Archive of SID

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس
دوره 4، شماره 2، پاییز و زمستان 1392

مباحث نوین در زیست‌شناسی: پروتئومیکس و نانوزیست‌فناوری

سیده اکرم شیردل[1]، مهسا عالمی[2]، خسرو خلیفه[3*]

1- کارشناس ارشد گروه بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
2- کارشناس گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان
3- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان

[*] زنجان، صندوق پستی 313-45195
khalifeh@znu.ac.ir
(دریافت مقاله: 91/5/20 پذیرش مقاله: 91/12/15)

چکیده- با بهینه‌سازی دستگاه طیف‌سنج جرمی و توسعه پایگاه‌های اطلاعاتی و ابزار بیوانفورماتیک توأم با ظهور نانوفناوری در دهه 1990 میلادی، تحولی عظیم و شگرف در زیست‌شناسی ملکولی صورت گرفته و چشم‌اندازهای جدیدی در زیست‌شناسی ملکولی، پزشکی، کشاورزی، علوم محیط زیست، داروسازی و ... پیدا شد که مهمترین آن‌ها نگاه شبکه‌وار به کل سیستم زنده و حل مسائل زیستی در سطح کل سیستم به عنوان یک ماهیت به هم پیوسته متشکل از شبکه میان‌کنش‌دهنده‌ای از ژن‌ها، پروتئین‌ها و واکنش‌های بیوشیمیایی مختلف است. علاوه بر این، از اتحاد نانوفناوری و زیست‌شناسی، نانوزیست‌فناوری پا به عرصه وجود گذاشت.
در این مقاله، مفاهیم برخی موضوعات اصلی در زیست‌شناسی به زبانی ساده بازگو شده است. موضوعات مورد بحث در این مقاله شامل مبانی پروتئومیکس و توصیفی نظام‌مند از حوزه‌های مختلف مطالعاتی در آن است. پس از یک مرور مختصر بر اصول فیزیکی نانوفناوری، کاربرد یکی از محصولات آن به نام کوانتوم دات در زیست‌شناسی و به طور خاص در مطالعات پروتئومیکسی مورد بحث قرار داده شده است. این مقاله در برگیرنده اصول کلی و کاربردهای عمده حوزه‌های نوظهور در زیست‌شناسی است.

کلیدواژگان: طیف‌سنجی جرمی، بیوانفورماتیک، نانوفناوری، زیست‌شناسی شبکه‌وار، کوانتوم دات.

1- مقدمه‌ای بر پروتئومیکس

واژه پروتئوم[1] برای اولین بار در سال 1994 توسط مارک ویلکینز[2] به کار برده شد، در تعریفی که او از پروتئوم داد، پروتئوم به سری کامل پروتئین‌های بیان شده در یک لحظه خاص در یک سلول مورد نظر اشاره دارد، با این حال امروزه سطح این تعریف، از سلول به بافت، اندام و ارگانیسم نیز تعمیم داده شده است. مطالعه پروتئوم‌ها موضوع علم پروتئومیکس[3] است [1].

با این توصیف اگر پروتئوم به مفهوم بررسی هم‌زمان تعداد زیادی پروتئین در نظر گرفته شود [2-5]، می‌توان تاریخ آن را تا اواخر دهه 1970 به عقب برد، یعنی زمانی که محققان شروع به طراحی و ساختن پایگاه‌های اطلاعاتی پروتئین‌ها با استفاده از روش‌هایی مانند ژل الکتروفورز دوبعدی[4] کرده بودند [۶،۷]. در آن زمان

1. Proteom
2. Mark Wilkins
3. Proteomics
4. 2-Dimensional Gel Electrophoresis (2D GE)

www.SID.ir

Archive of SID

اگرچه این تکنیک در آزمایش‌های مختلف در یک آزمایشگاه تکرارپذیر[1] بود و از انجام یک آزمایش خاص در آزمایشگاه‌های مختلف نیز نتیجه یکسانی حاصل می‌شد[2]، که بازتابی از دقت این روش بود، با این حال تعیین ماهیت پروتئین‌های جداسازی شده کاری مشکل و طاقت فرسا بود که علت آن فقدان روش‌های سریع و در عین حال حساس آنالیتیکی برای شناسایی پروتئین‌ها بود. این مشکل به قوت خود باقی بود تا این که در اوائل دهه 90، طیف‌سنجی جرمی[3] به عنوان یک ابزار شناسایی قدرتمند در زیست شناسی به کار گرفته شد [8]. این پیشرفت در بهینه‌سازی دستگاهی روش طیف‌سنجی جرمی زمانی میسر شد که کل توالی ژنوم انسان در حال وارد شدن به پایگاه‌های اطلاعاتی بیوانفورماتیکی[4] بود [9] در ادامه این روند، این عوامل همگی دست به دست هم دادند تا عصر جدیدی از مطالعات زیستی در قالب پروتئومیکس شروع شود [10].

