



روشی برای توالی سنجی مولکول دی‌ان‌ای با استفاده از نانولوله کربنی: مطالعه دینامیک مولکولی

حسین نجات پیشکناری^{1*}، مسعود یوسفی²

1- استادیار، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران

2- دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران

* تهران، صندوق پستی 11155-9567، nejat@sharif.ir

اطلاعات مقاله

مقاله پژوهشی کامل

دریافت: 25 اردیبهشت 1395

پذیرش: 22 خرداد 1395

ارائه در سایت: 15 تیر 1395

کلید واژگان:

دینامیک مولکولی

توالی سنجی مولکول دی‌ان‌ای

نانولوله کربنی

نانوحفره گرافن

چکیده

دی‌ان‌ای از مولکول‌هایی به نام نوکلئوتید تشکیل شده است. چهار نوع نوکلئوتید در دی‌ان‌ای وجود دارند: آدنین، سیتوزین، گوانین و تیمین. مشخص کردن ترتیب بازهای تشکیل دهنده دی‌ان‌ای را توالی سنجی دی‌ان‌ای می‌نامند. این توالی تعیین کننده ژن‌ها خواهد بود و ژن‌ها تعیین کننده صفات منحصر به فرد هر شخص هستند. از این رو تحقیقات ژنتیکی نقش مهمی در تشخیص، پیشگیری و یا درمان بیماری‌های ناشی از اختلالات و جهش‌های ژنتیکی ایفا می‌کنند. روش‌های معمول برای توالی سنجی عمدتاً بر پایه واکنش‌های شیمیایی بنا نهاده شده‌اند. این روش‌ها دارای معایبی هستند مانند از بین رفتن دی‌ان‌ای و هزینه بالا. به همین علت، در سال‌های اخیر با پیشرفت روش‌های شبیه سازی در مقیاس مولکولی، رویکردهای متنوعی برای توالی سنجی مولکول دی‌ان‌ای ایجاد شده است. در این مقاله ابتدا یک روش مناسب برای توالی سنجی ارائه می‌گردد و سپس صحت عملکرد آن با استفاده از شبیه سازی‌های دینامیک مولکولی بررسی می‌گردد. در این روش مولکول دی‌ان‌ای ابتدا از داخل نانولوله کربنی و سپس از نانوحفره گرافن با سرعت مشخصی عبور می‌کند. سپس با تحلیل نیروی لازم برای عبور آن، بازها شناخته می‌شود. در این روش پیشنهادی سرعت و هزینه توالی سنجی بهبود می‌یابد.

A Method of DNA Sequencing By Using Carbon Nanotube: A Molecular Dynamics Study

Hossein Nejat Pishkenari*, Masoud Yousefi

Department of Mechanical Engineering, Sharif University of Technology, Tehran, Iran

* P.O.B. 111559567, Tehran, Iran, nejat@sharif.ir

ARTICLE INFORMATION

Original Research Paper

Received 14 May 2016

Accepted 11 June 2016

Available Online 05 July 2016

Keywords:

Molecular Dynamics

DNA sequencing

Carbon nanotube

graphene nanopore

ABSTRACT

DNA is made up of molecules called nucleotides. There are four different nucleotides in DNA which are called Adenine, Guanine, Cytosine, and Thymine, or simply A, G, C and T. Determining the order of these bases is called DNA sequencing. This sequence determines the genes and these genes specify an individual's unique traits. Therefore, the genetic research plays an important role in detection, prevention and treatment of diseases which are caused by genetic abnormalities and mutations. Common DNA sequencing methods are usually based on chemical reactions. These methods have some disadvantages, for example, they are expensive and also they cause DNA to be lost. So, in recent years the progress in molecular scale simulation methods has produced various approaches for DNA sequencing. In this paper, a suitable method for DNA sequencing has been presented and its accuracy is investigated by molecular dynamics simulations. In this method, DNA molecule passes through the carbon nanotube first, and then the graphene nanopore, with a specific speed. Different bases are determined by analyzing the required force for passing DNA. In this proposed method, the speed and cost of sequencing are improved.

1- مقدمه

رشته‌ای وجود دارد. بازهای دو رشته متفاوت با پیوند هیدروژنی به یکدیگر متصل شده‌اند، که باعث ایجاد ساختار مارپیچ دوتایی شده است. آدنین با پیوند هیدروژنی به تیمین و گوانین به سیتوزین متصل هستند. بنابراین اگر توالی یک رشته از دی‌ان‌ای دو رشته‌ای شناخته شود توالی رشته دوم نیز شناخته شده است. این نوع از پیوند با نام جفت باز واتسون-کریک شناخته می‌شود [2].

