کاربردهای فناوری نانو در تولید حسگرهای زیستی نانو

ناصر صباغ نیا[1]، محسن جان محمدی[2]

[1]دانشگاه مراغه، مراغه sabaghnia@yahoo.com
[2]دانشگاه مراغه، مراغه Mohsen_janmohammadi@yahoo.com

چکیده

در دهه های اخیر DNA نقش جدیدی را در زمینه علوم مواد پیدا کرد. مولکولهای DNA هم بعنوان واحدهای ساخته شده بصورت سنتتیک برای ایجاد ساختارهایی در مقیاس نانو کاربرد دارند و هم بعنوان الگوهای قابل برنامه‌ریزی که قابل تغییر نیز می‌باشند برای سر هم کردن مواد در مقیاس نانو مورد استفاده قرار می‌گیرند. نوکلئیک اسیدها می‌توانند بعنوان آنزیمها (دزواکسی ریبوزیم‌ها و ریبوزیم‌ها) و همچنین بعنوان گیرنده‌ها (آپتامرها) فعالیت کنند و این نوکلئیک اسیدهای کارکردی را (FNAs) می‌توان در طبیعت یافت و یا از خزانه‌های نوکلئیک اسیدهای تصادفی جداسازی کرد. نانوحسگرهای زیستی ساخته شده از FNAs برای شناسایی یونهای فلزی مضر در مطالعات زیست محیطی طراحی شدند. این حسگرهای زیستی برای اهداف زیست محیطی مختلف بسیار مناسب هستند. این مطالعه یک نمای کلی از پیشرفت‌های اخیر در کاربرد FNA ها بعنوان حسگرهای جدید برای شناسایی مولکولهای زیستی و نانوفناوری ارائه می‌دهد.

واژه‌های کلیدی

نانوحسگرهای زیستی، نوکلئیک اسیدها، نانوفناوری.

۱. مقدمه

بطور معمول بنظر می‌رسد که مولکول‌های DNA تنها کاری که انجام می‌دهند انتقال اطلاعات ژنتیکی از یک نسل به نسل دیگر است. بطور ساختاری DNA می‌تواند بطور اختصاصی با رشته DNA دیگری که الگوی مکملی با آن دارد باند شود و باعث تشکیل یک زنجیره دو رشته‌ای شود که می‌تواند بصورت یک میله یا رشته ثابتی تا ۵۰ نانومتر ارتفاع برسد. علاوه بر این DNA می‌تواند با دامنه وسیعی از فلوروفورها و گروههای دیگر تغییر ساختاری پیدا کند. این ویژگی قادر می‌سازد که DNA توانایی چسبیدن به نانوذرات را داشته باشد. DNA در مقایسه با RNA و پروتیین حساسیت خیلی کمتری به هیدرولیز دارند و بنابراین بسیار پایدارتر از RNA و پروتیین خواهند بود. این ویژگیها باعث می‌شود DNA بیوپلیمری باشد با توالی‌های قابل پیش‌بینی. این ویژگیها باعث ساختن ساختارهای ژئومتریک و توپولوژیک بر پایه DNA می‌شود [۱] . با استفاده از انتهاهای چسبنده در DNA (Sticky ends) نانوذرات و یا پروتیین‌ها می‌توانند الگوهای خاصی را تشکیل دهند یا DNA همچنین می‌تواند به نانوذرات غیر آلی بچسبد و بصورت برنامه ریزی شده باعث تشکیل ساختارهای دارای تعداد محدودی ذره و یا اتصال دهنده مجموعه‌ای از نانوذرات باشد. در اوخر قرن گذشته، مولکول‌های DNA متعددی، معروف به آپتامر(Aptamer)، جداسازی شدند که قادر بودند به یک دامنه وسیعی از مولکولها با قابلیت شناسایی اختصاصی بسیار بالا و بصورت موثر متصل شوند. مولکول‌هایی که می‌توان بوسیله آپتامرها شناسایی کرد شامل مولکولهای آلی کوچک، پروتیین‌ها، سلول‌ها و حتی ذرات ویروسی می‌باشند.

پیشرفت دیگر در گسترش کاربرد DNA اتفاق افتاد زمانی بود که نشان داده شد که DNA بعنوان یک کاتالیست (Catalyst) عمل می‌کند. از این رو این مولکول های DNA کاتالیتیک DNAzymes (DNA آنزیم، دزواکسی ریبوزیم (deoxyribozyme) و غیره نیز نامیده شده‌اند) نامگذاری شدند. علاوه بر این DNAzyme ها و آپتامرها بمنظور تولید DNAzyme های آلوستریک یا آپتازایم‌ها (Aptazymes) باهمدیگر ترکیب شدند. این DNAzyme ها، آپتامرها و آپتازایمها مجموعاً DNA های کارکردی (Functional nucleic acids) نامگذاری شده و به اختصار FNA نامیده شدند [۲]. بدلیل بدست آمدن پیشرفت‌های بسیار زیاد در زمینه نانوفناوری DNA و مطالعات DNA های کارگردی طبیعی است که این دو زمینه علمی بسیار هیجان انگیز را بمنظور ایجاد یک زمینه علمی جدید ادغام کرد که این علم جدید از DNA کاربردی بمنظور کنترل و میزان کردن دقیق ساختار و دینامیک نانوساختارهای DNA و مواد استفاده می کند. این اتفاق دقیقاً همان چیزی است که در چند سال اخیر رخ داده است.

