

مقایسه پارامترهای اتصال نانوذرات نقره به ماکرومولکول DNA در شرایط جاذبه و ریزجاذبه

آزاده حکمت^{۱*}، بهار حاجتی^۲ و زهرا حاج ابراهیمی^۳

۱ و ۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی

۳- پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

*تهران، کد پستی: ۱۴۷۷۸۹۳۸۵۵

hekmat@ut.ac.ir

بسیاری از اکتشافات فضایی جهت بررسی تغییرات در ساختارهای زیستی و عملکردی موجودات در شرایط ریزجاذبه انجام شده است. امروزه بررسی شرایط ریزجاذبه از دیدگاه نانو مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. نانوذرات نقره یکی از پرکاربردترین مواد نانویی است. در این پژوهش تأثیر ریزجاذبه بر ساختار DNA مورد بررسی قرار گرفت. همچنین اتصال نانوذرات نقره به DNA در گرانش زمین و ریزجاذبه شبیه‌سازی شده توسط دستگاه‌های مختلف طیف‌سنجی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد ریزجاذبه موجب تغییر در ساختار DNA می‌گردد و نانوذرات نقره در شرایط ریزجاذبه بیشتر به DNA اتصال می‌یابد. ریزجاذبه موجب تغییر در اندازه و بار سطحی DNA می‌گردد و موجب تغییر ساختار DNA از فرم B به فرم C می‌شود. بنابراین براساس نتایج حاضر، ریزجاذبه به نحوی ساختار DNA را تغییر می‌دهد که میزان تمایل نانوذرات نقره به آن افزایش می‌یابد. این مطالعه می‌تواند افق جدیدی را در پژوهش‌های بیولوژی و بیوفیزیک باز نماید.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، DNA، ریزجاذبه (میکروگرویته)، طیف‌سنجی، پتانسیل زتا، پراکندگی نور پویا (DLS)

علائم و اختصارات

[Q]	غلظت کل خاموش‌کننده (نانوذرات نقره)	F_{obs}	شدت فلورسانس مشاهده شده
K_A	ثابت اتصال ایجاد کمپلکس	F_{corr}	شدت فلورسانس تصحیح شده
n	تعداد لیگاندهای اتصالی	Ab_{ex}	جذب مخلوط در طول موج‌های تحریک
		Ab_{em}	جذب مخلوط در طول موج‌های انتشار
		F_0	نشر فلورسانس DNA در غیاب
		F	حضور نانوذرات نقره
		K_{SV}	ثابت استرن - ولمر

مقدمه

در طول تکامل، حیات در جاذبه 1 m/s^2 گسترش یافته است و تمامی ارگانیسم‌های زنده و موجودات با این مقدار جاذبه سازش پیدا کرده‌اند. با پیشرفت علم و فناوری، انسان به محیط‌های مختلفی از قبیل اعماق دریا، ارتفاعات و فضای بیکران پا نهاده است. یکی از محیط‌های استرس‌زا و در عین حال شگفت‌انگیز برای انسان، سفر و زندگی در فضا و ریزجاذبه است [۱]. از آنجا که همه ذرات و اتم‌ها

۱. استاندارد (نویسنده مخاطب)

۲. کارشناسی ارشد

۳. دانشیار

محیط زیست و بیولوژی دارد. نانوذرات نقره به دلیل دارا بودن خواص ضد میکروبی جهت درمان زخم‌ها، سوختگی‌ها و عفونت‌های میکروبی به کار می‌رود. نانوذرات نقره می‌تواند نقش درمانی به ویژه در درمان سرطان داشته باشد. مطالعات پیشین نشان داده است که نانوذرات نقره می‌تواند به درون سلول سرطانی نفوذ کند و موجب القای آپوپتوز در آن‌ها گردد [۱۱].

در این پژوهش، اثر ریزجاذبه شبیه‌سازی شده بر ساختار DNA بررسی شد و سپس برهمکنش نانوذرات نقره (به عنوان یکی از نانوذرات پرمصرف در پزشکی و صنعت) با DNA در شرایط ریزجاذبه و گرانش زمین مورد مطالعه قرار گرفت. شایان ذکر است این پژوهش اولین گام جهت بررسی تغییرات ساختاری DNA در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده از طریق دستگاه‌های مختلف طیف‌سنجی است. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق می‌تواند به کشف اثرات ریزجاذبه بر روی بیوماکرومولکول‌ها کمک کند. همچنین می‌تواند نشان دهد که آیا فرآیندهای زیستی در فضا رفتار مشابهی در زمین دارد یا خیر.

مواد و روش‌ها

مواد و روش‌های انجام شده در این تحقیق در ادامه شرح داده می‌شود.

مواد

DNA تیموس گاوی از شرکت سیگما آلدْرِیج (آمریکا) و نانوذرات نقره (با اندازه ۸۰-۷۰ نانومتر به حالت مایع، به شکل کروی حلال در آب (شکل ۱)) از شرکت نانو پارمیس فناوری (ایران) خریداری شدند. اندازه نانوذرات بر میزان برهمکنش و فعالیت آنها با ماکرومولکول‌های زیستی تاثیرگذار است. پژوهشگران بسیاری تاثیر نانوذرات نقره با اندازه ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر را بر روی سلول‌های مختلف بررسی کرده‌اند. تحقیقات نشان داده است با کاهش اندازه نانوذرات میزان سمیت آنها افزایش می‌یابد. این سمیت بیشتر (به ویژه برای نانوذرات نقره کوچکتر از ۱۰ نانومتر) می‌تواند ناشی از حلالیت بیشتر آنها در سطح خارج سلولی و یا درون سلولی باشد [۱۲]. با اینحال اگرچه نانوذرات نقره با ابعاد بزرگتر وارد سلول نمی‌شوند اما اثرات بیولوژیکی آنها (به صورت *invitro* و *invivo*) با مکانیزمی متفاوت از نانوذرات نقره با ابعاد کوچکتر اثبات شده است. همچنین نشان داده شده است نانوذرات نقره با اندازه ۷۰ تا ۸۰ نانومتر نیز در بافت‌ها تجمع می‌یابند و تفاوت مشاهده شده در میزان تاثیر آنها (نسبت به نانوذرات با ابعاد کوچکتر) در غلظت به کار رفته می‌باشد. به عبارت دیگر نانوذرات نقره با اندازه بیشتر، سمیت کمتری دارند و نسبت به نانوذرات با اندازه کمتر غلظت بیشتری جهت برهمکنش و تاثیرگذاری بر مولکول‌ها و بافت‌های زیستی نیاز دارند [۱۳-۱۶]. بنابراین نانوذرات نقره مورد استفاده در این پژوهش (۷۰-۸۰ نانومتر) سمیت سلولی کمتری نسبت به نانوذرات با ابعاد کوچکتر دارند و از سوی دیگر مطالعات کمتری در مورد برهمکنش نانوذرات با این ابعاد با DNA انجام شده است. Tris hydroxymethyl aminomethane (Tris-base) از شرکت

صرف نظر از فاصله میان آنها نسبت به هم کشش دارند هرگز کشش صفر وجود نخواهد داشت، بلکه می‌تواند به صفر نزدیک شود [۲، ۳]. در دهه‌های اخیر، نیروهای بیوفیزیکی به عنوان مثال جریان، تنش برشی و ریزجاذبه به طور فزاینده‌ای جهت مطالعه سلول‌ها و مطالعه فرآیندهای زیستی مورد استفاده قرار گرفته است [۲، ۳]. انسان‌های ساکن بر کره زمین از عوامل خطرزا در کیهانشان‌ها مانند ریزجاذبه و تشعشعات کیهانی محافظت می‌شوند. اما در طی سفرهای فضایی، انسان و موجودات زنده در معرض ریزجاذبه قرار می‌گیرند. به همین علت ریزجاذبه موضوع تحقیقات وسیعی بوده است، زیرا خطرات ناشی از قرارگیری انسان‌ها در شرایط ریزجاذبه هنوز به صورت کامل آشکار نشده است. مطالعات متعدد تاثیر ریزجاذبه بر مکانیزم‌های سیگنال داخل سلولی، ترشحات سلولی، سطوح سلولی و بیان ژن را تأیید کرده‌اند [۱].