هر رشته دی‌ان‌ای شامل واحدهای تکرار شونده‌ای به نام نوکلئوتید است. سه بخش یک نوکلئوتید قند، فسفات و باز است. بازها در دی‌ان‌ای عبارتند از آدنین (A)، سیتوزین (C)، گوانین (G) و تیمین (T) [1]. آدنین و گوانین پورین هستند که هریک شامل دو حلقه کربن/نیتروژن هستند. تیمین و سیتوزین پیریمیدین هستند که هریک یک حلقه دارند. دی‌ان‌ای معمولاً به شکل دو

[25]. با وجود ضخامت حداقلی، گرافن به عنوان یک غشا در حالت آزاد مقاوم است [27,26].

از طرف دیگر قطر دی‌ان‌ای دو رشته‌ای حدود 2.5 nm است [28] و فاصله بین بازها نیز 0.34 nm است. دی‌ان‌ای تک رشته‌ای قطری کمتر از 1 nm دارد و فاصله بین بازها می‌تواند تا 0.6 nm کشیده شود [29] زیرا دیگر پیوند هیدروژنی و تابیدنی در کار نیست.

بنابراین ضخامت ورقه گرافن در محدوده فاصله نوکلئوتیدی در یک دی‌ان‌ای تک رشته است. در نتیجه در هر زمان فقط یک نوکلئوتید در حال عبور از نانوحفره است. این ویژگی خاص نانوحفره گرافن را به یک ماده عالی برای توالی سنجی دی‌ان‌ای تبدیل می‌کند.

در این تحقیق مولکول دی‌ان‌ای با عبور از یک نانولوله کربنی به نانوحفره گرافنی می‌رسد و با اعمال نیرو از نانوحفره عبور می‌کند. شکل 1 نمایی کلی از اجزای شبیه سازی و موقعیت آن‌ها نسبت به یکدیگر را نشان می‌دهد. ایده اصلی این است که بتوان با تجزیه و تحلیل مقادیر نیروی وارده بر دی‌ان‌ای برای عبور از نانوحفره توالی نوکلئوتیدهای تشکیل دهنده دی‌ان‌ای را پیدا کرد. برای این منظور از شبیه سازی تمام اتمی دینامیک مولکولی استفاده شده است.

صفحه گرافن با ابعاد $4 \text{ nm} \times 4 \text{ nm}$ در نظر گرفته شد. هرچند بزرگتر بودن صفحه باعث می‌شود تا مرزهای سیستم اثر کمتری بر نتایج داشته باشند، اما صفحه بزرگتر به معنای تعداد اتم بیشتر است که باعث افزایش زمان شبیه‌سازی می‌شود. این موضوع باعث می‌شود تا ابعاد تا حد امکان کوچکتر انتخاب شوند. اما نباید به اندازه‌ای کوچک باشد تا فاصله اتم‌هایی که در کنار نانوحفره هستند با مرزهای گرافن از شعاع قطع کمتر شود. در نهایت با در نظر گرفتن این موارد ابعاد فوق انتخاب گردیدند.

همچنین یک نانوحفره با قطر تقریبی 1 nm نیز در وسط این صفحه وجود دارد. قطر و شکل نانوحفره خود از پارامترهایی هستند که در نتیجه تاثیر دارند و می‌توان به طور جداگانه این تاثیر را بررسی کرد و این پارامترها را طوری تعیین کرد تا به بهبود نتایج توالی سنجی کمک کنند. اما آن طور که مشخص است اگر قطر زیاد باشد، تفاوت نیروها کمتر و در نتیجه شناسایی سخت‌تر می‌شود. حداقل قطر نیز با قطر مولکول دی‌ان‌ای تک رشته‌ای محدود می‌شود. با این ملاحظات قطر انتخاب شد. شکل نانوحفره نیز به گونه ای انتخاب شده است که تا حد امکان عبور دی‌ان‌ای از قسمت‌های مختلف نانوحفره تاثیری در نتیجه نداشته باشد.

نقش نانولوله کربنی جهت دهی به دی‌ان‌ای قبل از رسیدن به گرافن است. در واقع اگر از نانولوله کربنی استفاده نشود مولکول دی‌ان‌ای در نزدیکی نانوحفره تجمع می‌کند. در این حالت نیرویی که محاسبه می‌شود ناشی از برهم‌کنش تعداد زیادی نوکلئوتید با صفحه گرافن است. بنابراین توالی سنجی بسیار مشکل می‌شود. به عبارت دیگر نانولوله کربنی باعث عبور منظم و یکنواخت دی‌ان‌ای از نانوحفره می‌شود.

نانولوله کربنی مورد نظر دارای طول 12 nm و کایرالیته $m=15, n=0$ است. به عبارتی دیگر قطر آن حدود 1 nm خواهد بود. طول نانولوله کمی بیشتر از طول دی‌ان‌ای تک رشته‌ای کشیده شده می‌باشد، تا هنگامی که دی‌ان‌ای به صفحه گرافن می‌رسد، تمام دی‌ان‌ای وارد نانولوله شده باشد. در غیر این صورت بخشی از نیرویی که برای توالی سنجی مورد بررسی قرار می‌گیرد ناشی از ورود دی‌ان‌ای به نانولوله است. نانولوله کربنی در فاصله 1 nm از صفحه گرافن طوری قرار دارد تا محور آن از مرکز نانوحفره بگذرد.

