Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Review Article

The protein-nanoparticle interaction (protein corona) and its importance on the therapeutic application of nanoparticles

Mahsa Sedighi[1, 2], Mehdi Shakibaie[1, 2]*

ABSTRACT

Nanobiotechnology has provided promising novel diagnostic and therapeutic strategies which capable to create a broad spectrum of nano-based imaging agents and medicines for human administrations. Several studies have demonstrated that the surface of nanomaterials is immediately coated with suspended proteins after contact with plasma or other biological fluids to form protein corona-nanoparticle complexes. Cells react after exposure with these complexes. since, the biological fate and functions of nanomaterials are determined by physiological responses to protein -nanoparticle complexes in this article, we aimed to review some studies about the effects of the protein profiles and physicochemical characteristics of nanoparticles in the biological environment on the formation of protein corona and subsequent the biological responses upon exposure to nanoparticles. Also, some used methods for of protein corona analysis has been reviewed. It has been shown that the biological impacts of protein corona may be both constructive and/or destructive in the biomedical applications of nanomaterials. The protein corona–cell interactions can facilitate targeted delivery and cellular absorption of therapeutic nanomaterials and also, they mitigate the unfavorable cytotoxic effects of nanoparticles. On the other hand, these interactions may cause rapid clearance of nanoparticles from the body as well as the activation of undesirable inflammatory responses. Hence, the study of the formation mechanism and biological effects of protein corona plays an important role in the design of nanoparticles with specific physicochemical properties proportional with their intended biological activity.

Keywords: Biological identity, Nanobiotechnology, Protein corona, Targeted delivery

Citation: Sedighi M, Shakibaie M. [The protein-nanoparticle interaction, protein corona formation, and its importance on the therapeutic application of nanoparticles]. J Birjand Univ Med Sci. 2021; 28(4): 307-321. [Persian]

DOI http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.4.100

Received: August 10, 2021 **Accepted:** December 8, 2021

[1] Department of Nanomedicine, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[2] Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

***Corresponding author:** Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
Tel: +9856-32381924 Fax: +9856-32381929 E-mail: shakibaie_m@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله مروری

برهمکنش پروتئین–نانوذره (پروتئین کرونا) و اهمیت آن در کاربرد درمانی نانوذرات

مهسا صدیقی[۱]، مهدی شکیبایی[۲،۱*]

چکیده

نانوبیوتکنولوژی راهکارهای امیدبخش تشخیصی و درمانی نوینی را ایجاد کرده است که قابلیت فراهم کردن طیف وسیعی از عوامل عکس‌برداری برپایه نانومواد و داروها را برای مصارف انسانی دارند. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که سطح نانومواد پس از تماس با پلاسما یا سایر سیالات زیستی فوراً با پروتئین‌های معلق پوشانده می‌شود و کمپلکس‌های کرونا پروتئین-نانوذره را تشکیل می‌دهند. سلول پس از در معرض قرارگیری با این کمپلکس‌ها به آن‌ها واکنش می‌دهد. از آنجا که سرنوشت زیستی و عملکردهای نانومواد براساس پاسخ‌های فیزیولوژیکی به کمپلکس‌های نانوذره–پروتئین تعیین می‌گردد، در این مقاله، اثرات پروفایل‌های پروتئینی و خواص فیزیکی و شیمیایی نانوذره در محیط زیستی بر تشکیل پروتئین کرونا و به دنبال آن پاسخ‌های زیستی ایجاد شده مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین مروری بر روش‌های آنالیز پروتئین کرونا انجام شده است. بررسی‌ها نشان می‌دهد که اثرات زیستی ناشی از حضور پروتئین کرونا می‌تواند در کاربردهای زیست‌پزشکی نانومواد سودمند و یا نامطلوب باشد. برهمکنش‌های پروتئین کرونا–سلول، انتقال هدفمند و جذب سلولی نانوذرات درمانی را تسهیل کرده و در برخی موارد اثرات سمیت سلولی ناخواسته نانوذرات را کاهش می‌دهند. از سویی دیگر، این برهمکنش‌ها می‌توانند پاک‌سازی سریع نانوذرات از بدن و نیز فعال‌سازی پاسخ‌های التهابی ناخواسته را به همراه داشته باشند؛ از این‌رو، مطالعه مکانیسم تشکیل و اثرات زیستی پروتئین کرونا نقش مهمی در طراحی نانوذرات با خواص فیزیکی و شیمیایی اختصاصی متناسب با فعالیت زیستی مورد نظر آن‌ها دارد.

واژه‌های کلیدی: مشخصه زیستی، نانوبیوتکنولوژی، پروتئین کرونا، انتقال هدفمند

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۰؛ ۲۸(۴): ۳۰۷-۳۲۱.

دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۹ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۷

[۱] گروه نانوفناوری پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[۲] مرکز تحقیقات سلولی–مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه نانوفناوری پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند– دانشگاه علوم پزشکی بیرجند– دانشکده داروسازی

تلفن: ۰۵۶۳۲۳۸۱۹۲۴ نمابر: ۰۵۶۳۲۳۸۱۹۲۹ پست الکترونیکی: shakibaie_m@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کنترل برهمکنش نانومواد با سیستم‌های زیستی چالش اساسی و بنیادی در نانوپزشکی می‌باشد. پس از ورود نانومواد به محیط فیزیولوژیک، سطح آن‌ها فوراً به وسیله لایه‌ای از پروتئین‌ها پوشانده می‌شود که با عنوان پروتئین کرونا[1] شناخته می‌شود (۱). کرونا پروتئین اندازه، پراکندگی، پایداری، و خواص نانومواد را تغییر می‌دهد و باعث تغییر مشخصه زیستی آن‌ها می‌شود. این تغییر، تعیین کننده پاسخ فیزیولوژیکی به واسطه برهمکنش نانومواد با مولکول‌های زیستی، غشاها، و موانع فیزیکی می‌باشد (۲). مشخصه زیستی یک نانوماده، تابعی از مشخصه سینتتیک (اندازه، شکل، و شیمی سطح)، محیط فیزیولوژیکی و مدت زمان در معرض قرارگیری با محیط است. خون، اغلب اولین محیط فیزیولوژیکی است که نانومواد پس از تزریق با آن مواجه می‌شوند و پلاسما حاوی بیش از هزار پروتئین با قابلیت اتصال به نانومواد و تشکیل کرونا پروتئین می‌باشد (۴, ۳). پروتئین‌ها می‌توانند در شکل طبیعی یا دناتوره شده بسته به بار سطحی، میزان آب‌گریزی و پایداری ذاتی به سطح نانوذرات متصل شوند. این خواص نانوذرات است که واکنش‌های خودساماندهی پروتئین را تحت تأثیر قرار داده و سبب انحرافاتی در فرآیندهای زیستی یا منجر به بیماری‌هایی در ارتباط با تاخوردگی نادرست پروتئین‌ها می‌شود (۸–۵). با این وجود، طراحی نانوذرات مختلف با توجه به هدف و کاربرد مورد نظر می‌بایست با دقّت انجام گردد تا از واکنش‌های ناخواسته جلوگیری شود.

پیشرفت‌های اخیر در مطالعه کرونا پروتئین نشان می‌دهد که مشخصه‌های کرونا پروتئین و فراوانی نسبی آن‌ها ماهیتی پویا دارند (۱۰, ۹). برای برخی از نانوذرات، ماهیت پویای کرونا پروتئین به عوامل مختلفی بستگی دارد که شامل: ۱. طیف بسیار وسیعی از تمایلات اتصال و ثابت‌های تعادلی پروتئین‌ها برای سطح نانوذره، که طیف وسیعی از زمان بقای پروتئین‌ها را بر روی سطح به دنبال دارد (۱۱)، ۲. تغییرات در سرعت اتصال/ تفکیک پروتئین-پروتئین (۱۲) و ۳. تغییرات در پروفایل پروتئینی سیالات زیستی (۱۲). در طی برخورد نانوذرات با سیالات زیستی، ابتدا پروتئین‌هایی با فراوانی بالا بر سطح نانوذره جذب می‌شوند. این پروتئین‌ها سریعاً جدا شده و با پروتئین‌هایی با فراوانی کم ولی تمایل اتصالی بالاتر و سینتیک‌های تبادلی آهسته‌تر جایگزین می‌شوند (۱۴, ۱۳)؛ پدیده‌ای که اثر ورومن[2] نامیده می‌شود (۱۶, ۱۵). این اثر حداقل یکی از مکانیسم‌های اصلی و زیربنایی پروفایل‌های پروتئینی مختلف در کرونا نسبت به سیال زیستی اطراف نانومواد است (تصویر ۱)(۱۸, ۱۷, ۹).