علاوه بر این نشان داده شده است که ریزجاذبه محیط مناسبی برای مطالعه ماکرومولکول‌های زیستی، ساختار سه بعدی پروتئین‌ها و فرآیندهای تکاملی است [۲-۴]. همچنین نشان داده شده است که تحت شرایط ریزجاذبه بیشتر تغییرات در سلول‌ها در شکل هسته ظاهر می‌شود. مطالعه روی سلول‌های گیاهی نشان داد که هر دو شرایط جاذبه بالا و ریزجاذبه باعث مرگ سلول، تغییرات در تعداد سلول‌ها و تغییرات در کروماتین می‌شود [۵]. جورج و همکاران، تغییرات کروموزومی را در هنگام مطالعه بر روی لئوسیت‌های فضاانوردان مشاهده کردند [۶]. همچنین گزارش شده است ریزجاذبه شبیه‌سازی شده می‌تواند از طریق کنترل متیلاسیون DNA، تمایز را در سلول‌ها کاهش دهد [۷]. مطالعه بر روی ساختار پروتئین سرم آلبومین انسانی نشان داد که ریزجاذبه موجب تغییر در ساختار این پروتئین می‌گردد [۸].

در رویکرد مطالعاتی جدید ناسا، برای بهداشت مسافران فضایی اهمیت بسیاری قائل شده است و از دیدگاه ناسا فناوری نانو سهمی قابل توجه در فناوری‌های فضایی دارد [۹]. بنابراین تحقیقات مختلفی برای درک تغییرات، تفاوت‌های عملکردی و ساختاری فرآیندهای زیستی در هنگام تماس با ریزجاذبه انجام شده است. در سال‌های اخیر تحقیق درباره ریزجاذبه از دیدگاه نانو بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۱۰] و مطالعاتی برای پاسخ دادن به بسیاری از سوالات نظیر اینکه آیا دانش نانو می‌تواند پدیده‌های بیولوژیکی ناشناخته را درک کند؟ آیا ریزجاذبه می‌تواند جذب یک ماده را در بیوماکرومولکول‌ها بهبود بخشد؟ چه تفاوت‌هایی در تعاملات بیولوژیکی بین شرایط ریزجاذبه و جاذبه زمین وجود دارد؟ در حال انجام می‌باشد.

در دهه اخیر پیشرفت و گسترش فناوری نانو موجب پیشرفت شگرفی در حوزه‌های مختلفی شده است. در میان نانوذرات فلزی، نانوذرات نقره (Ag NPs) توجه زیادی را به خود جلب کرده است. نانوذرات نقره دارای کاربردهای بسیاری در شناسایی مولکولی، علم پزشکی،

مطالعات طیف‌سنجی جذبی ماوراء بنفش (UV)

تغییرات در طیف جذبی ماورابنفش DNA توسط اسپکتروفوتومتر UV-Vis، PG Instruments Ltd، مدل T90 (ساخت انگلیس) ثبت شد. غلظت DNA و نانوذرات نقره به ترتیب به ترتیب ۸/۳۲ میکرومتر و ۳-۴۰ میکرومولار بود. ابتدا طیف جذب UV نمونه‌های DNA در گرانش زمین و نمونه‌های DNA قرار گرفته در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده در طول موج بین ۲۲۰ تا ۳۰۰ نانومتر به دست آمد. سپس طیف جذب UV از نمونه‌های DNA تحت گرانش زمین و نمونه‌های DNA قرار گرفته در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده (به مدت ۲۴ ساعت) پس از افزودن غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره به دست آمد. تمام آزمایش‌ها در کووت کوارتز ۱ سانتی‌متر و دمای ثابت ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

مطالعات طیف‌سنجی نشر فلورسانس

طیف‌های نشر فلورسانس با استفاده از اسپکتروفوتومتر فلورسانس مدل هیتاچی MPF-7 (ساخت آمریکا) به دست آمد. برای کنترل دما در طی هر آزمایش، از حمام مدل Protherms NTB-211 استفاده شد. طول موج تحریک و انتشار به ترتیب ۴۷۵ و ۶۰۴ نانومتر تنظیم شد. غلظت DNA و EtBr به ترتیب ۸/۳۲ و ۰/۷۲ میکرومولار بود. ابتدا طیف فلورسانس نمونه DNA در گرانش زمین مورد بررسی قرار گرفت و سپس نشر فلورسانس نمونه DNA بعد از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده مورد بررسی قرار گرفت. پس از آن، ۳-۴۰ میکرومولار نانوذرات نقره به نمونه‌های DNA تحت شرایط گرانش زمین و ریزجاذبه افزوده شد و طیف‌های فلورسانس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ثبت شد. جهت تصحیح اثر فیلتراسیون داخلی معادله (۱) مورد استفاده قرار گرفت:

$$F_{corr} = F_{obs} \cdot 10^{(Ab_{ex} + Ab_{em})/2} \quad (1)$$

که در آن F_{corr} و F_{obs} شدت فلورسانس مشاهده شده و شدت فلورسانس تصحیح شده است. Ab_{em} و Ab_{ex} جذب مخلوط در طول موج‌های تحریک و انتشار است.

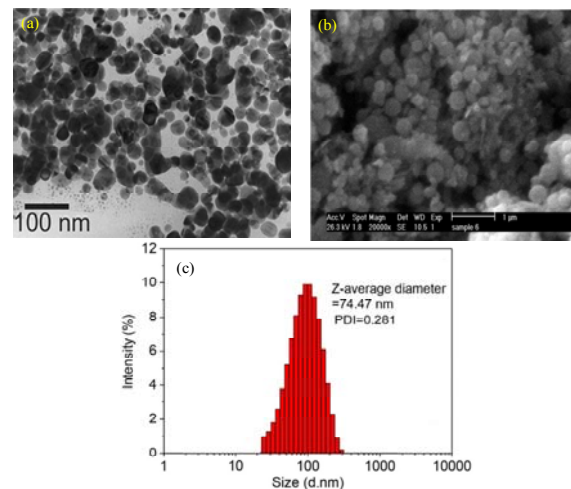
مطالعات طیف‌سنجی دورنگ نمایی دورانی (CD)

جهت مطالعه تغییرات در ساختار DNA، طیف‌های CD با استفاده از طیف‌سنج دورنگ‌نمایی روبشی Aviv، Model 215 (ساخت آمریکا) ثبت شد. ابتدا طیف CD از نمونه DNA در گرانش زمین مورد بررسی قرار گرفت و سپس طیف CD نمونه DNA ۲۴ ساعت بعد از قرارگیری در شرایط ریزجاذبه شبیه‌سازی شده مورد بررسی قرار گرفت. پس از افزودن نانوذرات نقره به نمونه‌های DNA قرار گرفته در گرانش زمین و ریزجاذبه شبیه‌سازی شده،

سیناژن (ایران) و اتیدیم بروماید (EtBr) از شرکت مرک (آمریکا) خریداری شد. تمام آزمایش‌ها در بافر Tris-base ۰/۱ مولار با ۷/۴ pH انجام شد. آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.