تکنیک‌های توالی سنجی دی‌ان‌ای¹ ابزاری کلیدی در بسیاری از زمینه‌ها هستند. بسیاری از علوم مختلف اعم از باستان شناسی، انسان شناسی، ژنتیک، بیوتکنولوژی، زیست شناسی مولکولی، علوم پزشکی قانونی از مزیت‌های این روش‌ها بهره می‌برند [3].

با پیشرفت فناوری ساخت در مقیاس میکرو و نانو، امکان پژوهش ارزان‌تر، دقیق‌تر و سریع‌تر پدیده‌های بیوفیزیکی و بیوشیمیایی فراهم شده است. یکی از این زمینه‌ها که توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است، تعیین توالی دی‌ان‌ای با استفاده از پروب در مقیاس نانو است [5,4]. رویکردهای جدید در این زمینه، بر اساس تفاوت در خواص فیزیکی نوکلئوتیدها بنا شده است. از این رو این روش‌ها را می‌توان به سه دسته طبقه بندی کرد [6]:

1. روش‌های مبتنی بر خواص الکترونیکی، که خود شامل موارد زیر است:

1-1. اندازه گیری انسداد یونی هنگامی که دی‌ان‌ای تک رشته‌ای² از یک نانوحفره عبور می‌کند [8,7] شامل منافذ حالت جامد [10,9]، منافذ بیولوژیکی [12,11]، و منافذ مهندسی شده [14,13]، 1-2. اندازه‌گیری جریان الکترونیکی از طریق نوکلئوتید دی‌ان‌ای هنگامی که از یک نانوحفره عبور می‌کند [16,15]، 1-3. اندازه گیری نوسانات ولتاژ در خازن تعبیه شده در نانوحفره هنگامی که دی‌ان‌ای تک رشته‌ای از آن عبور می‌کند [18,17].

2. روش‌های نوری که در آن یک دی‌ان‌ای طراح از هم جدا می‌شود و توالی سنجی با تجزیه و تحلیل سیگنال‌های نوری حاصل از آن انجام می‌شود [19].

3. روش‌هایی که از انبرک‌های نوری برای کنترل حرکت دی‌ان‌ای استفاده می‌کنند که تشخیص نیرویی نامیده می‌شوند [21,20].

همچنین برخی از روش‌ها بر پایه تفاوت میان اصطکاک مولکولی نوکلئوتید، هنگامی که یک دی‌ان‌ای تک رشته‌ای از یک بستر دارای نانوحفره کشیده می‌شود [22]، یا زمانی که یک حلقه مولکولی بر روی دی‌ان‌ای تک رشته‌ای کشیده می‌شود [23]، بنا شده‌اند. دشواری اصلی این روش‌ها عبور دی‌ان‌ای تک رشته‌ای از نانوحفره است [22]. به طور کلی، روش‌های توسعه یافته را می‌توان بر اساس پارامترهایی مانند: طول خواندن، سرعت توالی سنجی، تفکیک پذیری توالی سنجی و هزینه توالی سنجی ارزیابی نمود [24].

2- سیستم شبیه سازی

با وجود پیشرفت‌هایی که در زمینه روش‌های توالی سنجی بر مبنای نانوحفره‌ها حاصل شده است اما همچنان ردیابی نوکلئوتیدها با دقت تک باز در مولکول دی‌ان‌ای تک رشته‌ای دشوار است. علت این امر ضخامت چند نانومتری نانوحفره‌هاست که به تازگی استفاده از نانوحفره‌های ایجاد شده در گرافن تک لایه برای حل این مشکل پیشنهاد شده است. ماهیت ضخامت تک اتمی گرافن می‌تواند دقت بالایی در شناسایی نوکلئوتیدها ارائه دهد. بنابراین در تحقیق حاضر نیز از نانوحفره گرافن استفاده شده است.

نانوحفره گرافن ویژگی‌های خاص و متفاوتی نسبت به سایر نانوحفره‌ها برای توالی سنجی دارد. گرافن یک لایه دو بعدی از اتم‌های کربن است که در یک شبکه لانه زنبوری با ضخامت فقط یک لایه اتم ($\sim 0.3 \text{ nm}$) قرار دارد

¹ DNA sequencing

² Single Strand DNA (ssDNA)

نموداری گویا نخواهد بود. بنابراین نیاز است تا نمودار هموار شود. این کار به کمک نرم افزار متلب² انجام شده است.