۲. نوکلئیک اسیدهای کارکردی بعنوان حسگر

FNA ها یا نوکلئیک اسیدهای کارکردی گزینه‌های جالبی بعنوان نانوحسگر می‌باشند. این مواد می‌توانند به اهداف متنوعی شامل موادی که آنتی‌بادی به سختی می‌تواند به آنها متصل شود (نظیر توکسین‌ها) بچسبد. ویژگیهای خاص FNA ها طراحی حسگرهای خاصی را برای کارهایی که نمی‌توان با گیرنده‌های پروتیین انجام داد ممکن می‌سازد. یک حسگر زیستی بعنوان یک ساختاری مرکب از یک عنصر شناسایی مولکولی (Molecular recognition element) در ترکیب با یک عنصر القا کننده سیگنال شناخته می‌شود. تشخیص اپتیکی بوسیله اسپکتروسکوپی فلورسنت یک روش عمومی و معمول می‌باشد. این روش به این دلیل مورد توجه است که FNA ها می توانند به آسانی با مواد فلورسنتی ترکیب شوند. چندین روش برای اتصال آپتامر به یک پروب (Probe) فلورسنت وجود دارد. دو روشی که بطور متداول مورد استفاده قرار می‌گیرند روش Molecular beacon و روش Duplex-to-complex switching می‌باشند [۳]. در روش اول یک ساختاری شبیه سنجاق سر از جنس DNA وجود دارد که یک انتهای آن با ماده فلوروفوری(Fluorofore) لیبل شده است و یک خاموش کننده در انتهای دیگر آن وجود دارد. باند شدن این سنجاق سر با یک مولکول هدف باعث جدا شدن ماده فلوروفوری از خاموش کننده می‌شود و در نتیجه سیگنال فلورسنتی رخ می‌دهد. در روش دوم یک آپتامر لیبل شده با یک ماده فلورسنت در یک ساختار دوتایی با توالی DNA مکمل که آن نیز در انتهای خود یک عامل خاموش کننده برای ماده فلورسنتی دارد قرار می‌گیرد. اضافه شدن یک مولکول هدف به این ساختار باعث جدا شدن رشته مکمل متصل به خاموش کننده از ساختار می‌شود که این عمل باعث ایجاد سیگنال توسط ماده فلورسنتی در ساختار می‌شود.

تشخیص صوتی بر اساس تشخیص بسیار دقیق تغییرات توده‌ای اندازه‌گیری شده از طریق موج صوتی- سطحی انجام می‌شود. این موج از باند شدن یک مولکول مورد بررسی به یک MRE که به سطح یک ماده پیزو الکتریک (Piezoelectric) نظیر کوارتز متصل است ایجاد می شود. دانشمندان نشان داده‌اند که حسگرهای صوتی پوشش‌دار شده بوسیله آپتامرهای DNA یا RNA باند شده با ترومبین انسانی می‌توانند بطور دقیق پروتیین هدف را شناسایی کنند و اثرات متقابل بین پروتیین‌ها را در یک زمان دقیق گزارش کنند [۴]. زمینه دیگری از تشخیص پروتیین با استفاده از آپتامرها گسترش حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی است. یک حسگر الکتروشیمیایی طراحی کردند که برای شناسایی پروتیین‌های خاصی با pI بالا مناسب بود. حسگر آنها مرکب از یک الکترود تغییر داده شده بود. این حسگر با یک DNA آپتامر با لیزوزیم باند می‌شود و دارای Pi برابر ۱۱ می‌باشد. همچنین یک حسگر الکتروشیمیایی جدیدی را گزارش شده است که پتانسیل بکارگیری در هر ترکیب پروتیین- آپتامر را دارد. الکترود آنها با یک DNA آپتامر باند شونده با ترومبین که ساختار سنجاق سری داشته و قادر به باند شدن با متیلن بلو (Methylene blue) بعنوان یک مارکر الکتروشیمیایی بود تغییر پیدا می‌کرد. حضور مولکول هدف در محیط الکترود ناحیه ساقه‌ای سنجاق سر را در این ترکیب از بین برده و باعث آزاد شدن مارکر الکتروشیمیایی در محیط می‌شود. این اتفاق باعث کاهش در میزان سیگنال الکتروشیمیایی می‌شود.