انواع گوناگونی از نانو مواد تاکنون مورد بررسی قرار گرفته‌اند که دارای مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوتی هستند؛ به همین جهت واکنش‌های مختلفی را در بدن ایجاد می کنند. پس مشخصه‌یابی نانوذرات و بررسی پایداری آن‌ها در محیط بسیار اهمیت دارد که این موارد تابعی از روش سنتز می‌باشد (۱۹). برخلاف سطوح ماکروسکوپی، نانوذرات می‌توانند تقریباً به هر نقطه‌ای از بدن موجود زنده بروند و بیومولکول‌ها از محیط قبلی‌شان در کرونا پروتئین آن‌ها باقی بماند؛ پروفایل پروتئینی همراه نانوذرات نمایانگر مسیرهایی است که نانوذره تا نقطه هدف طی کرده است. در این راستا، به دلیل اهمیت ساختار کرونا پروتئین در سرنوشت زیستی نانوذرات و دسترسی آن‌ها به بافت مورد نظر، در این مقاله، مروری بر نحوه تشکیل کمپلکس های پروتئین–نانوذره، روش‌های مشخصه‌یابی و اهمیت درمانی آن خواهیم داشت.

۱. کمپلکس‌های نانوذره-کرونا پروتئین به عنوان مشخصه‌های زیستی نانوذرات

پروتئین کرونایی که بر روی سطح نانوذرات تشکیل می‌شود با قرارگیری در معرض یک محیط زیستی به دلیل داشتن ماهیتی پویا، در تبادل پیوسته با محیط اطراف خواهد بود. فرآیندهای سینتیکی در تبادل پروتئین‌ها بین سطح نانوذره و پلاسما، بین سطح نانوذره و سطح سلول (شامل گیرنده‌های اختصاصی)، و نیز نانوذرات و مولکول‌های پروتئینی آزاد با تمایل بالا در بدن برای اتصال به سطح سلول با هم رقابت کنند (۲۰, ۱). در شرایطی که اصلاح شیمیایی بر سطح نانوذره انجام شده باشد، جذب ترکیبات از محیط، حدفاصلی را

[1] Protein corona

[2] Vroman effect

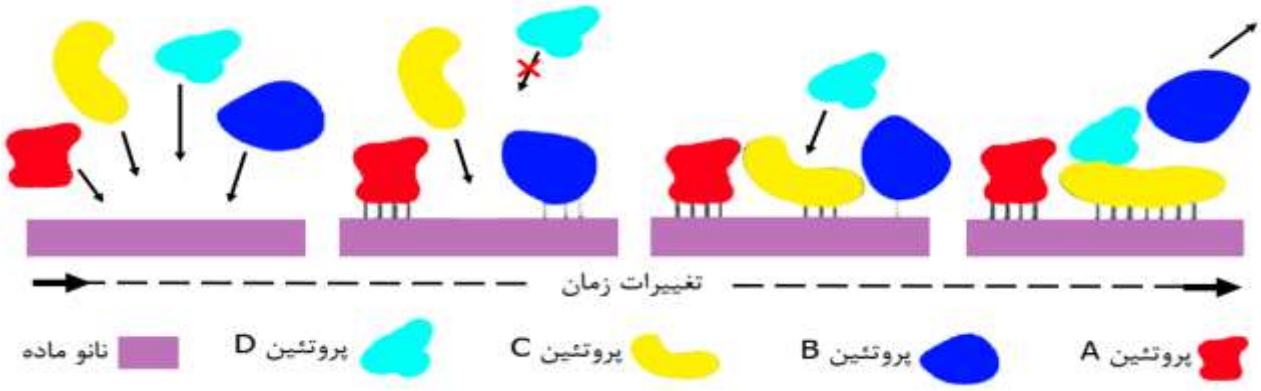
www.SID.ir

Archive of SID

ایجاد می‌کند که عامل تعیین کننده کلیدی در مسیر هدف‌گیری نانوذرات می‌باشد. از آنجا که برخی ترکیبات تا زمان پردازش هدف زیستی بر سطح نانو ذرات باقی می‌مانند و نقش مهمی را در تعیین سرنوشت نانو ذرات ایفا می‌کنند پس مسئله تمایلات نسبی همه ترکیبات سیستم باید به درستی مورد مطالعه قرار گیرد (۲۱). رفتار نانوذره در آزمایشگاه و بدن نشان می‌دهد که برهمکنش بین نانوذرات و پروتئین‌های پلاسما و نیز دیگر اجزاء سازنده خون یکی از فاکتورهای تعیین کننده اصلی در سرنوشت نانوذرات هستند. لایه پروتئینی جذب شده نه تنها بر جذب سلولی و انتقال درون‌سلولی اثر می‌گذارد، بلکه اتصال اختصاصی پروتئین‌ها، ورود ذره و توزیع زیستی در بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۵-۲۲).

چندین فاکتور از قبیل اندازه، انحناء سطحی و ماهیت شیمیایی، چگونگی قرارگیری بیومولکول‌ها بر سطح نانوذره را تعیین می‌کنند (۲۹-۲۶). با این وجود، تعیین سرعت‌های اتصال، تمایلات ترکیبات، و استوکیومتری اتصال و تفکیک پروتئین در سیالات زیستی بسیار پیچیده می‌باشد که به دلیل حضور انواع بسیاری از پروتئین‌ها در غلظت‌های مختلف و رقابت آن‌ها برای اتصال به سطح نانوذره است (۳۰, ۲۱). سطوح نانومواد به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، انرژی آزاد زیادی نسبت به مواد توده‌ای آن‌ها دارند. این بدان معنی است که سطوح نانوذرات به‌تدریج و به‌طور انتخابی در تماس با سیالات زیستی پیچیده، بیومولکول‌ها را جذب خواهند کرد. تشکیل کرونا از این بیومولکول‌ها، انرژی سطحی نانوذره را پائین آورده و پراکندگی آن را القا می‌کند (۳۲, ۳۱, ۲۹).

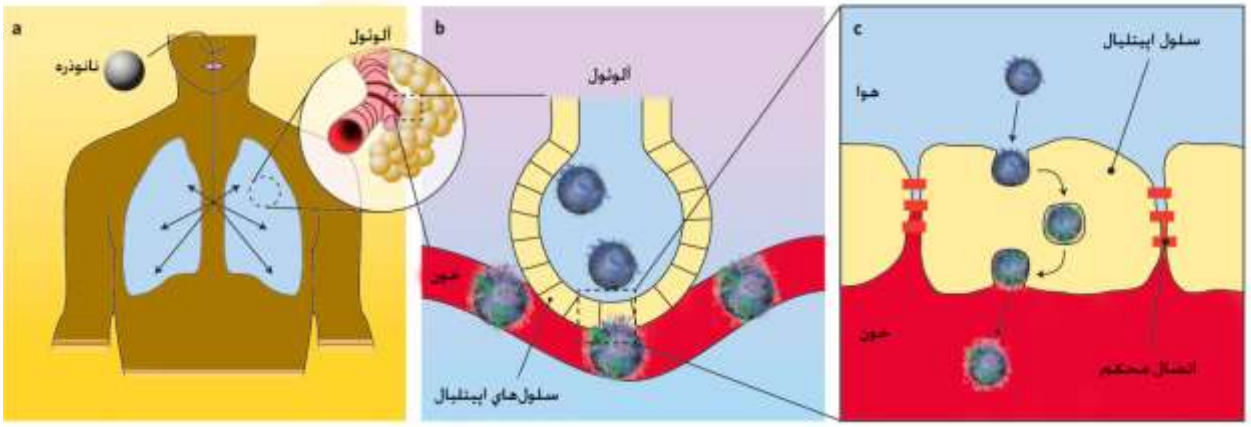
در بسیاری از موارد این کرونا پروتئین است که با سیستم‌های زیستی وارد برهمکنش می‌شود و به موجب آن عنصر مهمی از مشخصه زیستی نانوذره را تشکیل می‌دهد. برای چندین نانوذره، از قبیل طلا (۳۳)، پلی استیرن (۳۴, ۲۰)، سیلیکا (۳۵, ۳۴, ۲۶, ۲۰)، تیتانیا (۳۵) و اکسید روی (۳۵)، تک لایه‌ای از بیومولکول‌ها (کرونای سخت) به سختی به سطح نانوذره متصل شده که این اتصال به طور کامل غیرقابل برگشت نمی‌باشد. بر روی این کرونای سخت، لایه‌ای با اتصالات ضعیف تشکیل می‌شود و به سرعت در حال تبادل با بیومولکول‌ها است که به آن کرونای نرم می‌گویند (۳۷, ۳۶, ۳۴, ۳۳, ۲۰). مشاهده شده است که تنها تعداد کمی از بیومولکول‌های دردسترس در محیط زیستی، در کرونای سخت یافت می‌شوند. از این گذشته این پروتئین‌ها متعلق به فراوان‌ترین پروتئین‌ها در پلاسما می‌باشند و الزاماً بیشترین تمایل را به سطح نانوذره ندارند (۴۲-۳۸, ۲۶, ۱۷). همان طور که کرونای سخت به طور مشخص پایدار است (۳۶, ۳۴, ۳۳, ۲۶, ۲۰)، تماس نانوذره با محیطی جدید با بیومولکول‌های متفاوت می‌تواند منجر به جابجایی کرونای سخت اصلی با مولکول‌های جدید شود (۴۴, ۴۳). بیومولکول‌هایی که جایگزین نمی‌شوند به عنوان حافظه کرونایی محیط قبلی نانوذره عمل می‌کنند؛ بنابراین ترکیب پروتئین کرونا نمی‌تواند بالقوه به محیط اخیر نانوذره بستگی داشته باشد، بلکه تحت تأثیر همه محیط‌هایی است که از آن عبور کرده است. (تصویر ۲) (۴۵, ۴۴).