عبور دی‌ان‌ای از نانوحفره به صورت توقف-حرکت رخ می‌دهد. چرا که هنگام رسیدن یک نوکلئوتید به نانوحفره نیروی وارد بر دی‌ان‌ای به اندازه‌ای بزرگ نیست تا بتواند باعث عبور نوکلئوتید شود. در نتیجه حرکت دی‌ان‌ای متوقف می‌شود و نیرو افزایش می‌یابد تا حدی که آن نوکلئوتید عبور کند، سپس نیرو دوباره افت می‌کند و این روند تکرار می‌شود. بنابراین می‌توان عبور هر نوکلئوتید از نانوحفره را متناظر با یک حداکثر محلی در نمودار نیرو بر حسب زمان دانست. در نتیجه در این تحقیق توالی سنجی با استفاده از حداکثر محلی نیرو انجام می‌شود. برای اولین حل، توالی AGTAGATGACTCTC در نظر گرفته شد. پس از حل مسئله، نمودار نیرو بر حسب زمان آن در شکل 2 آمده است.

از این پس از نمودار حداکثر محلی نیرو استفاده می‌شود. در این نمودار تنها مقدار حداکثر محلی نیرو برای هر نوکلئوتید نمایش داده می‌شود. همان طور که از شکل نیز مشخص است، نوکلئوتید آخر در نمودار نیرو اثری از خود باقی نمی‌گذارد. با بررسی دقیق تر دیده شد که آخرین نوکلئوتید با توجه به آزادی بیشتر، می‌چرخد و به سادگی از نانوحفره عبور می‌کند. به همین دلیل این نوکلئوتید قابل شناسایی نخواهد بود.

با توجه به نتیجه قسمت قبل این طور به نظر می‌رسد که اگر چه نوکلئوتید عبوری بر مقدار نیرو تاثیرگذار است اما تنها عامل موثر نیست. با بررسی دقیق تر عبور دی‌ان‌ای از نانوحفره این احتمال مطرح شد که شاید علاوه بر نوکلئوتید در حال عبور از نانوحفره، نوکلئوتیدهای قبلی و بعدی نیز بر مقدار نیرو تاثیر گذار باشند. شکل 3 عبور دی‌ان‌ای از نانوحفره را نشان می‌دهد، همان طور که از این تصاویر مشخص است نوکلئوتید قبلی و بعدی ممکن است بسیار نزدیک به نانوحفره باشند و در نتیجه بر مقدار نیروی لازم برای عبور نوکلئوتید تاثیر داشته باشند.

پس باید تمام حالت‌های ممکن برای سه نوکلئوتید متوالی بررسی شوند. با توجه به اینکه چهار نوکلئوتید مختلف در این سه موقعیت قرار می‌گیرند، در کل $4^3=64$ حالت وجود دارد. در این بخش همه حالت‌ها شبیه سازی می‌شوند و نتایج آن‌ها ارائه می‌گردند.

در نگاه اول این طور به نظر می‌رسد که باید یک توالی با $3 \times 64 = 192$ نوکلئوتید شبیه‌سازی شود. اما در حقیقت بخشی از این توالی ترکیب‌های سه تایی تکراری هستند. بنابراین می‌توان همه 64 حالت را در یک توالی بسیار کوتاه تر از 192 تایی ایجاد کرد.

پس از ایجاد این توالی فشرده، نوبت به شبیه‌سازی آن می‌رسد.

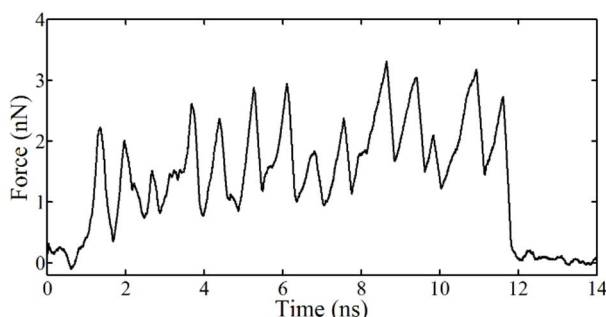


Fig. 2 Force variation during passing DNA

شکل 2 تغییرات نیرو طی عبور دی‌ان‌ای

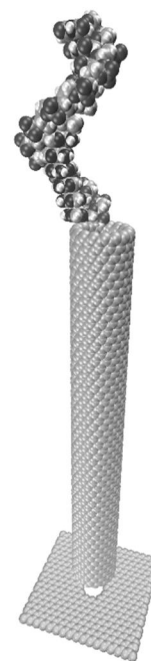


Fig. 1 Simulation setup

شکل 1 سیستم شبیه‌سازی

تمامی شبیه‌سازی‌ها با استفاده از نرم افزار NAMD [30] و در دمای ثابت انجام شده است. در این شبیه‌سازی‌ها از هنگرد NVT (تعداد ذرات، حجم و دمای ثابت) استفاده شده است [31]. دمای سیستم با توجه به دمای بدن انسان 310 K در نظر گرفته شده است که با دینامیک لنجوین کنترل می‌شود. ضریب میرایی برای دینامیک لنجوین 5 ps^{-1} قرار داده شده است [22]. شعاع قطع برابر 12 \AA و گام زمانی حل در تمام شبیه‌سازی‌ها 1 fs است.