حساسیت بالا، حجم مورد نیاز کم و توانایی شناسایی در زمان دقیق و توانایی بررسی همه جانبه آنها ویژگیهای اصلی یک حسگر زیستی ایده‌ال است. حسگرهای ساخته شده از ذرات فلزی نانو که با FNAها تغییر داده شده‌اند این پتانسیل‌ها را دارند. ذرات طلای نانو با یک ضریب خاموشی بالا (AuNPs) فلزات بسیار مناسبی برای Biosensing می‌باشند که از طریق تغییر رنگ با چشم غیر مسلح قابل مشاهده می‌باشند [۵]. نقاط کوانتومی نانوکریستال‌هایی از جنس سلنید کادمیوم پوشش‌دار شده با سولفید روی می‌باشند و زمانی که با نور کم انرژی تحریک می‌شوند خاصیت فلورسنتی پیدا می‌کنند. آپتامرهای DNA باند شده با ترومبین را به یک نقطه کوانتومی متصل شده است که از یک خاموش‌کننده لیبل شده با الیگونوکلئوتید برای نگه داشتن آپتامر در یک فرم غیر فعال استفاده کردند. اضافه کردن ترومبین باعث رها شدن الیگونوکلئوتیدهای خاموش کننده می‌شود که این تغییر باعث افزایش خاصیت فلورسانتی می‌شود.

۳. حسگرهای یونهای فلزات خطرناک برای انسان و محیط زیست

یونهای فلزی خاص نظیر سرب و جیوه بدلیل ایجاد آلودگی در محیط زیست برای محیط زیست بسیار مضر هستند و منجر به ایجاد مشکلاتی در سلامتی انسان و جانوران می‌شوند. بنابراین حسگرهایی که بتوانند به آسانی این یونهای فلزی را تشخیص دهند و شناسایی کنند بسیار مورد توجه دانشمندان و سازمانهایی که وظیفه محافظت از محیط زیست را بر عهده دارند می‌باشند. یک تشخیص دهنده سرب بر اساس دزواکسی ریبوزیم طراحی شده است که در غیاب یونهای سرب در محیط فعالیت خیلی ضعیفی برای نشان دادن خاصیت فلورسنت همراه سوبسترا دارد. در حالی که وقتی سرب در محیط وجود داشت حسگر سوبسترا را می‌شکست و منجر به ایجاد سیگنال فلورسنتی در محیط می‌شد. این مولکول حسگر اخیراً بعنوان یک MRE که قادر به شناسایی تقریباً fmol ۱ از یون سرب در محیط می‌باشد استفاده شده است [۵]. همچنین از ذرات طلای نانو برای طراحی حسگرهای Colorimetric استفاده شده است. در نهایت یک حسگر جیوه بر اساس یک دزواکسی ریبوزیم طراحی کرده‌اند که می‌تواند بطور اختصاصی بوسیله جیوه دو ظرفیتی خاموش می‌شود.

۴. نتیجه‌گیری

با وجود این مولکول‌های DNA کارکردی (FNA) نظیر آپتامرها، DNAzyme ها و آپتازایم‌ها در حال حاضر کاربردهای وسیعی تقریباً در تمامی زمینه‌های نانوفناوری DNA پیدا کرده است. بنابراین زمینه کاری نانوفناوری DNA بطور معنی‌داری در حال افزایش است و منجر به ایجاد اختراعات و ترکیبات جدیدی می‌شوند که می‌توانند در اکثر زمینه‌های علمی دیگر برای کارهای عملی نظیر شناسایی، مدیریت و کنترل محیطی، کارهای پزشکی و شناسایی داروها، نانوالکترونیک، نانو فتونیک و محاسبات کوانتومی به کار گرفته شوند. در آینده ما شاهد ترکیب ابزارهای منفرد کنونی در سیستم‌های پیچیده چندگانه خواهیم بود. تحقیقات چند بعدی نظیر کاربرد نانوابزارهای مبتنی بر DNA های کارکردی در زمینه عملی مثل بیوفیزیک و زیست‌شناسی باعث گسترش کاربرد عملی این سیستم‌ها در زمینه‌های جدید نیز خواهد شد. مهمتر اینکه توان تلفیق و انتخاب اسید نوکلئیک‌های کارکردی باعث می‌شود که این مولکول‌ها بعنوان یک منبع بسیار عظیم و مهم برای توسعه نانوفناوری زیستی محسوب شوند.

منابع

[1] Zhang, Z., Jin, J., Paluzzi, V. E., Jin, Z., Wen, Y., Huang, C. Z., ... & Zuo, H. (2023). AMP Aptamer Programs DNA Tile Cohesion without Canonical Base Pairing. Journal of the American Chemical Society.

[2] Cao, X., Chen, C., & Zhu, Q. (2023). Biosensors based on functional nucleic acids and isothermal amplification techniques. Talanta, 253, 123977.

[3] Yadav, J., Ankush, Khushboo, Thakur, M., Yadav, K., Sharma, M., & Dubey, K. K. (2019). Aptasensor-Possible Design and Strategy for Aptamer Based Sensor. Aptamers: Biotechnological Applications of a Next Generation Tool, 133-154.

[4] Fathizadeh, S., & Behnia, S. (2020). Control of a DNA based piezoelectric biosensor. Journal of the Physical Society of Japan, 89(2), 024004.

[5] Behzadifar, S., Hosseini, M., Mohammadnejad, J., & Asiabanha, M. (2021). A new colorimetric assay for sensitive detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency based on silver nanoparticles. Nanotechnology, 33(5), 055502.