دستگاه شبیه‌ساز ریزجاذبه

کلینواستات یک دستگاه شبیه‌ساز گرانشی است که در آن نمونه‌های زیستی چرخانده می‌شوند تا مانع از تاثیر شتاب گرانشی بر روی سیستم شوند. در این پژوهش کلینواستات دو بعدی^۴ موجود در پژوهشگاه هوافضا مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۲). این دستگاه دارای یک محور جهت چرخش است و باید جهت عمود بر جهت نیروی جاذبه قرار داده شود تا اثر نیروی گرانشی را از بین ببرد. اندازه اصلی بدنه این دستگاه ۲۵ سانتی‌متر × ۲۵ سانتی‌متر است و اندازه جعبه کنترل دستگاه ۲۳ سانتی‌متر × ۲۰ سانتی‌متر × ۱۱ سانتی‌متر است. زاویه محور چرخش می‌تواند از صفر درجه (به موازات زمین) تا ۹۰ درجه (عمود بر زمین) متفاوت باشد. در این پژوهش، زمان چرخش ۲۴ ساعت انتخاب شد. در طول زمان چرخش، نمونه‌های کنترل در گرانش زمین در کنار دستگاه قرار گرفتند. تمام لوله‌ها به طور کامل با محلول DNA پر شده و اطمینان حاصل شد که هیچ‌گونه حباب هوا در لوله‌ها وجود ندارد.



شکل ۱- تصاویر TEM (a)، SEM (b) و طیف DLS (c) نانوذرات نقره

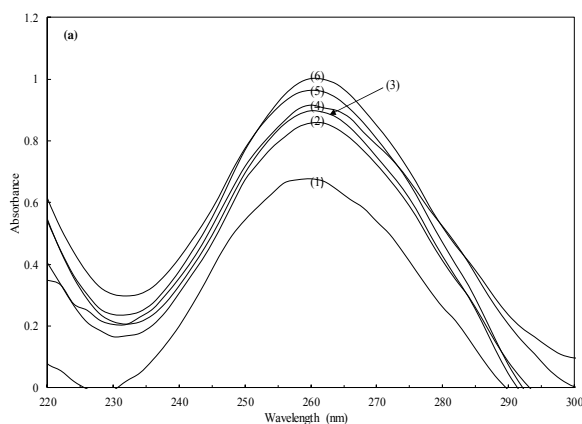


شکل ۲- دستگاه کلینواستات دو بعدی

ماریپیج DNA می‌باشد [۱۲]. همچنین در هنگام برهمکنش لیگاند با DNA از نوع الکترواستاتیک یا اتصال لیگاند به شیارهای DNA، هایپرکرومیسم بدون جابجایی در پیک جذب بیشینه دیده می‌شود [۱۳]. بنابراین، نتایج حاکی از آن است که ۲۴ ساعت قرار گیری در ریزجاذبه تأثیر چشمگیری بر روی ساختار ماریپیج دو رشته‌ای DNA و اتصال نانوذرات نقره با DNA دارد. به عبارت دیگر ریزجاذبه نه تنها موجب تغییر ساختار دو رشته DNA می‌گردد بلکه تمایل اتصال نانوذرات نقره به آن را افزایش می‌دهد.

مطالعات نشر فلورسانس

از آنجا که طیف‌سنجی فلورسانس یک تکنیک بسیار قوی برای مطالعه ساختار و خصوصیات ماکرومولکول موجود در محلول می‌باشد، لذا با کمک تکنیک فلورسانس مطالعه تأثیر ریزجاذبه بر ساختار DNA و همچنین تأثیر ریزجاذبه بر اتصال نانوذرات نقره به مولکول DNA انجام شد. با توجه به مقالات، هرگاه لیگاند دومی جهت اتصال با DNA با لیگاند اول رقابت کند خاموشی در نشر فلورسانس مشاهده می‌گردد [۱۱]. از آنجا که DNA دارای نشر فلورسانس ذاتی قابل ملاحظه‌ای نیست، لذا از یک ماده فلور عارضی جهت بررسی تغییرات در نشر DNA استفاده شد. فلور مرسوم در این امر اتیدیم بروماید (EtBr) است. شکل (۴) طیف‌های نشر فلورسانس نمونه‌های DNA در گرانش زمین و ۲۴ ساعت بعد از قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده را نشان می‌دهد. همانگونه مشاهده می‌شود DNA تحت شرایط ریزجاذبه شبیه‌سازی شده دارای ظرفیت بیشتری برای اتصال با EtBr در مقایسه با DNA در گرانش زمین است. افزایش نشر فلورسانس در شرایط ریزجاذبه می‌تواند در نتیجه تغییر ساختار ماریپیج DNA باشد [۱۱].



شکل ۳- طیف جذبی ماورابنفش DNA (a) تحت گرانش زمین و (b) پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده. طیف نمونه DNA (۱) و طیف نمونه DNA پس از افزایش غلظت نانوذرات نقره (۲-۶) در دمای ۳۷ سانتی‌گراد.

طیف‌های CD از طول موج ۲۲۰ تا ۳۲۰ نانومتر با استفاده از کووت کوارتز، طول مسیر ۰/۱ سانتی‌متری، با رزولوشن ۰/۲ نانومتر و سرعت اسکن ۲۰ نانومتر در دقیقه دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و بافر Tris-base ۰/۱ مولار با pH ۷/۴ ثبت شد.

مطالعات پتانسیل زتا و پراکندگی نور پویا (DLS)

پتانسیل زتا نمونه‌های DNA (۸/۳۲ میکرومولار) در گرانش زمین و ۲۴ ساعت پس از قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده در حضور و عدم حضور نانوذرات نقره (۴۰ میکرومولار) به وسیله دستگاه Zetasizer Nano-ZS مدل MALVERN (ساخت انگلیس) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و بافر Tris-base ۰/۱ مولار با pH ۷/۴ اندازه‌گیری شد. شعاع هیدرودینامیکی DNA (۸/۲۳ میکرومولار) توسط پراکندگی نور پویا (DLS) در طول موج ۶۵۷ نانومتر و زاویه پراکندگی ۹۰ درجه توسط دستگاه پراکندگی نور پویا Brookhaven Instruments Corporation (ساخت آمریکا) بررسی شد. قبل از اندازه‌گیری، نمونه‌ها توسط فیلترهای نایلون ۰/۲۰ میکرومتر فیلتر شدند. هر شعاع هیدرودینامیکی گزارش شده میانگین ۴-۵ اندازه‌گیری می‌باشد.