حال این سؤال پیش می‌آید که با وجود ژنومیکس -که حاوی دستورالعمل‌های ساخت پروتئین است- چگونه نیاز به پروتئومیکس احساس شد؟

در جواب باید گفت که همزمان با افزایش روز افزون توالی DNA در پایگاه‌های اطلاعات بیوانفورماتیکی، محققان به تدریج به این نکته پی‌بردند که فقط داشتن توالی کامل ژنوم برای مشخص کردن رفتار زیستی ناشی از محصولات این ژن‌ها کافی نیست و حالت یک سلول در یک لحظه خاص که ناشی از عملکرد این محصولات است وابسته به تعداد زیادی از مسیرهای متابولیکی و تنظیمی است؛ به عبارت دیگر یک میان‌کنش خطی بین ژن‌ها و پروتئین‌های حاصل از آن‌ها وجود ندارد، در عوض این ژن‌ها و پروتئین‌ها همراه با انواع متابولیت‌ها در یک سری میان‌کنش‌های شبکه‌ای درگیر بوده و تغییر در تعداد یا غلظت هر کدام از این عوامل می‌تواند باعث تغییر در این شبکه شده و سلول را از یک حالت[5] به حالت دیگر سوق دهد. این مفهوم دیدگاه جدیدی در زیست‌شناسی معروف به زیست‌شناسی شبکه‌وار[6] است که که در آن اجزای مختلف یک سلول یا موجود زنده در سطوح مختلف (بافت، اندام و کل ماهیت زنده) به صورت نظام‌مند و در ارتباط با یکدیگر بررسی می‌شوند [۱۱،۱۲].

از طرف دیگر هر ژن به طور بالقوه می‌تواند چندین پروتئین مختلف با عملکردهای متفاوت را ارائه دهد، علت این تنوع در محصولات ژنی انجام فرایندهای پس از نسخه‌برداری و ترجمه، مانند پردازش و پیرایش hnRNA و تغییرات شیمیایی انجام شده روی پروتئین‌ها (مانند گلیکوزیلاسیون و فسفریلاسیون) است، به بیان دیگر چنانچه یک ژن نسخه‌برداری شود (که خود تحت کنترل پروتئین یا پروتئین‌های ویژه‌ای است) بیان آن در سطوح پس از نسخه‌برداری نیز تحت کنترل بوده و این کنترل‌ها در نیمه عمر، میان‌کنش‌ها، جاگیری پروتئین در کمپلکس‌های ویژه ماکروملکولی و غیره تأثیرگذارند [۱۳،۱۴]. بنابراین اگرچه ژنوم یعنی سری کامل توالی‌های DNA در یک سلول یا ارگانیسم ماهیت ثابتی دارد، لیکن پروتئوم بر حسب شرایط حاکم بر سلول یا ارگانیسم ماهیت متغیری دارد، بنابراین ماهیت میان‌کنش‌های شبکه‌ای که حالت نهایی سلول را در هر لحظه مشخص می‌کنند، تحت تأثیر پروتئوم تغییرپذیر است، بنابراین می‌توان گفت پروتئومیکس حوزه‌ای است که شکاف بین توالی ژنوم و رفتار سلولی ناشی از محصولات این ژنوم (که از روی توالی قابل پیش‌بینی نیست) را پر می‌کند؛ همچنین هدف پروتئومیکس مطالعه محصولات پروتئینی حاصل از ژنوم و بررسی میان‌کنش‌های آن‌هاست که به طور پویا تحت تأثیر شرایط حاکم بر سلول یا ارگانیسم