تصویر ۱- تشکیل کرونا پروتئین در طول زمان (اثر ورومن). از چپ به راست: کرونا اولیه از پروتئین A و B تشکیل می‌شود که ابتدا به سطح رسیده‌اند. پروتئین B تمایل کمتری به سطح داشته و با پروتئین C با تمایل بیشتر جایگزین می‌شود. پروتئین D که تمایل کمی برای سطح نانوذره دارد بر روی پروتئین‌های دیگر جذب می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۲- تکامل پروتئین کرونا نانوذره در بدن. a: مثالی برای نانوذرات تنفسی در الوئول شش‌ها، b: کرونا اولیه زمانی شکل می‌گیرد که نانوذره در تماس با سیالات ششی در آلوئول قرار می‌گیرد. با عبور از سد ششی (لایه‌ای از سلول‌های اپیتلیال)، نانوذرات به جریان خون می‌رسند. در خون، برخی بیومولکول‌ها از کرونا اولیه با بیومولکول‌های مختلف (صورتی) جابجا شده و کرونا جدیدی را ایجاد می‌کنند، c: نانوذره‌ای که از سلول‌های اپیتلیال سد ششی عبور می‌کند، از اجزاء غشائی مختلف انتقال داده شده و در نهایت به بیرون سلول فرستاده می‌شود. در خون بیومولکول‌های صورتی به کرونا نانوذره افزوده می‌شوند (۲).

جذب پروتئین نیازمند برهمکنش مستقیم با سطح نانومواد نمی‌باشد؛ بلکه می‌تواند از طریق برهمکنش پروتئین- پروتئین انجام شود که به‌طور اختصاصی یا غیراختصاصی رخ می‌دهد. مطالعات نشان داده است که تشکیل سریع کرونا پروتئینی به دنبال قرار گرفتن نانوذره در معرض سیال زیستی و به دلیل افزایش انتروپی کل پروتئین‌ها هنگام جذب روی سطوح نانوذره صورت می‌گیرد (۴۶). به غیر از پروفایل پروتئینی در محیط زیستی حاوی نانوذرات، تشکیل کرونا پروتئینی به طور قابل توجهی تحت تأثیر خواص فیزیکی و شیمیایی ذاتی نانوذرات قرار می‌گیرد. ترکیب شیمیایی ذره، اندازه، شکل، همراه با خصوصیات سطحی از قبیل گروه‌های عاملی سطحی، بار سطحی و آب گریزی و نیز صافی سطح و انحنا، تعیین می‌کنند که کدام پروتئین‌ها و چگونه با نوع خاصی از ذرات واکنش دهند. با این وجود، مشخصه سینتیک نانوذرات می‌بایست به طور دقیق تعیین گردد تا بتوان به فعالیت زیستی مورد نظر دست یافت.

۲. طراحی حدفاصل نانوذره-بیومولکول برای انتقال هدفمند و کاربرد درمانی

هدفمندی رویکردی است که به منظور افزایش اختصاصیت اثر درمانی برای هدف مورد نظر انجام می‌شود و بنابراین عوارض جانبی مرتبط با تجمع غیراختصاصی در دیگر اندام‌ها یا اجزاء سلولی کاهش می‌یابد. پس این راهکار باید به گونه‌ای طراحی گردد تا توانایی گریز از سیستم ایمنی را به منظور افزایش زمان گردش ذره هدفمند و دسترسی خودبه‌خودی به فرایندهای انتقال درون سلولی داشته باشد. راهکار رایج برای دستیابی به انتقال هدفمند در سطح سلولی، عامل‌دار کردن سطح نانوذره با بیومولکول‌هایی است که با گیرنده‌های اختصاصی بیان شده در سطح سلول وارد واکنش می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهند که افزایش جذب نانوذرات در سلول‌ها به دنبال انتقال هدفمند و شناسایی گیرنده سلولی خاصی رخ می‌دهد که منجر به جذب و رهایش دارو در ناحیه توموری خواهد شد. لیکن مکانیسم هدف‌گیری همیشه استفاده نمی‌شود و انتقال غیرفعال بدون نیاز به عامل هدف‌گیری انجام می‌شود، با توجه به این امر که رگ‌های تومور از لایه‌های اندوتلیال ناقص با روزنه‌های وسیع تشکیل شده‌اند (۴۸, ۴۷). در طراحی نانوذرات، تشدید جذب سلولی در بدن از طریق برهمکنش‌های اختصاصی گیرنده-لیگاند یا کنترل توزیع زیستی نانوذرات در بدن مورد توجه است که برای دستیابی به آن‌ها، پروتئین کرونا فاکتوری بنیادی و اساسی خواهد بود. با توجه به الزامات کرونا یا پدیده حدفاصل بیو-نانو برای هدف‌گیری نانوذرات و انتقال دارو دو رویکرد پیشنهاد می‌شود: ۱. مهندسی سطح در ارتباط با طراحی حدفاصلی که حداقل برهمکنش‌ها را با محیط اطراف داشته و شناسایی و هدف‌گیری

www.SID.ir

Archive of SID

اختصاصی را انجام می‌دهد. ۲. بهره‌وری از پروتئین کرونا برای هدف‌گیری، با درک این که پروتئین‌ها به طور مؤثری ذرات را به نقطه دلخواه انتقال می‌دهند. مطالعه‌ای کلیدی در این زمینه نشان داده است که دارا بودن پوشش سورفکتانت خاص (توئین ۸۰) که به طور خودبه‌خودی به آپولیپوپروتئین E متصل می‌شود در انتقال دارو به مغز مؤثر بوده و به عنوان ذره‌ای با سطح مهندسی شده به طور اختصاصی عمل می‌کند (۵۰, ۴۹). در ارتباط با رویکرد دوم، نقش لایه‌های پروتئینی جذب شده در تعیین جذب نانوذره، انتقال و قرارگیری درون سلول بسیار شفاف‌تر شده است. در این راستا، اثر حضور پروتئین کرونا بر سطح نانوذرات پلی استیرن بر روی جذب نانوذرات به وسیله سلول‌های هپاتیک مورد بررسی قرار گرفته است (۵۱). زمانی که نانوذرات در غیاب سرم در محیط کشت استفاده می‌شوند، جذب قابل توجهی مشاهده می‌شود؛ درحالی‌که در حضور سرم، جذب پروتئین‌ها به سطح نانوذره منجر به کاهش در انرژی سطحی و در نتیجه جذب کمتر نانوذرات می‌گردد. نانوذرات پلی استیرن که از قبل با آلبومین پوشانده شده و در یک محیط بدون سرم قرار گرفته‌اند جذب کاهش یافته‌ای را نشان داده‌اند. این امر پیشنهاد می‌دهد حضور پروتئین‌ها از اتصالات غیراختصاصی نانوذرات به سطح سلول جلوگیری می‌کند (۵۲). مطالعه مشابه دیگری تأیید کرد که سرعت‌های جذب بسیار متفاوتی در غیاب و حضور پروتئین‌های سرم در محیط مشاهده می‌شود و واضح است که تفاوت‌ها در ترکیب یا منبع پروتئین‌های سرمی می‌توانند اثرات قابل توجهی بر جذب نانوذرات داشته باشند (۵۳). در نتیجه با توجه به اینکه پروتئین کرونا شدیداً در سرنوشت و تعیین مشخصه زیستی نانوذرات مؤثر می‌باشد و به دنبال آن اثرات درمانی و پاتوفیزیولوژیکی آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، طراحی خواص فیزیکی و شیمیایی نانوذرات در حین سنتز اهمیت پیدا می‌کند؛ چراکه عامل مهم و اصلی در ایجاد برهمکنش بین پروتئین‌های مختلف و سطح نانوذره می‌باشد. بررسی متون نشان می‌دهد که حضور پروتئین کرونا توانایی ممانعت از دستیابی نانوذره به ناحیه هدف و به دنبال آن تغییر سینتیک دارویی حامل و محموله دارویی آن را دارد.