نتایج و بحث

مطالعات جذب ماورای بنفش

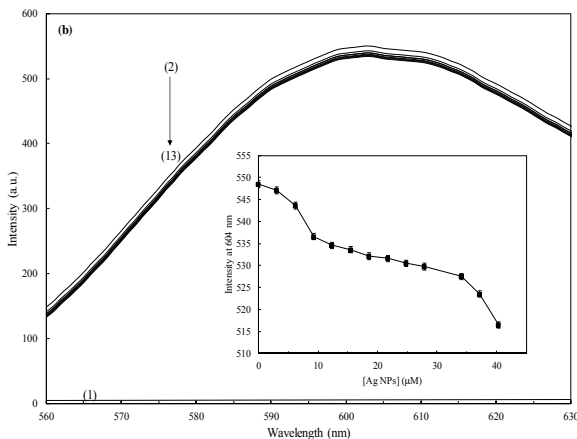
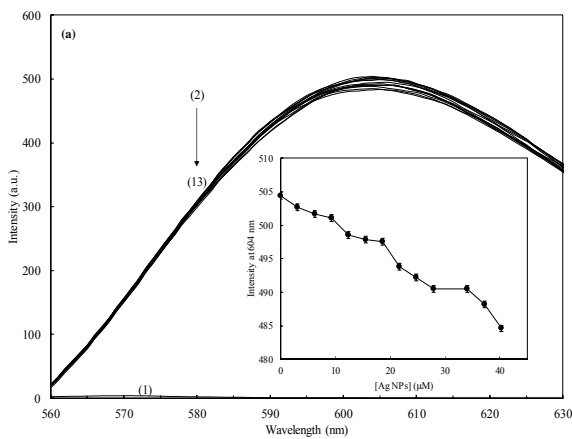
ابتدا طیف جذبی DNA در ناحیه طول موج ۲۲۰ تا ۳۰۰ نانومتر ثبت گردید. همان‌گونه که در شکل (۲) نشان داده شده است DNA دارای پیک جذبی شاخصی در طول موج ۲۶۰ نانومتر می‌باشد. این بیشینه جذبی مربوط به انتقالات $\pi \rightarrow \pi^*$ در بازهای نیتروژن DNA می‌باشد [۱۷]. همانطور که در این شکل نشان داده شده است پس از قرار دادن نمونه DNA در شرایط ریزجاذبه شبیه‌سازی شده، تغییرات در پیک جذبی بیشینه DNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر اتفاق می‌افتد اما جابجایی (shift) در پیک جذبی بیشینه دیده نمی‌شود. این افزایش جذب مربوط به تغییر ساختار در DNA است [۱۳]. بنابراین قرارگیری در ریزجاذبه موجب تغییر در ساختار DNA می‌گردد.

پس از افزودن غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره به هر دو نمونه DNA قرار گرفته در گرانش زمین و ریزجاذبه شبیه‌سازی شده، طیف جذب DNA به طور مداوم افزایش یافت و بیشینه جذب در حدود ۲۶۲ نانومتر و ۲۶۴ نانومتر به ترتیب برای نمونه DNA قرار گرفته در گرانش زمین و ریزجاذبه شبیه‌سازی شده مشاهده شد (شکل ۳). افزایش جذب در طول موج بیشینه (هایپرکرومیسم) معمولاً مربوط به اتصال مولکول DNA و لیگاندهای کوچک و در نتیجه تغییر ساختار

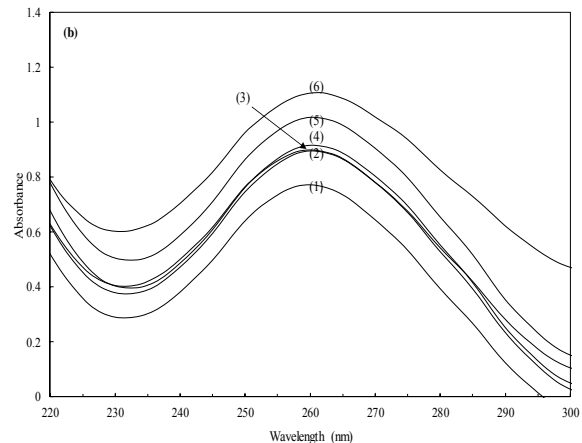
در معادله فوق F_0 و F به ترتیب بیانگر نشر فلورسانس DNA در غیاب و حضور نانوذرات نقره است. K_{SV} ثابت استرن-ولمر و $[Q]$ غلظت کل خاموش کننده (نانوذرات نقره) را نشان می‌دهد. شکل (۴) نمودار استرن-ولمر یا میزان $\frac{F_0}{F}$ در مقابل غلظت خاموش کننده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهند. از آنجا که شکل این نمودارها به صورت منحنی است، می‌تواند بیانگر ایجاد خاموشی از نوع استاتیک (تشکیل کمپلکس) باشد [۱۱]. بنابراین خاموشی نشر فلورسانس DNA در حضور نانوذرات نقره از نوع استاتیک و تشکیل کمپلکس میان DNA و نانوذرات نقره است. این نتایج مطابق با نتایج جذب UV مبنی بر ایجاد کمپلکس میان نانوذرات نقره و DNA می‌باشد.

پارامترهای اتصال در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با استفاده از رابطه مدیفای شده استرن ولمر (معادله ۳) تعیین شد [۱۱].

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_A + n \log [Q] \quad (3)$$



شکل ۴- طیف نشر فلورسانس DNA (a) در گرانش زمین، (b) پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده در حضور غلظت‌های افزایشی نانوذرات نقره (۳-۴۰ میکرومولار) در دمای ۳۷ سانتی‌گراد. (۱) DNA به تنهایی، (۲) DNA-EtBr و (۳-۱۳) غلظت افزایشی نانوذرات نقره. نمودار الحاقی بیانگر تغییرات در حداکثر شدت نشر DNA در حضور نانوذرات نقره می‌باشد. (c) تغییر در نشر اتیدیوم برآمید پس از افزودن غلظت‌های افزایشی نانوذرات نقره.



(ادامه) شکل ۳. طیف جذبی ماورابنفش DNA (a) تحت گرانش زمین و (b) پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده. طیف نمونه DNA (۱) و طیف نمونه DNA پس از افزایش غلظت نانوذرات نقره (۲-۶) در دمای ۳۷ سانتی‌گراد.

شکل (۴) تغییرات در نشر DNA با افزایش غلظت نانوذرات نقره در گرانش زمین و ریزجاذبه شبیه‌سازی شده را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌گردد با افزایش غلظت نانوذرات نقره شدت نشر در طول موج ۶۰۴ نانومتر (بیشینه نشر) کاهش می‌یابد. این کاهش نشر (خاموشی)، بیانگر اتصال نانوذرات نقره به DNA می‌باشد. خاموشی فلورسانس مشاهده شده برای DNA در حضور نانوذرات نقره می‌تواند به سه دلیل ایجاد شده باشد:

- (۱) برهمکنش نانوذرات نقره با فلور اتیدیوم برآمید
- (۲) خروج فلور اتیدیوم برآمید افزوده شده و قرارگیری لیگاند (نانوذرات نقره) در محل اتصال اتیدیوم برآمید (اتصال رقابتی)
- (۳) نانوذرات نقره به DNA متصل شده باشد و موجب ایجاد کمپلکس غیر فلورسانس شده باشد [۱۱].