1. Repeatability
2. Reproducibility
3. Mass Spectrometry (MS)
4. Bioinformatics Databases

5. State
6. Systems Biology

www.SID.ir

Archive of SID

متغیرند. بر این اساس امروزه با دیدگاه جدیدی می‌توان به مطالعه بیماری‌هایی همچون سرطان پرداخت [15،16].
موضوع دیگر این است که وجود یک قالب باز نسخه‌برداری ژنی[1] در داده‌های ژنومی به‌طور لزوم بیانگر وجود یک ژن عملکردی نیست. با وجود پیشرفت‌های صورت گرفته در بیوانفورماتیک، پیش‌بینی وجود یک ژن عملکردی از روی داده‌های ژنومی مشکل است؛ اگرچه تعیین توالی ژنوم ارگانیسم‌های مشابه همزمان با توسعه الگوریتم‌های کامپیوتری مناسب امکان مطالعه به روش ژنومیکس مقایسه‌ای برای رفع این مشکل را تا حدی فراهم کرده است [17] در عین حال باید در نظر داشت که میزان موفقیت در پیش‌بینی این ساختار اولیه کماکان پایین است، به خصوص در مورد ژن‌های کوچک و یا ژن‌هایی که با ژن‌های عملکردی شناخته شده همسانی[2] چندانی ندارند. بنابراین تشخیص یک محصول ژنی از طریق روش‌های پروتئومیکس یک گام مهم در تفسیر ژنوم است [10].

1-1- ابزار پروتئومیکس

با توجه به مقدمه‌ای که گفته شد در این جا به ابزار مهم در پروتئومیکس اشاره می‌شود که شامل فناوری الکتروفورز دوبعدی، طیف‌سنجی جرمی و بیوانفورماتیک است.
اولین آزمایش‌های الکتروفورز دو بعدی به کار گرفته شده در حوزه پروتئومیکس در مورد الگوهای قرارگیری لکه‌های پروتئینی مربوط به پروتئوم‌های حاصل از عصاره‌های بافتی مختلف یا پروتئوم‌های محیط کشت باکتریایی که تحت شرایط مختلف رشد قرار داشتند، بود [18]. امروزه محققان لکه‌های مورد نظر خود را از روی ژل جدا کرده و از طریق روش طیف‌سنجی جرمی مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌دهند تا از این طریق پروتئین موجود بر روی لکه مورد نظر شناسایی شود. با توجه به این که تعداد پروتئین‌های موجود در یک پروتئوم به بیش از هزار مورد نیز می‌رسد، انجام الکتروفورز بر مبنای نقطه ایزوالکتریک و بار پروتئین نمی‌تواند کل پروتئین‌ها را از یکدیگر جدا کند، به عبارت دیگر برخی از پروتئین‌ها با وجود داشتن توالی متفاوت ممکن است دارای نقطه ایزوالکتریک یکسانی بوده و با هم بر روی یک باند افتاده و از یکدیگر جدا نشوند؛ بر این اساس انجام الکتروفورز در بعد دوم و بر اساس جرم ملکولی صورت گرفته و پروتئین‌های مختلفی که به علت داشتن pH ایزوالکتریک یکسان بر روی هم افتاده باشند، به علت داشتن جرم ملکولی متفاوت در بعد دوم ژل از یکدیگر جدا می‌شوند [۱۹،۲۰]. در این صورت برای هر پروتئوم الگوی خاصی از پراکندگی لکه‌ها بر روی ژل به‌دست می‌آید. در ادامه این آزمایش، پروتئین‌های موجود در موقعیت‌های خاصی از ژل که به پروتئوم سلولی یا بافت ویژه‌ای مربوط‌اند، جدا شده و به طور مستقیم یا پس از هضم شیمیایی-آنزیمی برای تولید قطعات منحصر به فرد پروتئینی، با تکنیک طیف‌سنجی جرمی مورد آزمایش قرار می‌گیرند. علت قطعه قطعه کردن پروتئین در این مرحله این است که در روش طیف‌سنجی جرمی پروتئین باید در فاز گازی وارد سیستم آزمایشی شود و قطعات کوچک پپتیدی می‌توانند در این فاز وارد شوند در حالی که پروتئین‌های درشت‌ملکول به علت وزن زیاد قادر نیستند این مرحله را پشت سر گذارند. علاوه بر این، از آنجا که پروتئاز به کار رفته در هضم پروتئین بر اساس توالی پروتئین به طور اختصاصی جایگاه‌های خاصی را برش می‌دهد، بنابراین هر پروتئینی بر اساس ماهیت ساختار اول خود، یک الگوی اختصاصی و منحصر به فرد[3] از قطعات مختلف پپتیدی را به دست می‌دهد و طیف‌های MS مربوط به قطعات مختلف حاصل از یک پروتئین نیز برای هر پروتئینی اختصاصی و منحصر به فرد خواهند بود [21-

1. Open Reading Frame (ORF)
2. Homology
3. Unique

www.SID.ir

Archive of SID

[25].

