شود. و در نهایت فیلم به صورت ژلاتینی درآمده و تبخیر به واسطه انتشار حلال در میان پلیمر محدود می شود. در خلال این مرحله، فاکتورهای دیگری مانند نوع پلیمر، حالت فیزیکی (شیشه ای یا لاستیکی) و ممانعت فضایی حلال بسیار مهم تر از تبخیر است. حلال های بیشتری در پلیمرهای شیشه ای نسبت به

جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

پلیمرهای لاستیکی باقی می مانند. شکل مولکول حلال وابسته به پلیمر تعیین کننده انتشار حلال در میان ماتریس است. همواره مقدار کمی حلال به واسطه تعادل ایجاد شده با پلیمر در درون فیلم باقی می ماند. مقدار حلال باقی مانده در درون پلیمر بستگی به بر هم کنش حلال با پلیمر دارد.

شرایط محیطی متفاوت می تواند بر مقدار حلال باقی مانده در فیلم اثر داشته باشد. تبخیر یک حلال در شرایط خاص توسط فشار بخار تعیین می گردد. رطوبت هوا می تواند نرخ تبخیر را کاهش دهد. همچنین قرار دادن فیلم در خلاء تبخیر حلال را افزایش می دهد.گرم کردن فیلم هم سبب تبخیر بیشتر حلال می شود اما می تواند باعث تخریب پلیمر نیز شود.

ویسکوزیته یک سیال، معیار مقاومت آن در برابر شارش است. که به دما، نیروهای بین مولکولی و وزن مولکولی حلال بستگی دارد. برای یک محلول حلال- پلیمر، ویسکوزیته مؤثر بستگی به بر هم کنش حلال- پلیمر و ساختار و وزن مولکولی پلیمر دارد. با این حال، مدل های ریاضی مانند معادلات مارک-هونیک- ساکورادا برای پیش بینی ویسکوزیته محلول به کار برده می شوند. البته برای تعیین پارامترهای به کار رفته در چنین مدل هایی، هنوز سنجش های آزمایشگاهی ضروری است. ویسکوزیته که تعیین کننده وضعیت شارش محلول در طول فرایند قالب گیری است، برای فیلم های قالب- حلال از اهمیت ویژه ای برخوردار است. این عامل همچنین، یکنواختی

جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

(همدیسی) ضخامت فیلم را تضمین می‌کند. برای ساخت فیلم های نازک باید از محلول بالزجت کم (ویسکوزیته پائین) استفاده کرد.

فاکتور نهایی که در انتخاب حلال اهمیت دارد سمیت حلال است. به خاطر طبیعت ناپایدار حلال‌ها، حلال های آلی بسیار قابل اشتعال بوده و باید در هنگام به کار بردن آنها در تولید فیلم های قالب- حلال محتاط عمل کرد. از آنجا که مقدار حلال باقیمانده در فیلم پلیمر به صورت تعادلی است، حلال انتخاب شده باید در سطوح غیر سمی برای سلول ها نگهداری شود. تحقیقات سمیت باید بر روی فیلم های قالب- حلال و همچنین پلیمر خالص انجام گیرد تا از عدم وجود مرگ بیش از حد سلول بر اثر حلال اطمینان پیدا کنیم.

با توجه به تنوع گسترده پلیمرهای موجود برای مهندسی بافت و تعداد زیاد حلال ها، انتخاب ترکیب مناسب می تواند دشوار باشد. جدول ۳-۵۸ فهرستی از پلیمرهای مختلف به کار رفته در مهندسی بافت را به همراه حلال های معمول آنها نشان می دهد. به طور کلی اغلب پلیمرها در

جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

برخی انواع حلال های آلی قابل حل شدن هستند. اگر چه پلی ارتواسترها را می توان بدون استفاده از حلال برای ساخت دستگاهها به کار برد. حلالی که درنهایت انتخاب می شود، باید قابلیت پاک شدن (خارج شدن) از فیلم پلیمر را داشته باشد تا از میزان سمیت همزمان با تضمین قابلیت مناسب قالب ریزی کاسته شود.