در شبیه‌سازی انجام شده بخشی از سیستم ثابت می‌شود. یعنی در طول شبیه‌سازی موقعیت آن‌ها تغییر نخواهد کرد. بخشی از سیستم نیز با دینامیک مولکولی هدایت شده¹ کشیده خواهد شد. حرکت سایر اتم‌ها با حل معادلات دینامیک مولکولی مشخص می‌شود. در شبیه‌سازی مورد نظر نانولوله کربنی و گرافن ثابت خواهند بود و یک اتم از رشته دی‌ان‌ای نیز کشیده خواهد شد. اتم SMD با سرعت 10^{-5} آنگستروم بر گام زمانی، معادل 1 ms^{-1} حرکت می‌کند. با این سرعت پایین، عبور کامل دی‌ان‌ای از نانوحفره زمان زیادی طول خواهد کشید. اگر سرعت حرکت دی‌ان‌ای زیاد باشد برای مثال در حدود ده برابر سرعت فعلی (یعنی ده متر بر ثانیه) دیگر عبور مرحله‌ای و گسسته دی‌ان‌ای رخ نخواهد داد و در نتیجه حداکثر محلی نیرو نیز به این شکل دیده نخواهد شد. از طرف دیگر کم کردن سرعت، بر هزینه محاسباتی خواهد افزود. شبیه‌سازی این مرحله برای 15×10^6 گام زمانی معادل 15 ns انجام می‌شود. در نتیجه دی‌ان‌ای، 150 \AA حرکت خواهد نمود و کاملاً از نانوحفره گرافن عبور می‌کند.

3- نتایج و بحث

تحلیل نتایج با استفاده از اطلاعاتی انجام می‌شود که از نمودار نیرو (نیروی لازم برای عبور دی‌ان‌ای از نانوحفره) بر حسب زمان به دست می‌آید. با توجه به اینکه تعداد گام‌های حل بسیار زیاد است، ترسیم آن به شکل معمول،

² MATLAB

¹ Steered Molecular Dynamics (SMD)

می‌ماند. مشابه این روند برای توالی سه تایی بعدی تکرار می‌شود و حالت‌های غیر مشترک بین این دو حذف می‌شود. در نهایت تعداد حالت‌های باقی مانده به شدت کاهش پیدا می‌کنند.

4- نتیجه گیری

هدف این تحقیق یافتن روشی برای توالی سنجی مولکول دی‌ان‌ای و صحت سنجی آن با شبیه‌سازی دینامیک مولکولی است. در این تحقیق از نانوحفره گرافن با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد آن استفاده شد. روش کار به این ترتیب بود که دی‌ان‌ای پس از عبور از نانولوله کربنی از نانوحفره گرافن عبور می‌کند. نیروی لازم برای این عبور ثبت و تحلیل شد. با توجه به نتایج این احتمال مطرح شد که ممکن است علاوه بر نوکلئوتید عبوری، نوکلئوتید قبلی و بعدی هم بر مقدار نیرو تاثیرگذار باشند. به همین دلیل تمام توالی‌های سه تایی شبیه‌سازی شدند (شبیه‌سازی‌های مرجع). سپس برای بررسی نتایج یک توالی دلخواه شبیه‌سازی شد (شبیه‌سازی نمونه) و با شبیه‌سازی‌های مرجع مقایسه شد. این مقایسه همبستگی خوبی بین شبیه‌سازی‌های مرجع و شبیه‌سازی نمونه را نشان داد. در انتها این طور می‌توان جمع بندی کرد که نتایج به دست آمده حاکی از آن است که روش پیشنهاد شده می‌تواند در توالی سنجی دی‌ان‌ای مفید باشد، اما همچنان نیاز به تحقیقات بیشتر و بهبود عملکرد آن وجود دارد.

در تحقیق حاضر، عملکرد روش پیشنهادی با شبیه‌سازی و از جنبه تئوری بررسی شد. اما برای عملی کردن آن چالش‌های زیادی وجود دارد. از جمله این چالش‌ها عبور مولکول دی‌ان‌ای از درون نانولوله کربنی و سپس از نانوحفره گرافن است. حرکت دادن دی‌ان‌ای با سرعت‌های مطلوب و خواندن مقادیر نیرو با دقت بالا که بتوان بر اساس آن تمایز بین نوکلئوتیدها را مشخص کرد، خود چالشی دیگر است. امید است علاوه بر تحقیقات تئوری، با