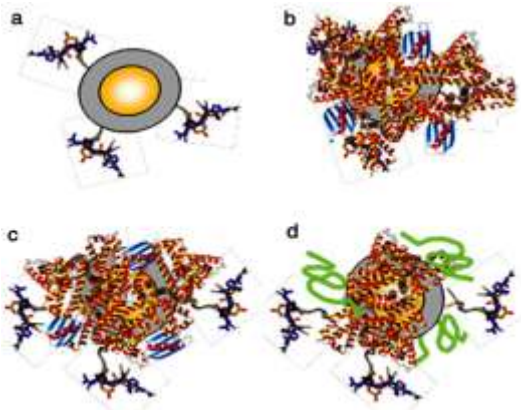
تاکنون تلاش‌های زیادی در جهت شناسایی پروتئین‌هایی با تمایل بالا به سطح نانوذرات با ترکیبات یا خصوصیات سطحی متفاوت انجام شده است. هدف از این مطالعات پاسخ به این سوال می‌باشد که چطور اتصال پروتئین به نانوذرات می‌تواند برهمکنش آن‌ها با محیط زیستی را القا کند. برای مثال، جذب اپسونین‌ها (فیبرینوژن، ایمونوگلوبین G، فاکتور کمپلمان و غیره) همراه با اندازه‌های بزرگ (بیش از ۲۰۰ نانومتر) فاگوسیتوز را برای حذف نانوذرات آغاز می‌کند (۵۴, ۵۲)، در حالی که اتصال دیس اپسونین‌ها (آلبومین، آپولیپوپروتئین‌ها، و غیره) و اندازه‌های کوچک ، زمان گردش در جریان خون را افزایش می‌دهد (۵۱). سؤال دیگری که می‌بایست پاسخ داده شود این است که آیا لایه پروتئینی بر سطح نانوذره، اتصال به سلول‌ها را از طریق مکانیسم فعال اختصاصی انجام می‌دهد و یا این برهمکنش‌های غیراختصاصی با بیومولکول‌هاست که به عنوان پوشش ساده‌ای رفتار می‌کند و انرژی سطحی نانوذرات را کاهش می‌دهد. در مطالعه‌ای گزارش شده است که نانوذرات پلی استیرن با سطوح اصلاح شده متفاوت، کرونا پروتئین‌های اختصاصی مختلفی دارند؛ این منجر به ارتباط متفاوت ذرات با سلول‌های اندوتلیال نمی‌شود؛ بنابراین پیشنهاد می‌دهد که اتصال و جذب سلولی ممکن است به وسیله برهمکنش پروتئین با گیرنده‌های اختصاصی نباشد. در این مطالعه، فراوان‌ترین پروتئین‌ها از محیط کشت در طی تشکیل کرونا پروتئین حذف شدند که پروفایل پروتئین‌های جذب شده بر نانوذرات را تغییر می‌دهد؛ ولی سطح اتصال سلولی تحت تأثیر قرار نگرفت (۵۵). به همین جهت ارزیابی ظرفیت جذبی نانوذرات می‌تواند به منظور پیش‌بینی میزان و توان برهمکنش‌های سلولی با نانوذرات بسیار کارآمد و سودمند باشد. مطالعه و درک برهمکنش‌های نانو–بیو می‌تواند بر محدودیت‌های موجود غلبه کرده و با اصلاح سطح و ساختار نانوذرات، اتصال پروتئین‌های اختصاصی در شرایطی کنترل شده مقدور خواهد بود. بررسی متون نشان می‌دهد که حضور کرونا پروتئین می‌تواند دو رخداد مختلف را در ارتباط با هدف‌گیری القا کند: ۱. حضور برخی پروتئین‌ها مانند آپولیپوپروتئین‌ها موجب هدف‌گیری و عبور از سد خونی–مغزی می‌شود؛ درحالی‌که، ۲. پوشش‌دهی سطح با

www.SID.ir

Archive of SID

پروتئین‌های مختلف می‌تواند موجب عدم دسترسی لیگاند به گیرنده اختصاصی شده و مانع هدف‌گیری نانوذرات گردد. این اثر متضاد در ارتباط با سمیت نانوذرات نیز مشاهده می‌شود. بسیاری از خواص سمیت نانوذرات از واکنش‌پذیری سطح آن‌ها با غشا سلولی منشاء می‌گیرد که حضور کرونا پروتئین می‌تواند آن را با کاهش واکنش‌پذیری تعدیل کند؛ اما در مقابل، جذب پروتئین‌ها بر سطح نانوذرات می‌تواند دناتوراسیون پروتئینی را القا کند که ممکن است موجب تحریک سیستم ایمنی و پاسخ فیزیولیوژیکی نامطلوب گردد. همچنین شواهد نشان می‌دهد که تشکیل کرونا پروتئین توانایی افزایش نرخ ورود نانوذرات به درون ماکروفاژها و سلول‌های اندوتلیال را داشته و خطر سمیت سیتوپلاسمی و سیستمیک را بالا می‌برد (۵۶).

براساس بحث بالا، در طراحی حدفاصل نانو–بیو برای انتقال هدفمند دارو، می‌توان چالش‌های موجود را به صورت زیر خلاصه کرد (تصویر ۳):



تصویر ۳- شمائی از چالش‌های نانوذرات هدفمند. a) نانوذره طراحی شده به همراه لیگاند هدفمند قبل از تماس با سیال زیستی؛ b) نانوذره پس از قرارگیری در سیال زیستی مثل پلاسما. لایه دینامیکی پروتئین‌ها و دیگر بیومولکول‌ها فوراً نانوذره را می‌پوشانند و پروتئین‌های با فراوانی بیشتر و تمایل کمتر با پروتئین‌های با فراوانی کمتر ولی تمایل بیشتر جابجا می‌شوند؛ c) استفاده از فاصله دهنده‌ها برای قرار گرفتن عامل هدف‌گیری بیرون کرونا مولکولی. در این مورد ممکن است ممانعت فضائی وجود داشته باشد که موجب کاهش کارایی برهمکنش لیگاند–گیرنده می‌شود و لیگاند ممکن است به نانوذره در جهتی نادرست متصل گردد؛ d) استفاده از پلیمرهایی مثل پلی‌اتیلن‌گلیکول می‌تواند به کاهش اتصال پروتئین به ذرات کمک کند و مانع تشکیل کرونا گردد؛ ولیکن، مسئله جهت لیگاند باقی می‌ماند و پلیمر ممکن است از اتصال همه پروتئین‌ها به نانوذرات جلوگیری نکند (۲۶).

- جایگاه فعال روی لیگاند باید در حالتی صحیح و آرایشی سه بعدی برای بهینه سازی اتصال به گیرنده عرضه شود.
- خواص حدفاصل داربست باید آن چنان طراحی شود که عامل هدف‌گیری عملکرد خود را حفظ کند؛ در حالی که جذب دیگر بیومولکول‌ها در محیط اطراف، عامل هدف‌گیری را نپوشاند یا ممانعت فضایی برای برهمکنش با گیرنده‌های سلولی هدف ایجاد نکند.
- به منظور افزایش زمان گردش و تشدید میزان دسترسی به ناحیه هدف، ذره باید قادر به گریز از سیستم ایمنی باشد.

با این وصف، به منظور بهینه کردن برهمکنش در بدن، نیاز به کنترل سنتز در سطح مولکولی وجود دارد، به‌ویژه زمانی که شناسایی مولکولی در غشاء سلولی مدنظر می‌باشد. محدودیت‌های اصلی برای راهکارهای رایج هدف‌گیری شامل فقدان اختصاصیت جهت‌دار در روش‌های شیمیایی اتصال و عدم توجه به اثر دیگر پروتئین‌های متصل شونده به نانوذره هستند. کنترل دقیق جهت پروتئین در سطح نانوذره می‌تواند با توجه به توپوگرافی سطح و خواص شیمیایی از یک سو و جزئیات ساختاری پروتئین از سویی دیگر انجام شود. بدین منظور، جهت‌دهی کنترل شده می‌تواند از طریق تکنیک‌های پیشرفته سنتز و اصلاح سطح برای کنترل نقطه اتصال و فعالیت زیستی حدفاصل به دست آید. احتمالاً حضور پروتئین‌های مختلف در کرونا نانوذره–پروتئین می‌تواند منبع مسیرهای جذبی جایگزین باشد.