-قالب ریزی حلال SOLVENT CASTING

در ساخت فیلم های قالب- حلال معمولاً پلیمر در حلالی با غلظت ۳۰٪-۱۰ حل می شود. مقدار غلظت بستگی به ویسکوزیته محلول نهایی و کاربرد مورد نظر فیلم قالبت- حلال دارد. غلظت پائین سبب یکنواختی ضخامت فیلم می شود اما فیلم های نازک تری به دست خواهد آمد. برای به دست آوردن فیلم های ضخیم تر از قالب ریزی و خشک کردن مکرر استفاده می شود. غلظت پائین همچنین زمان خشک کردن بیشتری را برای اطمینان از تبخیر کافی (مناسب) حلال از فیلم طلب می‌کند.

www.kandoocn.com

جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

برای به دست آوردن شکل مورد نظر می توان محلول پلیمر را بر روی سطح مختلفی ریخت. نوارهای پوششی شیشه ای (Glass coverslips) و ظروف پتری وسایل متداولی هستند که در شکل دهی فیلم های مسطح نازک به کار برده می شوند. سطوح نچسب مانند تفلون را نیز می توان برای کمک به جداسازی فیلم از قالب مورد استفاده قرار داد. سطوح دیگر ممکن است نیاز به آزاد سازی شناسه داشته باشند که می تواند در رشد دانه های سلول بر روی بستر اثر بگذارد. قالب ریزی حلال را می توان علاوه بر ساخت فیلم های مسطح برای شکل دهی مجاری لوله ای نیز به کار برد. در این حالت یک میله به درون محلول پلیمر فرو برده شده و سپس خشک میشود. معمولاً ازمیله های شیشه ای برای این کار استفاده می گردد. هرچند میله های پلی وینیل الکل پیشنهادی دارای مزیت حذف آب توسط انحلال بدون احتمال تغییر شکل لوله هستند. از طریق پرداخت (زدودن) یون واکنش پذیر می توان برای ساخت قالب های میکروالگوهایی (micro patterned) از جنس ویفرهای سیلیکونی استفاده کرد چنین قالب هایی را می توان برای ساخت فیلم هایی با سطوح میکروالگوهایی که به طور فیزیکی رشد سلول ها را هدایت می کنند به کار برد. (شکل ۲-۵۸).

برای شکل دهی فیلم های فوق نازک ($<۵\ \mu m$) از پوشش دهنده چرخشی استفاده می‌شود، (شکل ۳-۵۸). پوشش دهنده چرخشی از یک برآمدگی تشکیل شده است که با سرعت rpm ۱-۵۰۰۰ می چرخد. خلاء از درون این برآمدگی به داخل کشیده می شود تا تضمین کننده ثبوت قالب در محل خود باشد. سرعت دورانی و شتاب و زمان چرخشی قابل کنترل هستند. زمانی که

جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

قالب در محل خود قرار گرفت و چرخش تنظیم شد، محلول پلیمر درون سطح در حال چرخش ریخته شده و نیروهای سانتریفوژ سبب پخش شدن محلول به فیلمهای بسیار نازک با ضخامت یکنواخت می شود. سرعت دوران، ویسکوزیته محلول و چگالی همه فاکتورهایی هستند که ضخامت فیلم را تعیین می کنند.