پس از افزودن نانوذرات نقره با غلظت بالا به اتیدیوم برآمید تغییرات شاخصی بر نشر فلور نمی‌گردد (شکل c ۴). بنابراین دلیل شماره یک مورد قبول نمی‌باشد. افزون بر آن بر طبق گزارشات ثابت اتصال اتیدیوم برآمید با DNA حدود $5/16 \times 10^5 M^{-1}$ می‌باشد. بنابراین به دلیل کمتر بودن ثابت‌های اتصال نانوذرات نقره به DNA جانشینی این لیگاند با DNA کمی دشوار به نظر می‌رسد. پس به نظر می‌رسد دلیل سوم برای خاموشی نشر فلورسانس قابل قبول‌تر باشد. به‌صورتی که نانوذرات نقره در هنگام اتصال با DNA موجب غیرموازی شدن صفحه اتیدیوم برآمید با صفحه بازهای DNA گردد و در نتیجه کاهش در نشر فلورسانس ایجاد شود [۱۸].

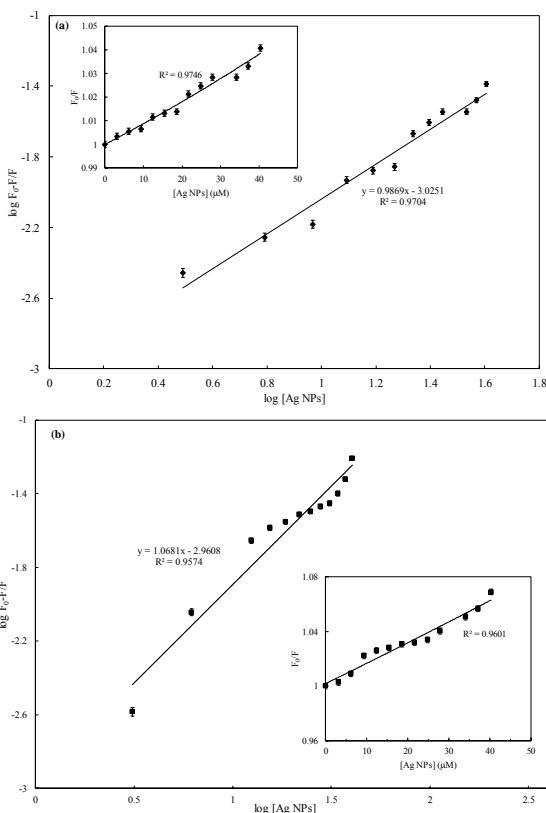
در مرحله بعد جهت یافتن پارامترها و مکانیسم دخیل در پدیده خاموشی از معادله استرن-ولمر استفاده گردید (معادله ۲).

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV} [Q] \quad (2)$$

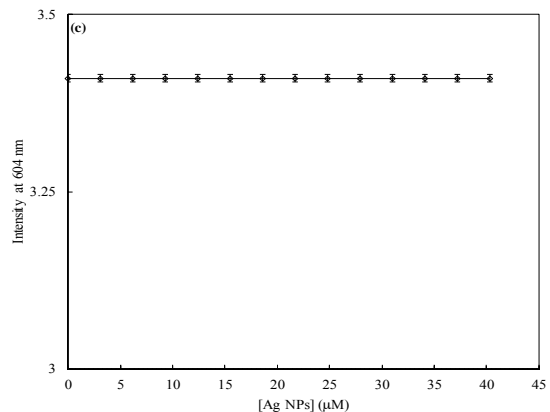
اگرچه باید تأکید کرد که باید آزمایش‌های بیشتری برای تعیین مکانیزم‌های دخیل در این امر انجام شود.

مطالعات دورنگ نمایی دورانی (CD)

طیف‌سنجی دورنگ نمایی دورانی یک روش ارزشمند جهت بررسی تغییرات در ساختار DNA است [۱۸]. شکل (۵) تأثیر ریزجاذبه را بر روی ساختار DNA نشان می‌دهد. طیف B-DNA دو پیک بیشینه جذبی در طول موج‌های ۲۴۵ نانومتر (پیک اول) و ۲۷۵ نانومتر (پیک دوم) را دارد، که به ترتیب مربوط به راستگردی و استکینگ بازهای DNA می‌باشند [۱۸]. هر دو این پیک‌ها نسبت به تغییرات در ساختار DNA و اتصال مولکول‌های کوچک حساس هستند. در مقایسه با نمونه DNA در گرانش زمین، پیک نمونه DNA قرار گرفته در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده، در طول موج ۲۷۵ نانومتر جابجایی ۴ نانومتری به سمت طول موج بیشتر به همراه کاهش در بیضی‌واری (θ) را نشان می‌دهد. جابجایی به سمت طول موج‌های بیشتر همراه با کاهش بیضی‌واری در طول موج‌های ۲۴۵ و ۲۷۵ نانومتر می‌تواند مربوط به تغییر در ساختار DNA باشد. این پدیده می‌تواند ناشی از تغییر ساختار DNA از فرم B به فرم C باشد [۲۳].



شکل ۵- نمودارهای حاصل از معادله مدیفای شده استرن-ولمر. نمونه DNA (a) در گرانش زمین و (b) پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده در حضور غلظت‌های افزایشی نانوذرات نقره در دمای ۳۷ سانتی‌گراد. نمودار الحاقی نمونه استرن-ولمر DNA در حضور غلظت‌های افزایشی نانوذرات نقره.

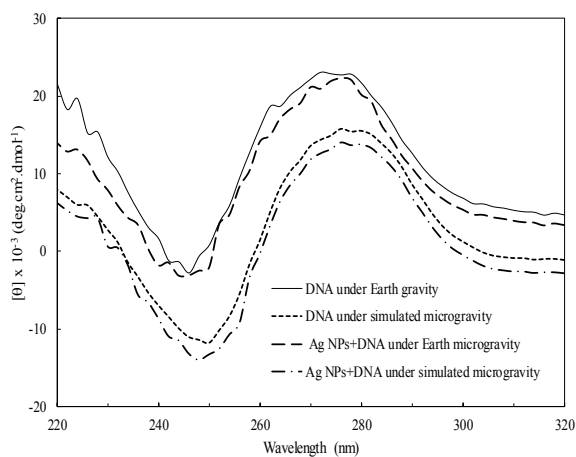


(ادامه) شکل ۴- طیف نشر فلورسانس DNA در گرانش زمین، (b) پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده در حضور غلظت‌های افزایشی نانوذرات نقره (۳-۴۰ میکرومولار) در دمای ۳۷ سانتی‌گراد. (۱) DNA به تنهایی، (۲) DNA-EtBr و (۳-۱۳) غلظت افزایشی نانوذرات نقره. نمودار الحاقی بیانگر تغییرات در حداکثر شدت نشر DNA در حضور نانوذرات نقره می‌باشد. (c) تغییر در نشر اتیدیوم برماید پس از افزودن غلظت‌های افزایشی نانوذرات نقره.