۳. روش‌های آنالیتیکی برای ارزیابی کرونا

با توجه به اهمیت برهمکنش پروتئین‌های موجود در سیالات زیستی با نانوذرات مورد نظر که تعیین کننده سرنوشت زیستی نانوذره و توان درمانی آن می‌باشد، شناخت روش‌های آنالیتیک موجود در بررسی کرونا پروتئین بسیار ضروری است. از آنجائی‌که بیش از ۳۷۰۰ پروتئین در غلظت‌های مختلف وجود دارند و برای اتصال به سطح نانوذره رقابت می‌کنند، مطالعه برهمکنش پروتئین‌ها (تعیین سرعت‌های اتصال، تمایلات، استوکیومتری‌های اتصال پروتئین و غیره) با نانوذرات در سیالات زیستی بسیار پیچیده است؛

www.SID.ir

Archive of SID

(۳). تکنیک‌هایی از قبیل طیف سنجی مرئی–فرابنفش[1] (UV-Vis)، طیف سنجی همبستگی فلورسانت[2] (FCS)، تفرق دینامیک نور[3] (DLS)، دورنگ نمایی دورانی[4] (CD)، طیف سنجی انتقال فوریه مادون قرمز[5] (FTIR) و کالریمتری تیتراسیون ایزوترمال[6] (ITC) تنها برای مطالعه برهمکنش پروتئین منفرد با نانوذره کاربرد دارند؛ درحالی که بقیه تکنیک‌ها مثل کروماتوگرافی، الکتروفورز، طیف سنجی جرمی[7] (MS)، پلاسمون رزونانس سطحی[8] (SPR) و میکروبالانس کریستال کوارتز[9] (QCM) می‌توانند برهمکنش بسیاری از پروتئین‌های دردسترس (پروتئوم) در محیط با نانوذره را مورد بررسی قرار دهند (۵۷). رویکرد رایج مطالعه کرونا پروتئین، انکوباسیون نانوذرات در مخلوطی از پروتئین‌ها (مثل پلاسما یا سرم) برای دوره‌های مختلف زمانی (اغلب بین ۱۰ دقیقه تا چند ساعت) و شستشوی پروتئین‌های متصل نشده با اولتراسانتریفوژ، کروماتوگرافی ستونی، یا تخلیص گرادیان دانسیته می‌باشد؛ ولیکن خطر از دست رفتن پروتئین‌های متصل در این شستشوها وجود دارد. کرونا پروتئین به وسیله پارامترهای مختلفی از قبیل ضخامت، دانسیته، شناسه پروتئینی، کمیت پروتئینی، تمایل پروتئین–نانوذره، آرایش پروتئینی، و شکل فضائی پروتئینی شناسایی می‌گردد (۵۹, ۵۸) اهمیت هر پارامتر و نیز تکنیک‌های مشخصه‌یابی برای هریک از آن‌ها در جدول ۱ خلاصه شده‌اند.

سانتریفوژ

بیشتر مطالعات کرونا پروتئین با انکوباسیون نانوذرات درون پلاسمای خون آغاز می‌شود. در این روش، مدت زمان شستشو، تعداد مراحل، و حجم محلول می‌تواند بر لایه کرونا پروتئین اثر بگذارند. مشکل موجود در این روش این است که در طی سانتریفوژ پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا و نیز رسوبات پروتئینی ممکن است ته‌نشین شوند و به اشتباه به عنوان کرونا پروتئین شناخته شوند؛ بنابراین، برای دقّت بیشتر، سانتریفوژ باید همراه با روش‌های دیگر از قبیل فیلتراسیون ژلی انجام شود (۲۲).

دورنگ نمایی دورانی

ساختارهای ثانویه پروتئین مثل آلفا هلیکس و صفحات بتا طیف دو رنگ نمایی حلقوی خاص خود را در ناحیه فرابنفش دارند. روش CD به‌طور وسیعی برای پردازش تغییرات شکل فضائی القا شده با برهمکنش‌های پروتئین–ذره استفاده می‌شود. سیگنال CD میانگینی از اجتماع مولکولی کل را منعکس می‌کند؛ بنابراین، در حالی که CD تعیین می‌کند که به‌طور مثال یک پروتئین از حدود ۵۰٪ آلفاهلیکس تشکیل شده است، قادر به تعیین انواع باقیمانده‌های اسیدآمینه‌ای خاص در آن نمی‌باشد. طیف CD یک پروتئین در ناحیه فرابنفش نزدیک می‌تواند به تغییرات کوچک در ساختار سوم به دلیل برهمکنش‌های پروتئین–پروتئین و یا تغییرات در شرایط حلال حساس باشد. اگرچه CD نمی‌تواند برای مخلوط پروتئین‌ها به‌کار رود، می‌تواند اطلاعات مفیدی درباره تغییرات ساختاری پروتئین جذب شده بر سطح نانوذره فراهم کند (۶۰).

کالریمتری تیتراسیون ایزوترمال

این روش تکنیک کمّی است که می‌تواند پارامترهای ترمودینامیک را در محلول از قبیل تمایل اتصال، استوکیومتری اتصال و تغییر آنتالپی اتصال تعیین کند. هنگام تیتراسیون پروتئین در محلول نانوذره، تغییرات در دما اندازه‌گیری می‌شود. نشان داده شده است که این روش می‌تواند برای رسیدن به استوکیومتری و تمایل اتصال پروتئین استفاده گردد (۶۱).

[1] Ultraviolet-visible spectroscopy
[2] Fluorescence correlation spectroscopy
[3] Dynamic light scattering
[4] Circulr dichroism
[5] Fourier-transform infrared spectroscopy
[6] Isothermal titration calorimetry
[7] Mass spectrometry
[8] Surface plasmon resonance
[9] Quartz crystal microbalance

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تکنیک‌های مطالعه پارامترهای مؤثر بر ساختار و ترکیب کرونا پروتئین.

پارامتر کرونا	اثرات بر نانوسیستم‌ها	تکنیک‌ها
ضخامت و دانسیته	اثر بر اندازه هیدرودینامیک نانوذره	TEM، SEC، DCS، DLS
شناسه و کمیت	اثر بر آرایه برهمکنش‌های زیستی	LC-MS/MS، PAGE
شکل فضائی	اثر بر فعالیت یک پروتئین و برهمکنش آنآن	CD، خاموش‌سازی فلورسان، شبیه‌سازی کامپیوتری، FTIR، کریستالوگرافی اشعه X، رزونانس مغناطیسی هسته، اسپکتروسکوپی رامان
تمایل	اثر بر برهمکنش بیوفیزیکی یا انتقال به بخش فیزیولوژیکی جدید	ITC، SPR، SEC، شبیه‌سازی کامپیوتری
سینتیک اتصال	اثر تبادلات با محیط زیستی و نحوه اتصال پروتئین‌ها	QCM، SPR، شبیه‌سازی کامپیوتری

TEM: Transmission Electron Microscopy; SEC: Size-exclusion Chromatography; DCS: Differential Centrifugal Sedimentation; DLS: Dynamic Light Scattering; LC-MS/MS: Liquid Chromatography–Mass Spectrometry; PAGE: Polyacrylmide Gel Electrophoresis; CD: Circular Dichroism; ITC: Isothermal Titration Calorimetry; SPR: Surface Plasmon Resonance; QCM: Quartz Crystal Microbalance.(۵۹).

الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید-سدیم دودسیل سولفونات[1] (SDS-PAGE)

الکتروفورز روشی شناخته شده برای جداسازی و آنالیز مخلوط‌های پروتئینی می‌باشد که در آن مولکول‌های باردار معلق شده در یک سیال تحت میدان الکتریکی حرکت می‌کنند. الکتروفورز موئین و الکتروفورزهای ژلی تک‌بعدی و دو بعدی روش‌های رایج برای آنالیز کمپلکس‌های نانوذره-پروتئین هستند. این روش به‌صورت کیفی بوده و استخراج نتایج کمّی از آن ساده نمی‌باشد (۲۲).

اسپکتروسکوپی فرابنفش-مرئی

این روش بر مبنای اندازه‌گیری نسبت نور عبور کرده به نور تابیده شده در طول موج‌های فرابنفش تا مرئی است. طیف UV-Vis می‌تواند به‌صورت جذبی یا عبوری نشان داده شود. جذب پروتئین بر سطح نانوذرات تغییراتی مثل پهن شدن یا شیفت پیک جذبی را به طول موج‌های بالاتر یا پائین‌تر در طیف جذبی القا می‌کند. در مورد نانوذرات فلزی، پیک پلاسمونیک می‌تواند در طی جذب پروتئین بر سطح نانوذره پردازش گردد که به شرایط سطح و محیط نانوذره بسیار حساس است (۶۲).

اسپکتروسکوپی فلورسانس

این روش که اسپکتروفلورومتری نیز نامیده می‌شود، براساس تحریک الکترون‌ها از سطح پایه به سطوح بالاتر انرژی یا همان سطوح برانگیختگی است. بازگشت الکترون‌های برانگیخته به سطح پایه می‌تواند پرتویی یا غیرپرتویی باشد. تعدادی از اسیدهای آمینه از قبیل تیروزین، تریپتوفان و فنیل آلانین خواص فلورسانس دارند. در مطالعه برهمکنش‌های نانوذره-پروتئین، نانوذره یا پروتئین و یا حتی هردو آن‌ها می‌توانند فلورسانس باشند و در موردی که هیچ یک فلورسان نیست، یک رنگ فلورسانس باید به سیستم افزوده گردد. از آنجاکه نشان‌دار کردن فلورسانس می‌تواند شکل فضائی یا ساختار پروتئین‌ها را تغییر دهد یا تمایل پروتئین‌ها برای سطح نانوذره را تحت تأثیر قرار دهد، این مسئله می‌تواند چالش‌برانگیز باشد (۶۰، ۳۷).