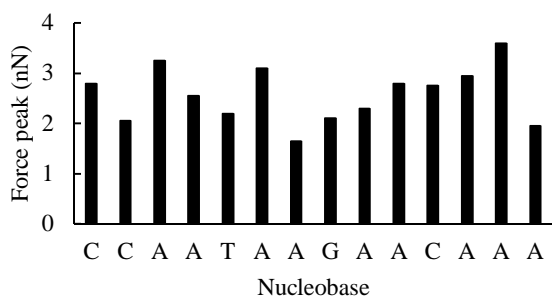


Fig. 4 Force peak for each nucleotide in reference simulations

شکل 4 حداکثر نیرو برای هر نوکلئوتید در شبیه‌سازی‌های مرجع

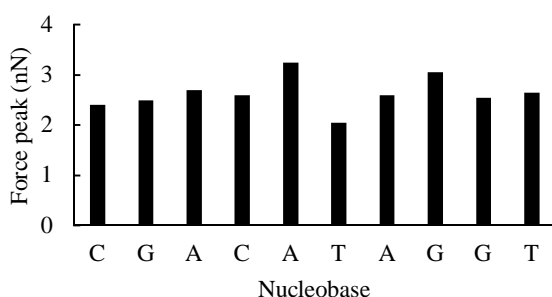


Fig. 5 Force peak for each nucleotide in sample simulations

شکل 5 حداکثر نیرو برای هر نوکلئوتید در شبیه‌سازی‌های نمونه

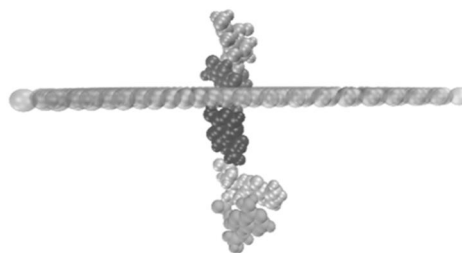


Fig. 3 Nucleotides passing through the nanopore

شکل 3 عبور نوکلئوتیدها از نانوحفره

ساده‌ترین راه حل، حل مسئله در یک شبیه‌سازی است. اما این روش بسیار زمان بر است. زیرا زمان شبیه‌سازی توسط دو عامل تعداد گام‌های حل و زمان حل هر گام تعیین می‌شود. فرض کنید توالی فشرده از 80 نوکلئوتید تشکیل شده باشد. در این صورت تعداد مراحل باید به حدی باشد تا این مجموعه 80 تایی از نانوحفره عبور کند. در مقابل روش دیگر این است که این مجموعه به دو قسمت تقسیم شوند و دو شبیه‌سازی با 40 نوکلئوتید انجام شود. مجموع تعداد مراحل دو قسمت با تعداد مراحل روش قبلی تفاوتی نمی‌کند، اما با توجه به اینکه تعداد ذرات در روش دوم کمتر است، زمان حل هر گام کمتر است. بنابراین تقسیم کردن شبیه‌سازی به دو قسمت باعث کاهش زمان حل می‌شود.

به همین ترتیب می‌توان گفت که تقسیم بیشتر باعث کاهش زمان حل می‌شود. اما از طرف دیگر با توجه به اینکه نوکلئوتید آخر، شناسایی نمی‌شود و همچنین مدیریت کردن تعداد زیادی حل کار ساده‌ای نیست. در نهایت با در نظر گرفتن موارد فوق از شش توالی استفاده شد. این توالی‌ها عبارتند از:

Sequence 1: CCAATAAGAACAAAT
Sequence 2: AGTAGATGACTCCTC
Sequence 3: TTCGTCTGCTATTAG
Sequence 4: CTTACGGAGGCGCCCT
Sequence 5: TTTGGTTGTGGGCTAC
Sequence 6: CCGACATCAGCACCTA

شکل 4 نتیجه شبیه‌سازی را برای نمونه اول نمایش می‌دهد. نمودارهای

مربوط به توالی دوم تا ششم به دلیل اختصار آورده نشده‌اند.

برای بررسی وضعیت، یک شبیه‌سازی نمونه در نظر گرفته می‌شود تا در قسمت بعد نتایج آن با شبیه‌سازی مرجع مقایسه شود. سعی شده است تا توالی نمونه متنوع باشد و از هر شش توالی قبلی در آن باشد. توالی نمونه به صورت TCGACATAGGTC انتخاب شد. شکل 5 نتیجه شبیه‌سازی نمونه را نشان می‌دهد.