در معادله فوق K_A ثابت اتصال ایجاد کمپلکس و n تعداد لیگندهای اتصال می‌باشد. مقدار n برای شناخت تعداد جایگاه‌های پیوندی مفید است. مقادیر n برای DNA در گرانش زمین و ریزجاذبه شبیه‌سازی شده متفاوت است. ثابت اتصال نانوذرات نقره به مولکول DNA در گرانش زمین و ریزجاذبه نیز متفاوت بوده و مقدار آن در شرایط ریزجاذبه بیشتر است. نتایج حاضر با مطالعه ماکارون و همکاران که نشان داد در شرایط ریزجاذبه، اتصال سوبسترا به آنزیم لیپواکسیژناز ۴ برابر افزایش می‌یابد، تطابق دارد [۱۹]. ارائه مکانیسم دقیق چگونگی افزایش اتصال نانوذرات نقره به DNA در ریزجاذبه نیازمند مطالعات بیشتر است. با این حال، مطالعات پیشین نشان داده است که برهمکنش‌های بین DNA و مولکول‌های آب ساختاری^۵ یک پارامتر اساسی در شکل‌گیری ساختار DNA است [۲۰]. مولکول‌های آب با گروه‌های فسفات، اکسیژن ریبوز و شیارهای کوچک و بزرگ مولکول DNA ارتباط برقرار می‌کند. همچنین تأیید شده است که مولکول‌های آب نقش بسیار مهمی در برهمکنش بین لیگاندهای مختلف و شیارهای بزرگ و کوچک DNA دارند [۲۱]. از سوی دیگر گزارش شده است که تمام سیالات تحت تأثیر گرانش قرار دارند [۲۲]. مطالعات پیشین همچنین نشان داده است که شکل متعادل یک حجم کوچک آب در شرایط ریزجاذبه تغییر می‌کند و به شکل کروی تبدیل می‌شود [۱۷]. بنابراین، می‌توان این نظریه را مطرح کرد که در ریزجاذبه، برهمکنش بین مولکول‌های آب ساختاری با DNA تغییر می‌کند و در نتیجه ساختار DNA تغییر کرده و میزان اتصال نانوذرات نقره به DNA در مقایسه با گرانش زمین تغییر کرده و افزایش می‌یابد. بنابراین ریزجاذبه تشکیل کمپلکس نانوذرات به DNA را تسهیل می‌کند.

5. structural waters

قرار می‌دهد [۲۹]. لایه‌های آب اطراف DNA به دو لایه اولیه و ثانویه تقسیم‌بندی می‌شود. لایه اولیه شامل مولکول‌های آبی است که به طور مستقیم به DNA متصل می‌شود و از نظر شیمیایی با آب معمولی متفاوت است. اطراف لایه اولیه را لایه ثانویه احاطه نموده است و ساختار آب در آن شبیه به ساختار مولکول‌های آب معمولی می‌باشد [۳۰، ۳۱]. مطالعات نشان داده است هنگام تغییر ساختار DNA از فرم B به فرم C در ساختار لایه آب اولیه نیز تغییرات ایجاد می‌شود [۳۱]. بنابراین می‌توان اینگونه فرض نمود که ریزجاذبه با تغییر ساختار لایه آب اولیه اطراف DNA انتقال از ساختار طبیعی B-DNA به ساختار C-DNA را ایجاد می‌کند. علاوه بر این، نشان داده شده است که تغییرات در بیضی‌واری در ۲۷۵ نانومتر با زاویه پیچش DNA رابطه دارد و کاهش آن باعث افزایش زاویه پیچش می‌شود. افزون بر این، افزایش زاویه پیچش موجب پهن‌تر شدن شیار DNA می‌شود و در نتیجه قرارگیری لیگاند در پاکت شیاری را تسهیل می‌کند [۲۳]. این مطلب می‌تواند افزایش تمایل نانوذرات نقره به DNA در شرایط ریزجاذبه را توجیه نماید. همانگونه که قبلاً ذکر شد برطبق داده‌های نشر فلورسانس، نانوذرات نقره به شیاریهای DNA متصل می‌شوند و بنابراین با پهن‌تر شدن شیار DNA در اثر قرارگیری در ریزجاذبه میزان اتصال نانوذرات نقره افزایش می‌یابد. بنابراین به‌طور خلاصه، ریزجاذبه برهمکنش نانوذرات نقره را با یک مکانیسم ساده تغییر می‌دهد: تغییر ساختار DNA از فرم B به C. البته مطالعات بیشتری جهت درک بهتر مکانیزم باید انجام شود (شکل ۶).



شکل ۶- طیف‌های دورنگ نمایی دورانی نمونه DNA در گرانش زمین، پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده و پس از افزودن غلظت‌های افزایشی نانوذرات نقره در دمای ۳۷ سانتی‌گراد.

مطالعات پتانسیل زتا و پراکندگی نور پویا

پتانسیل الکتروستاتیک یا پتانسیل زتا اختلاف پتانسیل بین آخرین لایه محلول در برگیرنده ذرات کلئید و اولین لایه غیرمتحرک از

جدول ۱- ثابت اتصال (K_A) و تعداد نانوذرات نقره اتصال یافته (n) به مولکول DNA در گرانش زمین و پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد.

نمونه	n	$K_A (M^{-1})$
DNA در گرانش زمین به همراه نانوذرات نقره	۰/۹۸	$۹/۴ \times ۱۰^۳$
DNA در ریزجاذبه به همراه نانوذرات نقره	۰/۹۸	$۹/۴ \times ۱۰^۳$

هنگامی که انتقال کامل از فرم B به C در DNA اتفاق می‌افتد، پیک در طول موج ۲۴۵ نانومتر، حدود ۶۶٪ کاهش در شدت بیضی‌واری را نشان می‌دهد [۲۳، ۲۴]. اما همانگونه که مشاهده می‌شود این میزان کاهش در بیضی‌واری DNA قرارگرفته در ریزجاذبه رخ نمی‌دهد (شکل ۵). بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که در شرایط ریزجاذبه، ساختار DNA دارای هر دو فرم B و C می‌باشد [۲۳]. ایجاد فرم C در DNA در حضور نمک [۲۵] و وزیکول‌های لیپیدی کاتیونی [۲۶] گزارش شده است. اما تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر ایجاد این فرم در DNA در شرایط ریزجاذبه گزارش نشده است.

همان‌طور که در شکل (۵) مشاهده می‌گردد، پس از افزودن نانوذرات نقره به نمونه DNA در گرانش زمین و پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده، پیک در طول موج ۲۴۵ نانومتر و پیک در طول موج ۲۷۵ نانومتر به ترتیب افزایش و کاهش می‌یابد. اتصال مولکول‌های کوچک به DNA معلوماً از طریق اینترکلیشن (قرارگیری در بین بازهای DNA) یا اتصال به شیاریها انجام می‌شود. به عنوان یک قاعده کلی، اتصال لیگاند یا ترکیبات مولکولی کوچک از طریق اینترکلیشن بر شدت بیضی‌واری DNA تأثیر شاخصی می‌گذارد، اما اگر اتصال از طریق غیراینترکلیشن باشد این تغییرات محسوس نمی‌باشد [۲۷]. با توجه به نتایج بدست آمده از طیف‌های CD، از آنجا که تغییرات در دو پیک ۲۴۵ و ۲۷۵ نانومتر پس از افزودن نانوذرات نقره در هر دو شرایط شاخص نمی‌باشد، بنابراین نانوذرات نقره به صورت غیراینترکلیشن (عدم قرارگیری در بین بازهای DNA) به DNA اتصال می‌یابند. پرامانیک و همکاران [۲۷] نیز نشان دادند که نانوذرات نقره (۱۶ نانومتر) از طریق غیر اینترکلیشن به DNA متصل می‌شود. نتایج طیف‌های CD نانوذرات نقره بیوسنتزی با اندازه ۴۰ نانومتر نیز نتایج مشابه را نشان داد [۲۸]. این مشاهدات با نتایج مربوط به جذب UV و نشر فلورسانس کاملاً تطابق دارد.