اسپکترومتری جرمی

این تکنیک امروزه ابزاری قوی و ضروری در علوم زیستی و مطالعات پروتئومیکس است که به‌عنوان تکنیکی آنالیتیک برای شناسایی شناسه‌های پروتئینی استفاده می‌شود. در این روش معمولاً نمونه به پپتیدهای کوچک هضم می‌گردد که یونیزه و قطعه قطعه شده‌اند. MS[2] می‌تواند اطلاعات کمّی و کیفی از مخلوط پروتئینی

[1] Sodium dodecyl sulphate–polyacrylamide gel electrophoresis

[2] Mass Spectrometry

www.SID.ir

Archive of SID

فراهم کند و به‌طور موفقیت‌آمیزی برای شناسایی کرونا پروتئین‌ها با استفاده از روش‌های بر پایه ژل استفاده شود که نیازمند جداسازی نمونه با استفاده از SDS-PAGE و سپس آنالیز با MS می‌باشد (۶۳, ۲۶).

اسپکتروسکوپی‌های مادون قرمز انتقال فوریه و رامان

این روش‌ها اطلاعاتی درباره خواص سطحی کمپلکس‌های نانوذره–پروتئین فراهم کرده و تعیین اتصال پروتئین بر سطح را به عهده دارند (۶۴).

رزونانس مغناطیسی هسته[1]

این روش در تعیین شکل فضائی پروتئین‌ها قبل و بعد از اتصال به سطح نانوذره قابل استفاده می‌باشد. در مطالعه‌ای به وسیله روش NMR حالت جامد تعیین ساختار ثانویه پپتیدهای استاترین بر سطوح هیدروکسی آپاتیت مورد بررسی قرار گرفت. دید مولکولی فراهم شده با این مطالعات منجر به طراحی پپتیدهای الحاقی شبه‌زیستی شده است که از مکانیسم شناسایی کریستالی برای نمایش توالی‌های فعال زیستی دینامیک و در دسترس از سطح هیدروکسی آپاتیت بهره می‌برند (۶۵).

کریستالوگرافی اشعه X[2]

این روش به‌طور معمول برای تعیین چگونگی برهمکنش دارو با هدف پروتئینی‌اش و تغییرات ممکن برای بهبود این برهمکنش‌ها استفاده می‌شود. در مطالعه‌ای تثبیت آنزیم دیاستاز بر نانوذرات سیلیکا انجام شد و با استفاده از اسپکتروسکوپی مادون قرمز انتقال فوریه و کریستالوگرافی اشعه X مشخصه‌یابی شدند. آنالیز ماهیت اتصال آنزیم با این نانوذرات در شرایط فیزیولوژیکی مختلف نشان داد که الگوی اتصال و پروفایل فعالیت با pH مخلوط واکنش تغییر می‌کند (۶۶).

رسوب‌گذاری سانتریفوژی تمایلی[3]

DCS توزیع اندازه کمپلکس‌های نانوذره–پروتئین را به‌صورت نیمه کمّی در حضور مخلوط پروتئینیاندازه‌گیری می‌نماید. در مطالعه‌ای ساختار و پایداری کمپلکس‌های پروتئینی–نانوذره در پلاسما انسان بر این اساس نشان داده شد. براساس اطلاعات به دست آمده کرونا پروتئین حدود ۱۰ نانومتر برای بسیاری از نانومواد ضخامت دارد (۶۷, ۲۰).

۴. چشم‌انداز آینده

پوشش غیرقابل اجتناب سطوح نانوذرات به وسیله پروتئین‌ها نیازمند مطالعه بیشتر و بهره‌برداری در کاربردهای گوناگون می‌باشد. در این راستا درک عمیقی از مکانیسم تشکیل کرونا پروتئین و اثرات آن‌ها بر برهمکنش‌های نانو–بیو می‌بایست به عنوان فاکتوری برای تنظیم ترکیب شیمیایی، اندازه، شکل و خواص سطحی نانوذرات مورد توجه قرار گیرد تا بدین صورت پروتئین‌های خاصی به سطح نانوذره اتصال یابند. برای یک کاربرد بالینی مشخص، اتصال گروه‌های پروتئینی "صحیح" پاسخ‌های زیستی مطلوبی را در اشکال مختلف شامل انتقال و جذب هدفمند سلولی به واسطه گیرنده، زمان گردش طولانی‌تر در بدن، فعالسازی پاسخ‌های ایمنی، حذف بیومولکول‌های پاتولوژیک و نیز کاهش اثرات سمی ناخواسته نانوذرات، ایجاد خواهد کرد. اقدامات اساسی مورد نیاز است تا سطح ذرات بیش از حد پوشانده نشود؛ چراکه می‌تواند از برهمکنش‌های بین پروتئین‌های متصل به ذره و گیرنده‌های سلولی ممانعت کند. این مسئله به‌ویژه در مورد آن دسته از کاربردهایی اهمیت دارد که وابسته به جذب سلولی و نیز تحریک پاسخ‌های ایمنی هستند. اگرچه اثرات زیستی کرونا پروتئین در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است؛ ولیکن هنوز به‌دلیل ماهیت پیچیده و پویا در تشکیل کرونا موانعی برای مشخصه‌یابی آن وجود دارد. گذشته از اثرات خواص فیزیکوشیمیایی نانوذرات و مشخصات سیال زیستی بر تشکیل کرونا، حتی تغییرات جزئی در روش‌های آزمایشگاهی می‌تواند منجر به تغییرات قابل توجهی در ترکیب کرونا تشکیل شده شود که به نوبه

[1] Nuclear magnetic resonance
[2] X-ray crystallography
[3] Differential Centrifugal Sedimentation

www.SID.ir

Archive of SID

خود پاسخ‌های زیستی را تغییر می‌دهد. با این وجود، کشف کرونا پروتئین و تأثیرات قطعی آن بر سرنوشت زیستی نانوذرات، مهندسی نانوذرات را برای عملکردهای زیستی اختصاصی امکان‌پذیر می‌کند.

به منظور تشدید ایمنی و کارایی کاربرد نانوذره، لازم است که چگونگی تشکیل کروناهای پروتئینی و نحوه عمل آن‌ها در تنظیم فعالیت نانوذرات مشخص به درستی مطالعه گردند. مشخصه‌های شکل فضائی پروتئین‌های کرونایی در نانوذرات مختلف معیاری تعیین‌کننده می‌باشد که می‌بایست مدنظر قرار گیرد. تاکنون یافته‌های به‌دست آمده از ویژگی‌های ساختاری پروتئین‌های کرونا در سطح اتمی برای ارزیابی و مطالعه کامل سیستم کرونا–نانوذره کافی نبوده است؛ بنابراین مطالعه جامعی بر روی پروتئین‌های مختلف شرکت کننده در ساختار کرونا و نیز بررسی محیط‌های مختلف در بدن مورد نیاز است تا بتوان میان اصول پایه‌ای و کاربرد نهایی ارتباطی کارآمد برقرار کرد. براین اساس، درک کمپلکس پروتئین–کرونا و برهمکنش‌های آن برای پیش بینی سرنوشت نانوذرات در بدن بعد از استعمال از قبیل توزیع زیستی، دسترسی زیستی، پاسخ‌ها و سمیت از اهمیت زیادی برخوردار است. همچنین دستگاه‌های آنالیتیک نیز به‌منظور مشخصه‌یابی کرونا پروتئین از جنبه‌های مختلف نیاز به پیشرفت بیشتری دارند.

نتیجه‌گیری

براساس مطالب ذکر شده در این مطالعه و مروری بر منابع، می‌توان نتیجه گرفت که خواص فیزیکی و شیمیایی نقش بسیار مهمی در توزیع زیستی نانوذرات ایفا کرده و جذب پروتئین‌های مختلف بر سطح نانوذرات و تشکیل پروتئین کرونا می‌تواند توزیع زیستی، زیست سازگاری و کارایی درمانی نانوذرات را تحت تأثیر قرار دهد. پس مشخصه‌یابی نانوذرات و بررسی پایداری آن‌ها در شرایط فیزیولوژیک بسیار ضروری می‌باشد. پروتئین کرونا می‌تواند موجب حذف سریع نانوذرات از بدن توسط سیستم ایمنی شوند و یا انتقال نانوذره به بافت هدف را تسهیل نماید. این رفتار دوگانه موجب شده است که امروزه برهمکنش نانوذره–پروتئین بسیار مورد توجه قرار گرفته و در طراحی نانوسامانه‌های دارویی، مشخصه زیستی نانوذرات در کنار مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

تقدیر و تشکّر

از همکاری معاونت محترم تحقیقات و مرکز سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند قدردانی می‌شود.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

منابع:

1- Park SJ. Protein–nanoparticle interaction: corona formation and conformational changes in proteins on nanoparticles. Int J Nanomedicine. 2020; 15: 5783–5802. DOI: 10.2147/IJN.S254808

2- Monopoli MP, Åberg C, Salvati A, Dawson KA. Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. Nat Nanotechnol. 2012; 7(12): 779-86. DOI: 10.1038/nnano.2012.207

3- Gunawan C, Lim M, Marquis CP, Amal R. Nanoparticle–protein corona complexes govern the biological fates and functions of nanoparticles. J Mater Chem B. 2014; 2(15): 2060-83. DOI: 10.1039/C3TB21526A