مقدار نیروی ثبت شده برای هر توالی سه تایی از نوکلئوتیدها در شبیه‌سازی نمونه و شبیه‌سازی‌های مرجع، در شکل 6 کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. همان طور که از شکل نیز مشخص است، همبستگی خوبی بین مقدار پیش بینی شده از شبیه‌سازی‌های مرجع و مقدار محاسبه شده برای شبیه‌سازی نمونه وجود دارد. علت وجود این اختلاف‌ها، در تعیین سرعت‌های اولیه برای تنظیم دما است، که باعث تفاوت در حرکت نوکلئوتیدها می‌شود. در نتیجه نوکلئوتید در شرایط متفاوتی به نانوحفره می‌رسند و برهم کنش‌های متفاوتی خواهند داشت و باعث تفاوت در مقدار نیرو می‌شود. با این وجود، بیشترین اختلاف مقدار نیرو در این مقایسه 0.3 nN است. گرچه با این روش نیز نمی‌توان صرفاً بر اساس مقدار نیرو نوکلئوتید عبوری را مشخص کرد، اما می‌توان انتخاب‌ها را برای نوکلئوتید عبوری به همراه نوکلئوتید قبلی و بعدی (یک توالی سه تایی) محدود کرد. در نتیجه تنها چند حالت از 64 حالت باقی

- proceeding of the national academy of sciences of the United states of America, Vol. 97, No. 3, pp. 1079-1084, 2000.
- [13] Y. Astier, O. Braha, H. Bayley, Toward single molecule DNA sequencing: Direct identification of Ribonucleoside and Deoxyribonucleoside 5'-Monophosphates by using an engineered protein nanopore equipped with a molecular adapter, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 128, No. 5, pp. 1705-1710, 2006.
- [14] Z. Siwy, L. Trofin, P. Kohli, L.A. Baker, C. Trautmann, C. R. Martin, Protein biosensors based on biofunctionalized conical gold nanotubes, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 127, No. 14, pp. 5000-5001, 2005.
- [15] M. Zvolak, M. D. Ventra, Electronic signature of DNA nucleotides via transverse transport, *Nano Letters*, Vol. 5, No. 3, pp. 421-424, 2005.
- [16] J. Lagerqvist, M. Zvolak, M. D. Ventra, Fast DNA sequencing via transverse electronic transport, *Nano Letters*, Vol. 6, No. 4, pp. 779-782, 2006.
- [17] M. E. Gracheva, A. Xion, A. Aksimentiev, K. Schulten, G. Timp, J.-P. Leburton, Simulation of the electric response Of DNA translocation through a semiconductor nanopore-capacitor, *Nanotechnology*, Vol. 17, No. 3, pp. 622-633, 2006.
- [18] M. E. Gracheva, A. Aksimentiev, J.-P. Leburto, Electrical signatures of single-stranded DNA with single base mutations in a nanopore capacitor, *Nanotechnology*, Vol. 17, No.13, pp. 3160-3165, 2006.
- [19] J. W. Lee, A. Meller, *Rapid DNA sequencing by direct nanoscale reading of nucleotide bases on individual DNA chains*, K. Mitchelson (Ed.), *New High Throughput Technologies for DNA Sequencing and Genomics*, Vol. 2, pp. 245-263, Amsterdam: Elsevier, 2007.
- [20] U. F. Keyser, B. N. Koeleman, S. V. Dorp, D. Krapf, R. M. M. Smeets, S. G. Lemay, N. H. Dekker, C. Dekker, Direct force measurements on DNA in a solid-state nanopore, *Nature Physics*, Vol. 2, No. 7, pp. 473-477, 2006.
- [21] E. A. Abbondanzieri, W. J. Greenleaf, J. W. Shaevitz, R. Landick, S. M. Block, Direct observation of base-pair stepping by RNA polymerase, *Nature*, Vol. 438, No. 7067, pp. 460-465, 2005.
- [22] H. Qiu, W. Guo, Detecting ssDNA at single-nucleotide resolution by sub-2-nanometer pore in monoatomic graphene: A molecular dynamics study, *Applied Physics Letters*, Vol. 100, No. 8, p. 083106, 2012.
- [23] Q. Spadola, S. Qamar, L. Lin, B. Ashcroft, P. Zhang, S. M. Lindsay, Assembly of DNA rotaxanes for AFM base sequencing, 2006 *NSTI Nanotechnology Conference and Trade Show - NSTI Nanotech 2006 Technical Proceedings*, Boston: Elsevier, pp. 240-243, 2006.
- [24] M. Morey, A. Fernandez-Marmiesse, D. Castineiras, J. M. Fraga, M. L. Couce, J. A. Cocho, A glimpse into past, present and future DNA sequencing, *Molecular Genetics and Metabolism*, Vol. 110, No. 1-2, pp. 3-24, 2013.
- [25] K. Novoselov, Electric field effect in atomically thin carbon films, *Science*, Vol. 306, No. 5696, pp. 666-669, 2004.
- [26] J. Meyer, A. Geim, M. Katsnelson, K. Novoselov, T. Booth and S. Roth, The structure of suspended graphene sheets, *Nature*, Vol. 446, No. 7131, pp. 60-63, 2007.
- [27] G. Tsoukleri, J. Parthenios, K. Papagelis, R. Jalil, A. Ferrari, A. Geim, K. Novoselov, C. Galiotis, Subjecting a graphene monolayer to tension and compression, *Small*, Vol. 5, No. 21, pp. 2397-2402, 2009.
- [28] N. Toan, D. Marenduzzo, C. Micheletti, Inferring the diameter of a biopolymer from its stretching response, *Biophysical Journal*, Vol. 89, No. 1, pp. 80-86, 2005.
- [29] S. Smith, Y. Cui, C. Bustamante, Overstretching B-DNA: The elastic response of individual double-stranded and single-stranded DNA molecules, *Science*, Vol. 271, No. 5250, pp. 795-799, 1996.
- [30] J. Phillips, R. Braun, W. Wang, J. Gumbart, E. Tajkhorshid, E. Villa, C. Chipot, R. Skeel, L. Kalé, K. Schulten, Scalable molecular dynamics with NAMD, *Journal of Computational Chemistry*, Vol. 26, No. 16, pp. 1781-1802, 2005.
- [31] O. S. Lee, G. C. Schatz, Molecular dynamics simulation of DNA-functionalized gold nanoparticles, *The Journal of Physical Chemistry C*, Vol. 113, No. 6, pp. 2316-2321, 2009.