همانگونه که ذکر شد برهمکنش بین DNA و مولکول‌های آب ساختاری یک پارامتر اساسی در شکل‌گیری ساختار DNA است [۲۰]. محتوای آب اطراف DNA ساختار این مولکول را تحت تأثیر

(۲) توزیع شعاع هیدرودینامیکی (R_H) DNA را در گراننش زمین، پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده و پس از افزودن غلظت‌های افزایشی نانوذرات نقره نشان می‌دهد. همانگونه که مشاهده می‌شود مقدار R_H در شرایط ریزجاذبه افزایش می‌یابد. این نتیجه کاملاً با نتایج مشاهده شده از طیف‌سنجی دورنگ نمایی دورانی مبنی بر تغییر ساختار DNA از فرم B به فرم C تطابق دارد. تغییرات در زاویه پیچش تغییراتی را در تعداد جفت بازهای DNA در هر دور ایجاد می‌کند. فرم C-DNA دارای ۱۰/۲ جفت باز در هر دور است و این در حالی است که فرم B-DNA دارای ۱۰/۴ جفت باز در هر دور می‌باشد. به عبارت دیگر فرم C-DNA نسبت به فرم B-DNA فشردگی کمتری دارد [۲۳، ۲۴]. پس از افزودن نانوذرات نقره به DNA شعاع هیدرودینامیکی کاهش می‌یابد که این موضوع با کاهش پتانسیل زتا تطابق دارد. برطبق مطالعات پیشین، خنثی شدن گروه‌های فسفات DNA موجب کاهش دافعه الکترواستاتیک بین رشته‌ای (بین دو رشته متفاوت) و درون رشته‌ای (که در دو ناحیه از یک رشته رخ می‌دهد) می‌شود [۳۵]. خنثی شدن گروه‌های فسفات موجب کاهش دافعه در شیار کوچک و در نتیجه کم عمق و باریکتر شدن شیار کوچک می‌شود [۳۶]. بنابراین ساختار DNA تغییر یافته و تجمع می‌یابد.

نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر، نقش ریزجاذبه در عملکرد سیستم‌های بیولوژیکی بسیار چالش برانگیز شده است. زندگی در خارج از سیاره زمین و پیشرفت در علوم فضایی توجه زیست‌شناسان فضایی را به خود معطوف ساخته است. درک عملکرد ماکرومولکول‌های زیستی در شرایط ریزجاذبه یک گام اساسی در توسعه علوم فضایی و افزایش ایمنی و سلامت فضانوردان می‌باشد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که ۲۴ ساعت قرارگیری DNA در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده موجب تغییر ساختار DNA می‌شود. علاوه بر این، میزان ثابت اتصال نانوذرات نقره به DNA در این شرایط افزایش می‌یابد. به عبارت دیگر ریزجاذبه، تشکیل کمپلکس بین نانوذرات نقره و DNA را تسهیل می‌کند. همچنین، ریزجاذبه باعث تغییر در پتانسیل زتا و اندازه DNA می‌شود. افزایش میزان اتصال نانوذرات نقره به DNA را می‌توان به صورت خلاصه اینگونه بیان کرد: ریزجاذبه موجب تغییر ساختار DNA از فرم B به فرم C می‌شود و این تغییر ساختاری موجب تغییر تمایل مولکول DNA به نانوذرات نقره می‌گردد. شایان ذکر است که مطالعات بیشتری برای روشن‌ساختن دقیق مکانیسم‌های دخیل در این تغییرات ساختاری لازم است. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند مسیر تحقیق جذابی در بیوفیزیک، زیست‌شناسی، فناوری نانو و اختر فیزیک باز کند.

حلال اطراف ذرات کلئید تعریف می‌گردد. پتانسیل زتا، مقدار دافعه بین ذره مجاور را نشان می‌دهد. زمانی که پتانسیل زتا کاهش می‌یابد، جاذبه بر دافعه غلبه کرده و ذره لخته می‌شوند. در حالی که ذراتی با پتانسیل زتا بالا از لحاظ الکتریکی پایدار هستند [۳۲]. جدول (۲) پتانسیل زتا DNA را در گراننش زمین، ریزجاذبه و در غیاب و حضور نانوذرات نقره نشان می‌دهد. میزان پتانسیل زتا در DNA مقدار $-24/06$ میلی‌ولت بدست آمد. مقدار زتا بدست آمده با گزارشات پیشین تطابق دارد [۳۳]. بر طبق جدول (۲) در شرایط ریزجاذبه افزایش در پتانسیل زتا DNA مشاهده می‌گردد. این پدیده می‌تواند به تغییر در ساختار بندی مولکول‌های آب در میکرو محیط اطراف DNA مرتبط باشد. همانگونه که در جدول (۲) مشاهده می‌شود با افزودن نانوذرات نقره به DNA بار سطحی آن کاهش می‌یابد. این کاهش بار در شرایط ریزجاذبه شاخص‌تر می‌باشد. به عبارت دیگر افزودن نانوذرات نقره در هر دو شرایط موجب تغییر در دو رشته DNA شده است که این تغییر در شرایط ریزجاذبه شدیدتر می‌باشد. تغییرات شاخص در بار سطحی DNA قرار گرفته در ریزجاذبه تایید می‌کند که اتصال نانوذرات از طریق شیار بزرگ DNA انجام پذیرفته است. در اثر این برهمکنش بار منفی گروه‌های فسفات DNA خنثی می‌گردد [۳۴]. بنابراین ریزجاذبه با تغییر در بار سطحی DNA موجب تغییر در ساختار آن شده است و در نتیجه می‌توان بیان داشت که این تغییرات موجب افزایش اتصال نانوذرات نقره شده است.

جدول ۲- تغییرات پتانسیل زتا و شعاع هیدرودینامیکی (R_H) مولکول DNA در گراننش زمین، پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در ریزجاذبه شبیه‌سازی شده و پس از افزودن غلظت‌های افزایشی نانوذرات نقره در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد.

نمونه	پتانسیل زتا (میلی‌ولت)	R_H (nm)
DNA در گراننش زمین	$-24/06$	۱۴۵۰
DNA در ریزجاذبه	$-26/26$	۱۴۷۰
DNA در گراننش زمین به همراه نانوذرات نقره	$-18/76$	۱۳۲۱
DNA در ریزجاذبه به همراه نانوذرات نقره	$-17/16$	۹۰۰

مطالعات پراکندگی نور پویا (DLS) جهت بررسی توزیع اندازه DNA پس از قرارگیری در شرایط ریزجاذبه و همچنین در حضور و عدم حضور نانوذرات نقره انجام شد. در تکنیک DLS، پرتو نور در محلول حاوی ذرات مورد مطالعه تابش می‌یابد. ذرات در محلول به دلیل حرکت براونی حرکت می‌کنند و هنگامی که نور به یک ذره در حال حرکت برخورد می‌کند، نور پراکنده می‌شود. جدول