قالب گیری حلال می تواند همچنین از مشخصه های خود پلیمر جهت ایجاد فیلم های منحصر به فرد بهره ببرد. فیلم های ساخته شده از کوپلیمرهای بلوکی می توانند دارای ویژگی هایی باشند که در هوموپلیمرها دیده نمی شوند. برای مثال فیلم های ساخته شده با پولی جی- بنزیل ال- گلوتامیت کوپلیمر شده با اتیلن (PBLG-PEO) حل شده در کلروفرم می تواند بر چسبندگی و تکثیر سلول ها بر سطح تأثیر بگذارند. PBLG یک پلیمر آب گریز است در صورتی که PEO آب دوست است. فیلم های قالب- حلال PBLG-PEOداری ساختار هایی جدا از هم میکروفازی هستند که متناسب با مقدار PEO بر چسبندگی سلول اثر میگذارد. فیلم های لانگ موئیر- بلوجت به وسیله قرار دادن محلول پلیمر بر لایه آب ساخته می شوند. در این نوع فیلم، کوپلیمر بلوکی خودش را به نحوی به صورت تک لایه ردیف می‌کند که انتهای PEO به سمت آب و PBLG به سمت خارج باشد. سپس فیلم ها را می توان از سطح آب به هر بستر مناسب دیگر منتقل کرد. چنین فیلم هایی از یک طرف اجازه چسبندگی سلولی را داده و از طرف دیگر ممانعت می کنند.

بعد از ریخته شدن محلول به فیلم اجازه می دهیم تا خشک شود. در ابتدا، حلال از محلول با نرخ تحمیل شده توسط نقطه تبخیر حلال خالص، بخار می شود. بعد از اینکه فیلم به صورت ژل در آمد، تبخیر توسط انتشار حلال از میان ماتریس پلیمر محدود می شود. زمان خشک شدن متناسب با ضخامت فیلم و نقطه تبخیر حلال تغییر می‌کند. حذف اضافی حلال با قرار دادن فیلم در خلاء

جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

انجام می شود. به طور کلی، فیلم قبل از قرارگرفتن در خلاء باید در فشار معمولی تا زمان سخت شدن خشک شود.

خلاء باید به تدریج کاهش یابد تا از تبخیر ناگهانی حلال باقیمانده درون ماتریس پلیمر جلوگیری کند. این وضعیت می تواند منجر به تغییر شکل فیلم به صورت حفره های بزرگ شود (شکل ٤-٥٨). به طور کلی باید فیلم فرصت داشته باشد تا برای ٦ الی ٨ ساعت خشک شده و سپس به مدت ٢٤ ساعت تحت خلاء قرار گیرد تا از خارج شدن کامل حلال اطمینان حاصل شود.

با خارج شدن فیلم خشک شده از قالب فیلم آماده استفاده خواهد بود. برای به دست آوردن شکل نهایی شاید نیاز به پردازش های اضافی نیز باشد. فیلم را می توان به شکل متفاوت یا حتی به فرم حلقه (رل) و به صورت مجراهای لوله ای درآورد. همچنین سطح را می توان جهت ارتقاء چسندگی سلول یا تکثیر سلولی توسط فاکتورهای مختلف اصلاح کرد

-تحلیل سطح SURFACE ANAYSIS

فیلم های قالب- حلال مهندسی بافت با در آمیختن فاکتورهای مختلف در سطح به چسبندگی سلول یا ارتقاء رشد سلولی کمک می‌کند. روش های تحلیلی متنوعی برای تشریح سطح این فیلم ها توسعه یافته اند. در ابتدا، از روش میکروسکوپی نوری و اسکن الکترونی می توان برای تشریح

جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

توپولوژی سطح به روش معمول بررسی بصری استفاده کرد. شیوه های پیشرفته تری نیز برای تعیین جزئیات توپوگرافی و ارزیابی توده و ترکیب شیمیایی سطح فیلم وجود دارد.

میکروسکوپی نیروی اتمی (AFM) را می توان برای ارزیابی غیر مخرب توپوگرافی سطح فیلم به کار برد. در AFM، نور لیزر از یک بازوی ستونی که در پاسخ به تغییرات تراز سطح فیلم حرکت می‌کند منعکس می شود. قدرت تفکیک در این وسیله درحدود ۰/۱nm است. عمل اسکن این بازو بر روی سطح ممکن است در صورت بر هم کنش نوک (رأس) شی با مولکولهای ضعیف مهار شده سطحی سبب تغییر شکل اشیاء نرم شود.