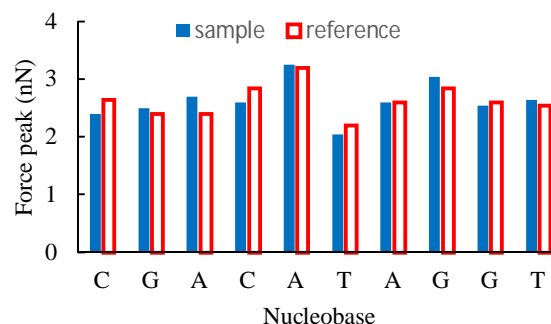


Fig. 6 Comparison of force peak for each nucleotide in reference and sample simulations

شکل 6 مقایسه حداکثر نیرو برای هر نوکلئوتید در شبیه سازی‌های مرجع و نمونه

رشد فناوری‌های نانو، این چالش‌ها حل شود و توالی سنجی سریع و ارزان امکان پذیر شود.

5- مراجع

- [1] C. Calladine, H. Drew, B. Luisi, A. Travers, *Understanding DNA*, Third Edition, pp.1-17, San Diego, CA: Elsevier Academic Press, 2004.
- [2] J. Watson, F. Crick, Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid, *Nature*, Vol. 171, No. 4356, pp. 737-738, 1953.
- [3] L. Franca, E. Carrilho, T. Kist, a review of DNA sequencing techniques, *Quarterly Reviews of Biophysics*, Vol. 35, No. 02, 2002.
- [4] R. M. M. Smeets, U. F. Keyser, D. Krapf, M. Y. Wu, N. H. Dekker, C. Dekker, Salt dependence of ion transport and DNA translocation through solid-state nanopores, *Nano Letters*, Vol. 6, No. 1, pp. 89-95, 2006.
- [5] H. Chang, F. Kosari, G. Andreadakis, M. A. Alam, G. Vasmatzis, R. Bashir, DNA-Mediated fluctuations in ionic current through silicon oxide nanopore channels, *Nano Letters*, Vol. 4, No. 8, pp. 1551-1556, 2004.
- [6] M. Zvolak, M. Di Ventra, Colloquium: physical approaches to DNA sequencing and detection, *Reviews of Modern Physics*, Vol. 80, No. 1, pp. 141-165, 2008.
- [7] D. W. Deamer, M. Akeson, Nanopores and nucleic acids: Prospects for ultrarapid sequencing, *Trends in Biotechnology*, Vol. 18, No. 4, pp. 147-151, 2000.
- [8] D. W. Deamer, D. Branton, Characterization of nucleic acids by nanopore analysis, *Accounts of Chemical Research*, Vol. 35, No. 10, pp. 817-825, 2002.
- [9] D. Fologea, M. Gershow, B. Ledden, D. S. McNabb, J. A. Golovchenko, J. Li, Detecting single stranded DNA with a solid state nanopore, *Nano Letters*, Vol. 5, No. 10, pp. 1905-1909, 2005.
- [10] A. B. Farimani, K. Min, N. R. Aluru, DNA base detection using a single-layer moS₂, *ACS Nano*, Vol. 8, No. 8, pp. 7914-7922, 2014.
- [11] M. Akeson, D. Branton, J. J. Kasianowicz, E. Brandin, D. W. Deamer, Microsecond time-scale discrimination among polycytidylic acid, polyadenylic acid, and polyuridylic acid as homopolymers or as segments within single RNA molecules, *Biophysical Journal*, Vol. 77, No. 6, pp. 3227-3233, 1999.
- [12] A. Meller, L. Nivon, E. Brandin, J. Golovchenko, D. Branton, Rapid nanopore discrimination between single polynucleotide molecules,