مراجع

- [17] Chadha, D., Agarwal, S. and Mehrotra, R., "Investigation of Anti-Cancer Drug Nimustine Interaction with Calf Thymus DNA," *MAPAN*, Vol. 31, No. 3, 2016, pp. 169-175.
- [18] Shahabadi, N., et al., "DNA binding affinity of a macrocyclic copper (II) complex: Spectroscopic and molecular docking studies," *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, Vol. 36, No. 8, 2017, pp. 497-510.
- [19] Maccarrone, M., et al., "The catalytic efficiency of soybean lipoxygenase-1 is enhanced at low gravity," *Biophysical chemistry*, Vol. 90, No. 1, 2001, pp. 97-101.
- [20] Zubatiuk, T., et al., "Structural waters in the minor and major grooves of DNA-a major factor governing structural adjustments of the A-T mini-helix," *The Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 119, No. 2, 2015, pp. 381-391.
- [21] Nguyen, B., Neidle, S. and Wilson, W. D., "A role for water molecules in DNA- ligand minor groove recognition," *Accounts of chemical research*, Vol. 42, No. 1, 2008, pp. 11-21.
- [22] Nelson, E. S., Mulugeta, L. and Myers, J. G., "Microgravity-induced fluid shift and ophthalmic changes," *Life*, Vol. 4, No. 4, 2014, pp. 621-665.
- [23] Agarwal, S., et al., "A structural insight into major groove directed binding of nitrosourea derivative nimustine with DNA: a spectroscopic study," *PloS one*, Vol. 9, No. 8, 2014, pp. e104115.
- [24] Ray, B., et al., "Structural, conformational and thermodynamic aspects of groove-directed-intercalation of flavopiridol into DNA," *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, Vol. 34, No. 11, 2016, pp. 2518-2535.
- [25] Bokma, J. T., Curtis, W. J. Jr, and Blok, J. "CD of the li-salt of DNA in ethanol/water mixtures: Evidence for the B-to C-form transition in solution," *Biopolymers*, Vol. 26, No. 6, 1987, pp. 893-909.
- [26] Zhang, Z., et al., "Conformational transition of DNA induced by cationic lipid vesicle in acidic solution: spectroscopy investigation," *Biophysical chemistry*, Vol. 97, No. 1, 2002, pp. 7-16.
- [27] Pramanik, S., et al., "Unraveling the interaction of silver nanoparticles with mammalian and bacterial DNA," *The Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 120, No. 24, 2016, pp. 5313-5324.
- [28] Roy, S., et al., "Interaction studies between biosynthesized silver nanoparticle with calf thymus DNA and cytotoxicity of silver nanoparticles," *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 141, 2015, pp. 176-184.
- [29] Franklin, R.E. and R.G. Gosling, "The structure of sodium thymonucleate fibres. I. The influence of water content," *Acta Crystallographica*, Vol. 6, No. 8-9, 1953, pp. 673-677.
- [30] Lee, S.A., Tao, N. J. and Rupprecht, A., "A Raman scattering study of the interactions of DNA with its water of hydration," *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, Vol. 31, No. 11, 2013, pp. 1337-1342.
- [31] Wolf, B. and Hanlon, S., "Structural transitions of deoxyribonucleic acid in aqueous electrolyte solutions. II. Role of hydration," *Biochemistry*, Vol. 14, No. 8, 1975, pp. 1661-1670.
- [1] Nikbakht, V., et al., "The Effects of Simulated Microgravity on Serum Levels of VEGF in Male Wistar Rats," *Journal of Space Science and Technology*, Vol. 9, No. 4, 2017, pp. 63-68.
- [2] McPherson, A. and DeLucas, L. J., "Microgravity protein crystallization". *npj Microgravity*, Vol. 1, 2015, p. 15010.
- [3] Shinde, V., et al., "Simulated microgravity modulates differentiation processes of embryonic stem cells," *Cellular Physiology and Biochemistry*, Vol. 38, No. 4, 2016, pp. 1483-1499.
- [4] Blaber, E., Sato, K. and Almeida, E. A., "Stem cell health and tissue regeneration in microgravity," *Stem cells and development*, Vol. 23, No. S1, 2014, pp. 73-78.
- [5] Pedroso, M. and Durzan, D., "Effect of different gravity environments on DNA fragmentation and cell death in Kalanchoe leaves," *Annals of Botany*, Vol. 86, No. 5, 2000, pp. 983-994.
- [6] George, K., et al., "Chromosome aberrations in the blood lymphocytes of astronauts after space flight," *Radiation research*, Vol. 156, No. 6, 2001, pp. 731-738.
- [7] Furukawa, T., et al., "Simulated microgravity attenuates myogenic differentiation via epigenetic regulations," *NPJ Microgravity*, Vol. 4, 2018, pp. 1-8.
- [8] Hekmat, A., Hajebrahimi, Z. and Motamedzade, A., "Structural Changes of Human Serum Albumin (HSA) in Simulated Microgravity," *Protein and peptide letters*, Vol. 24, No. 11, 2017, pp. 1030-1039.
- [9] Sharma, R., "Nanotechnology in Space Exploration: Needs and Applications," *Journal of Pure Applied and Industrial Physics*, Vol. 2, No. 3A, 2012, pp. 286-335.
- [10] Roco, M. C. and Bainbridge, W. S., "Societal implications of nanoscience and nanotechnology: Maximizing human benefit," *Journal of Nanoparticle Research*, Vol. 7, No. 7, 2005, pp. 1-13.
- [11] Hekmat, A., Saboury, A. A. and Divsalar, A., "The effects of silver nanoparticles and doxorubicin combination on DNA structure and its antiproliferative effect against T47D and MCF7 cell lines," *Journal of biomedical nanotechnology*, Vol. 8, No. 6, 2012, pp. 968-982.
- [12] Ivask, A., et al., "Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro," *PloS one*, Vol. 9, No. 7, 2014, pp. 1-14.
- [13] Poirier, M., Simard, J. C. and Girard, D., "Silver nanoparticles of 70 nm and 20 nm affect differently the biology of human neutrophils," *Journal of immunotoxicology*, Vol. 13, No. 3, 2016, pp. 375-385.
- [14] Graf, C., et al., "Shape-Dependent Dissolution and Cellular Uptake of Silver Nanoparticles," *Langmuir*, Vol. 34, No. 4, 2018, pp. 1506-1519.
- [15] McShan, D., Ray, P.C. and Yu, H., "Molecular toxicity mechanism of nanosilver," *Journal of food and drug analysis*, Vol. 22, No. 1, 2014, pp. 116-127.
- [16] Sardari, R.R.R., et al., "Toxicological effects of silver nanoparticles in rats," *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 6, No. 27, 2012, pp. 5587-5593.

- DNA, and their biological activities,” *RSC advances*, Vol. 5, No. 40, 2015, pp. 31746-31758.
- [35]Bhattacharya, S. and Mandal, S. S., “Interaction of surfactants with DNA. Role of hydrophobicity and surface charge on intercalation and DNA melting,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, Vol. 1323, No. 1, 1997, pp. 29-44.
- [36]Hamelberg, D., Williams, L. D. and Wilson, W. D., “Effect of a neutralized phosphate backbone on the minor groove of B-DNA: molecular dynamics simulation studies,” *Nucleic acids research*, Vol. 30, No. 16, 2002, pp. 3615-3623.
- [32]Dias, R. S., et al., “Coil– globule transition of DNA molecules induced by cationic surfactants: A dynamic light scattering study,” *The Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 109, No. 20, 2005, pp. 10458-10463.
- [33]Park, I. K., et al., “Galactosylated chitosan-graft-poly (ethylene glycol) as hepatocyte-targeting DNA carrier,” *Journal of Controlled Release*, Vol. 76, No. 3, 2001, pp. 349-362.
- [34]Veeralakshmi, S., et al., “Single and double chain surfactant–cobalt (III) complexes: the impact of hydrophobicity on the interaction with calf thymus