4- Abarca-Cabrera L, Fraga-García P, Berensmeier S. Bio-nano interactions: binding proteins, polysaccharides, lipids and nucleic acids onto magnetic nanoparticles. Biomater Res. 2021; 25(1): 1-18. DOI: 10.1186/s40824-021-00212-y

5- Prapainop K, Witter DP, Wentworth Jr P. A chemical approach for cell-specific targeting of nanomaterials: small-molecule-initiated misfolding of nanoparticle corona proteins. J Am Chem Soc. 2012; 134(9): 4100-3. DOI: 10.1021/ja300537u

www.SID.ir

Archive of SID

6- Deng ZJ, Liang M, Monteiro M, Toth I, Minchin RF. Nanoparticle-induced unfolding of fibrinogen promotes Mac-1 receptor activation and inflammation. Nat Nanotechnol. 2011; 6(1): 39-44. DOI: 10.1038/nnano.2010.250

7- Deng ZJ, Liang M, Toth I, Monteiro MJ, Minchin RF. Molecular interaction of poly (acrylic acid) gold nanoparticles with human fibrinogen. ACS nano. 2012; 6(10): 8962-9. DOI: 10.1021/nn3029953

8- Sedighi M, Rahimi F, Shahbazi M-A, Rezayan AH, Kettiger H, Einfalt T, et al. Controlled Tyrosine Kinase Inhibitor Delivery to Liver Cancer Cells by Gate-Capped Mesoporous Silica Nanoparticles. ACS Appl. Bio Mater. 2020; 3(1): 239-51. DOI: 10.1021/acsabm.9b00772

9- Dell'Orco D, Lundqvist M, Oslakovic C, Cedervall T, Linse S. Modeling the time evolution of the nanoparticle-protein corona in a body fluid. PloS one. 2010; 5(6): e10949. DOI: 10.1371/journal.pone.0010949

10- Hamad-Schifferli K. How can we exploit the protein corona? Nanomedicine (Lond). 2013; 8(1): 1-3. DOI: 10.2217/nnm.12.179

11- Lynch I, Dawson KA. Protein-nanoparticle interactions. Nanotoday. 2008; 3(1-2): 40-7. DOI: 10.1016/S1748-0132(08)70014-8.

12- Nel AE, Mädler L, Velegol D, Xia T, Hoek EM, Somasundaran P, et al. Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. Nat Mater. 2009; 8(7): 543-57. DOI: 10.1038/nmat2442

13- Cedervall T, Lynch I, Foy M, Berggård T, Donnelly SC, Cagney G, et al. Detailed identification of plasma proteins adsorbed on copolymer nanoparticles.Angew Chem Int Ed Engl. 2007; 46(30): 5754-6. DOI: 10.1002/anie.200700465

14- Kuznetsova N, Vodovozova E. Differential binding of plasma proteins by liposomes loaded with lipophilic prodrugs of methotrexate and melphalan in the bilayer. Biochemistry (Mosc). 2014; 79(8): 797-804. DOI: 10.1134/S0006297914080070

15- Vroman L. Effect of adsorbed proteins on the wettability of hydrophilic and hydrophobic solids. Nature. 1962; 196(4853): 476-7. DOI: 10.1038/196476a0

16- Hirsh SL, McKenzie DR, Nosworthy NJ, Denman JA, Sezerman OU, Bilek MM. The Vroman effect: competitive protein exchange with dynamic multilayer protein aggregates. Colloids Surf B Biointerfaces. 2013; 103: 395-404. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.10.039

17- Zhang H, Burnum KE, Luna ML, Petritis BO, Kim JS, Qian WJ, et al. Quantitative proteomics analysis of adsorbed plasma proteins classifies nanoparticles with different surface properties and size. Proteomics. 2011; 11(23): 4569-77. DOI: 10.1002/pmic.201100037

18- Ferreira SA, Oslakovic C, Cukalevski R, Frohm B, Dahlbäck B, Linse S, et al. Biocompatibility of mannan nanogel—safe interaction with plasma proteins. Biochim Biophys Acta. 2012; 1820(7): 1043-51. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.04.015

19- Sedighi M, Sieber S, Rahimi F, Shahbazi M-A, Rezayan AH, Huwyler J, et al. Rapid optimization of liposome characteristics using a combined microfluidics and design-of-experiment approach. Drug Deliv Transl Res. 2019; 9(1): 404-13. DOI: 10.1007/s13346-018-0587-4

20- Walczyk D, Bombelli FB, Monopoli MP, Lynch I, Dawson KA. What the cell "sees" in bionanoscience. J Am Chem Soc. 2010; 132(16): 5761-8. DOI: 10.1021/ja910675v

21- Tellechea E, Wilson KJ, Bravo E, Hamad-Schifferli K. Engineering the interface between glucose oxidase and nanoparticles. Langmuir. 2012; 28(11): 5190-200. DOI: 10.1021/la2050866

22- Aggarwal P, Hall JB, McLeland CB, Dobrovolskaia MA, McNeil SE. Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy. Adv Drug Deliv Rev. 2009; 61(6): 428-37. DOI: 10.1016/j.addr.2009.03.009

23- Choi HS, Ashitate Y, Lee JH, Kim SH, Matsui A, Insin N, et al. Rapid translocation of nanoparticles from the lung airspaces to the body. Nat Biotechnol. 2010; 28(12): 1300-3. DOI: 10.1038/nbt.1696

24- Schleh C, Rothen-Rutishauser B, Kreyling WG. The influence of pulmonary surfactant on nanoparticulate drug delivery systems. Eur J Pharm Biopharm. 2011; 77(3): 350-2. DOI: 10.1016/j.ejpb.2010.12.025

www.SID.ir

Archive of SID

25- Walkey CD, Chan WC. Understanding and controlling the interaction of nanomaterials with proteins in a physiological environment. Chem Soc Rev. 2012; 41(7): 2780-99. DOI: 10.1039/C1CS15233E

26- Tenzer S, Docter D, Rosfa S, Wlodarski A, Kuharev Jr, Rekik A, et al. Nanoparticle size is a critical physicochemical determinant of the human blood plasma corona: a comprehensive quantitative proteomic analysis. ACS Nano. 2011; 5(9): 7155-67. DOI: 10.1021/nn201950e

27- Sacchetti C, Motamedchaboki K, Magrini A, Palmieri G, Mattei M, Bernardini S, et al. Surface polyethylene glycol conformation influences the protein corona of polyethylene glycol-modified single-walled carbon nanotubes: potential implications on biological performance. ACS Nano. 2013; 7(3): 1974-89. DOI: 10.1021/nn400409h

28- Mahmoudi M, Monopoli MP, Rezaei M, Lynch I, Bertoli F, McManus J, et al. The protein corona mediates the impact of nanomaterials and slows amyloid beta fibrillation. ChemBioChem. 2013; 14(5): 568-72. DOI: 10.1002/cbic.201300007

29- Tsuda A, Konduru NV. The role of natural processes and surface energy of inhaled engineered nanoparticles on aggregation and corona formation. NanoImpact. 2016; 2: 38-44. DOI: 10.1016/j.impact.2016.06.002

30- Keighron JD, Keating CD. Enzyme: nanoparticle bioconjugates with two sequential enzymes: stoichiometry and activity of malate dehydrogenase and citrate synthase on Au nanoparticles. Langmuir. 2010; 26(24): 18992-9000. DOI: 10.1021/la1040882

31- Ganji N, Bothun GD. Albumin protein coronas render nanoparticles surface active: consonant interactions at air–water and at lipid monolayer interfaces. Environ Sci: Nano. 2021; 8(1): 160-73. DOI: 10.1039/D0EN00934B

32- Lu X, Xu P, Ding H-M, Yu Y-S, Huo D, Ma Y-Q. Tailoring the component of protein corona via simple chemistry.Nat Commun. 2019; 10(1): 1-14. DOI: 10.1038/s41467-019-12470-5

33- Casals E, Pfaller T, Duschl A, Oostingh GJ, Puntes V. Time evolution of the nanoparticle protein corona. ACS Nano. 2010; 4(7): 3623-32. DOI: 10.1021/nn901372t

34- Monopoli MP, Walczyk D, Campbell A, Elia G, Lynch I, Baldelli Bombelli F, et al. Physical− chemical aspects of protein corona: relevance to in vitro and in vivo biological impacts of nanoparticles. J Am Chem Soc. 2011; 133(8): 2525-34. DOI: 10.1021/ja107583h

35- Deng ZJ, Mortimer G, Schiller T, Musumeci A, Martin D, Minchin RF. Differential plasma protein binding to metal oxide nanoparticles. Nanotechnology. 2009; 20(45): 455101. DOI: 10.1088/0957-4484/20/45/455101

36- Lundqvist M, Stigler J, Elia G, Lynch I, Cedervall T, Dawson KA. Nanoparticle size and surface properties determine the protein corona with possible implications for biological impacts. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008; 105(38): 14265-70. DOI: 10.1073/pnas.0805135105