اطلاعات شیمیایی در مورد ساختار مولکولی ماده توده فیلم از طریق طیف نگاری تبدیل فوریه انعکاس کلی تضعیف شده مادون قرمز (ATR-FTIR) که مبتنی بر نوارهای ارتعاشی واحدهای باند شده است، به دست می آید. ترکیبات سطح با استفاده از طیف نگاری الکترون برای تحلیل شیمیایی (ESCA) یا طیف نگاری فوتوالکترون اشعه X(XPS) و طیف سنجی ثانویه توده یونی (SIMS) ارزیابی می شود. ESCA می تواند تا عمق A° ۱۰۰ سطح را آنالیز کند، در حالیکه SIMS تنها به عمق A° ۱۵-۱۰ می رسد. ESCA از پرتوهای X فرودی برای آزاد کردن الکترون های تراز هسته که به وسیله تحلیل گر طیف انرژی شناسائی می شوند استفاده می‌کند. این روش می تواند برای بررسی دینامیک های سطح پلیمر و پویایی (دینامیک) پروتئین رونشین استفاده شود. SIMS را می توان برای تکمیل اطلاعات به دست آمده از ESCA به کار برد. از ترکیب SIMS با طیف شیمیایی می توان جهت تعیین گونه های شیمیایی حتی پروتئین رونشین شده (جمع شده) بر سطوح فیلم استفاده کرد.

از سنجش های زاویه تماس(contact angle) می توان برای تعیین قابلیت خیس شوندگی سطح فیلم بهره برد. هنگامی که یک قطره مایع با سطح فیلم در تماس بوده و با رطوبت اطراف در تعادل

جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

باشد زاویه بین سطحی مایع- گاز و بین سطحی مایع- جامد را می توان برای تعیین انرژی سطح به کار برد. انرژی سطح نشان دهنده قطبیت گروههای عملیاتی در ارتفاع A° ۱۰-۲ است. آب گریزی یا آب دوستی سطح فیلم در تعیین بر هم کنش های سلولی با سطح فیلم اهمیت دارند.

این روش ها ابزار آلات ارزشمندی را طلب می‌کند تا کاربرد فیلم های قالب- حلال را به منظور ساختارهای پشتیبان برای بافت ها ارزیابی کند. در تفسیر نتایج باید دقت کافی مبذول داشت زیرا شیوه های متفاوت در محیط هایی که بسیار نامشابه با شرایط بیولوژیکی می باشند صورت می گیرند. برای مثال ESCA و SIMS تحت شرایط خلاء بسیار زیاد، انجام می شود که سبب باقی ماندن حلال درون فیلم می گردد. با این وجود شیوه های بسیار متنوعی برای توصیف سطح وجود دارد که هر کدام باید با جزئیات ارزیابی گردد تا مناسبت آنالیز فیلم های قالب- حلال را مشخص نماید.

-چکیده

قالب ریزی حلال یک روش ساده و ارزان است که به منظور تولید بستر هایی برای کاربردهای مهندسی بافت به کار گرفته می شود. حلال های بی شماری برای حل کردن پلیمرها در دسترس هستند اما در انتخاب حلال باید دقت داشت تا در زمان حذف (خارج سازی) هر گونه اثر سمی از سلول های کاشته شده، پایداری پلیمر حفظ شود. این شیوه اجازه شکل گیری اشکال ساده مانند صفحات تخت و لوله ها با قابلیت ورقه ورقه شدن، شستن (پالایش) ذره ای و قالب ریزی دوار برای تهیه ساختار پیچیده تر را می دهد. همچنین از آنجا که قالب ریزی در دمای اتاق انجام می گیرد در اثر فشار قالب ریزی و بیرون زدن، تخریب القایی گرما برای پلیمر رخ نمی دهد. هنگامی که فیلم ها ساخته شدند روش های تحلیلی مختلفی مانند ESCA و SIMS و سنجش های زاویه

جهت خرید فایل به سایت www.kandoocn.com مراجعه نمایید یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۰۳۵۲۲۸۸۶ تماس حاصل نمایید

تماس را می توان جهت تشریح ساختار پلیمر همچنین مواد رونشین شده (جمع شده) بر سطح بستر به کار برد.

www.kandoocn.com