37- Milani S, Baldelli Bombelli F, Pitek AS, Dawson KA, Radler J. Reversible versus irreversible binding of transferrin to polystyrene nanoparticles: soft and hard corona. ACS Nano. 2012; 6(3): 2532-41. DOI: 10.1021/nn204951s

38- Ge C, Du J, Zhao L, Wang L, Liu Y, Li D, et al. Binding of blood proteins to carbon nanotubes reduces cytotoxicity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011; 108(41):16968-73. DOI: 10.1073/pnas.1105270108

39- Dufort S, Sancey L, Coll J-L. Physico-chemical parameters that govern nanoparticles fate also dictate rules for their molecular evolution. Adv Drug Deliv Rev. 2012; 64(2): 179-89. DOI: 10.1016/j.addr.2011.09.009

40- Mahmoudi M, Lynch I, Ejtehadi MR, Monopoli MP, Bombelli FB, Laurent S. Protein− nanoparticle interactions: opportunities and challenges. Chem Rev. 2011; 111(9): 5610-37. DOI: 10.1021/cr100440g

41- Maiorano G, Sabella S, Sorce B, Brunetti V, Malvindi MA, Cingolani R, et al. Effects of cell culture media on the dynamic formation of protein− nanoparticle complexes and influence on the cellular response. ACS Nano. 2010; 4(12): 7481-91. DOI: 10.1021/nn101557e

42- Martel J, Young D, Young A, Wu C-Y, Chen C-D, Yu J-S, et al. Comprehensive proteomic analysis of mineral nanoparticles derived from human body fluids and analyzed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Anal Biochem. 2011; 418(1): 111-25. DOI: 10.1016/j.ab.2011.06.018

www.SID.ir

Archive of SID

43- Gasser M, Rothen-Rutishauser B, Krug HF, Gehr P, Nelle M, Yan B, et al. The adsorption of biomolecules to multi-walled carbon nanotubes is influenced by both pulmonary surfactant lipids and surface chemistry. J Nanobiotechnology. 2010; 8(31): 1-9. DOI: 10.1186/1477-3155-8-31

44- Lundqvist M, Stigler J, Cedervall T, Berggard T, Flanagan MB, Lynch I, et al. The evolution of the protein corona around nanoparticles: a test study. ACS Nano. 2011; 5(9): 7503-9. DOI: 10.1021/nn202458g

45- Schleh C, Semmler-Behnke M, Lipka J, Wenk A, Hirn S, Schäffler M, et al. Size and surface charge of gold nanoparticles determine absorption across intestinal barriers and accumulation in secondary target organs after oral administration. Nanotoxicology. 2012; 6(1): 36-46. DOI: 10.3109/17435390.2011.552811

46- Podila R, Chen R, Ke PC, Brown J, Rao A. Effects of surface functional groups on the formation of nanoparticle-protein corona. Appl Phys Lett. 2012; 101(26): 263701. DOI: 10.1063/1.4772509

47- Mahon E, Salvati A, Bombelli FB, Lynch I, Dawson KA. Designing the nanoparticle–biomolecule interface for "targeting and therapeutic delivery". J Control Release. 2012; 161(2): 164-74. DOI: 10.1016/j.jconrel.2012.04.009

48- Shahbazi M-A, Sedighi M, Bauleth-Ramos Ts, Kant K, Correia A, Poursina N, et al. Targeted reinforcement of macrophage reprogramming toward M2 polarization by IL-4-loaded hyaluronic acid particles. ACS Omega. 2018; 3(12): 18444-55. DOI: 10.1021/acsomega.8b03182

49- Kreuter J. Influence of the surface properties on nanoparticle-mediated transport of drugs to the brain. J Nanosci Nanotechnol. 2004; 4(5): 484-8. DOI: 10.1166/jnn.2003.077

50- Kreuter J, Shamenkov D, Petrov V, Ramge P, Cychutek K, Koch-Brandt C, et al. Apolipoprotein-mediated transport of nanoparticle-bound drugs across the blood-brain barrier. J Drug Target. 2002; 10(4): 317-25. DOI: 10.1080/10611860290031877

51- Ogawara K-i, Furumoto K, Nagayama S, Minato K, Higaki K, Kai T, et al. Pre-coating with serum albumin reduces receptor-mediated hepatic disposition of polystyrene nanosphere: implications for rational design of nanoparticles. J Control Release. 2004; 100(3): 451-5. DOI: 10.1016/j.jconrel.2004.07.028

52- Ishida T, Harashima H, Kiwada H. Interactions of liposomes with cells in vitro and in vivo: opsonins and receptors. Curr Drug Metab. 2001; 2(4): 397-409. DOI: 10.2174/1389200013338306

53- Lesniak A, Campbell A, Monopoli MP, Lynch I, Salvati A, Dawson KA. Serum heat inactivation affects protein corona composition and nanoparticle uptake. Biomaterials. 2010; 31(36): 9511-8. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.09.049

54- Camner P, Lundborg M, Låstbom L, Gerde P, Gross N, Jarstrand C. Experimental and calculated parameters on particle phagocytosis by alveolar macrophages. J Appl Physiol (1985). 2002; 92(6): 2608-16. DOI: 10.1152/japplphysiol.01067.2001

55- Ehrenberg MS, Friedman AE, Finkelstein JN, Oberdörster G, McGrath JL. The influence of protein adsorption on nanoparticle association with cultured endothelial cells. Biomaterials. 2009; 30(4): 603-10. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.09.050

56- Corbo C, Molinaro R, Parodi A, Toledano Furman NE, Salvatore F, Tasciotti E. The impact of nanoparticle protein corona on cytotoxicity, immunotoxicity and target drug delivery. Nanomedicine (Lond). 2016; 11(1): 81-100. DOI: 10.2217/nnm.15.188

57- Capriotti AL, Caracciolo G, Cavaliere C, Colapicchioni V, Piovesana S, Pozzi D, et al. Analytical methods for characterizing the nanoparticle–protein corona. Chromatographia. 2014; 77(11-12): 755-69. DOI: 10.1007/s10337-014-2677-x

58- Li L, Mu Q, Zhang B, Yan B. Analytical strategies for detecting nanoparticle–protein interactions. Analyst. 2010; 135(7): 1519-30. DOI: 10.1039/C0AN00075B

59- Rahman M, Laurent S, Tawil N, Yahia L, Mahmoudi M. Protein-nanoparticle interactions: Springer; 2013. DOI: 10.1007/978-3-642-37555-2

www.SID.ir

Archive of SID

60- Mu Q, Liu W, Xing Y, Zhou H, Li Z, Zhang Y, et al. Protein binding by functionalized multiwalled carbon nanotubes is governed by the surface chemistry of both parties and the nanotube diameter. J Phys Chem C. 2008; 112(9): 3300-7. DOI: 10.1021/jp710541j

61- Lindman S, Lynch I, Thulin E, Nilsson H, Dawson KA, Linse S. Systematic investigation of the thermodynamics of HSA adsorption to N-iso-propylacrylamide/N-tert-butylacrylamide copolymer nanoparticles. Effects of particle size and hydrophobicity.Nano Lett. 2007; 7(4): 914-20. DOI: 10.1021/nl062743+

62- Tessier PM, Jinkoji J, Cheng Y-C, Prentice JL, Lenhoff AM. Self-interaction nanoparticle spectroscopy: a nanoparticle-based protein interaction assay. J Am Chem Soc. 2008; 130(10): 3106-12. DOI: 10.1021/ja077624q

63- Simberg D, Park J-H, Karmali PP, Zhang W-M, Merkulov S, McCrae K, et al. Differential proteomics analysis of the surface heterogeneity of dextran iron oxide nanoparticles and the implications for their in vivo clearance. Biomaterials. 2009; 30(23-24): 3926-33. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.03.056

64- Xiao Q, Huang S, Qi Z-D, Zhou B, He Z-K, Liu Y. Conformation, thermodynamics and stoichiometry of HSA adsorbed to colloidal CdSe/ZnS quantum dots. Biochim Biophys Acta. 2008; 1784 (7-8) 1020-7. DOI: 10.1016/j.bbapap.2008.03.018

65- Hellstrand E, Lynch I, Andersson A, Drakenberg T, Dahlbäck B, Dawson KA, et al. Complete high-density lipoproteins in nanoparticle corona. FEBS J.. 2009; 276(12): 3372-81. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07062.x

66- Prakasham RS, Devi GS, Rao CS, Sivakumar V, Sathish T, Sarma P. Nickel-impregnated silica nanoparticle synthesis and their evaluation for biocatalyst immobilization. Appl Biochem Biotechnol. 2010; 160(7): 1888-95. DOI: 10.1007/s12010-009-8726-5

67- Montes-Burgos I, Walczyk D, Hole P, Smith J, Lynch I, Dawson K. Characterisation of nanoparticle size and state prior to nanotoxicological studies. J Nanopart Res. 2010; 12(1): 47-53. DOI: 10.1007/s11051-009-9774-z

www.SID.ir