در ادامه می‌توان با استفاده از توالی پروتئینی به‌دست آمده به جستجو، شناسایی و تجزیه و تحلیل توالی‌های ژنی مربوط به این پروتئین‌ها و همچنین توالی‌های پروتئینی مشابه در پایگاه‌های اطلاعاتی ژنومی و پروتئومی در بیوانفورماتیک پرداخت [26].

2-1- جنبه‌های مختلف مطالعه در پروتئومیکس

با توجه به این که امروزه گستره اهداف پروتئومیکس بسیار وسیع شده است، شاید لازم باشد که در این قسمت هر چند گذرا به جنبه‌های مختلف مطالعه در آن نگاهی شود. در این جا انواع نام‌گذاری‌های به‌کار رفته در مورد مطالعات پروتئومیکسی یادآوری می‌شود، با این توضیح که این تقسیم‌بندی‌ها اختیاری بوده و خیلی از موارد ذکر شده در حقیقت یک نوع مطالعه را شامل می‌شوند که با دیدگاه‌های مختلف مورد بررسی قرار می‌گیرد.

1-2-1- پروتئومیکس اکتشافی

اتحاد دو فناوری الکتروفورز دوبعدی و طیف‌سنجی جرمی در طول دهه آخر قرن گذشته نوعی پروتئومیکس را موجب شد که آن را می‌توان پروتئومیکس اکتشافی یا پروتئومیکس بدون سوگیری نامید؛[1] به این معنا که در این نوع مطالعه هدف اصلی کشف پروتئین‌های جدید یا کشف الگوهای بیان ژن در شرایط مختلف است. در این نوع مطالعه یک نمونه زیستی به وسیله جداسازی، کمی‌سازی و شناسایی تعداد زیادی پروتئین مورد بررسی قرار می‌گیرد. در اینجا تأکید بر پروتئین‌هایی است که فراوانی آن‌ها نسبت به یک نمونه مرجع دستخوش تغییر شده است، به طوری که گاهی وجود یک لکه در پروتئوم مورد بررسی و عدم وجود آن در نمونه مرجع حاکی از ارتباط این پروتئین و میان‌کنش‌های آن با شرایط حاکم بر سلولی است که این پروتئوم از آن استخراج شده است. به هر حال این مطالعه بدون سوگیری می‌باشد، زیرا در درجه اول، محقق مجبور نیست اطلاعات و دانش خود از زیست‌شناسی را در طراحی آزمایش به کار گیرد و مسیر آزمایش از قبل معلوم است و دوم این که از قبل پروتئین‌های خاصی را برای بررسی انتخاب نمی‌کند و از این نظر اکتشافی است که الگوهای جدیدی از بیان ژنی در پروتئوم ممکن است کشف شوند.

2-2-1- پروتئومیکس متمرکز

در مقابل این نوع مطالعه می‌توان از مطالعه پروتئومیکسی متمرکز یا وابسته به سیستم[2] نام برد، که در آن محقق مطالعه را از طریق تعریف زیر مجموعه‌ای از پروتئین‌های مورد نظر جهت تجزیه و تحلیل‌های بعدی، جهت‌دهی می‌کند. به طور مثال می‌توان خانواده‌ای از پروتئین‌های مرتبط به هم از نظر توالی یا مجموعه‌ای از پروتئین‌ها که از نظر عملکرد باهم ارتباط دارند، را مد نظر قرار داد [27].

3-2-1- پروتئومیکس مبتنی بر هدف

یکی دیگر از جنبه‌های مهم در مطالعات پروتئومیکس هدف از مطالعه[3] است. به عنوان مثال گاهی در یک بررسی هدف محقق تجزیه و تحلیل یک نمونه زیستی خاص مثل پروتئوم بیوپسی تومور حاصل از یک سرطان ویژه در یک لحظه خاص فیزیولوژیکی است. در چنین مطالعاتی یک تجزیه و تحلیل کامل پروتئومیکسی برای اندازه‌گیری فراوانی، تغییرات شیمیایی، فعالیت، جاگیری پروتئین‌ها در کمپلکس‌های خاص درشت‌ملکولی و میان‌کنش پروتئین‌های موجود در نمونه می‌تواند اطلاعات کاملی در مورد این پروتئوم به دست دهد. حتی می‌توان یک سطح مقطع بیان ژنی[4] در مورد برخی پروتئین‌های

1. Unbiased or discovery-oriented proteomics

2. Focused' or 'Systems-oriented Proteomics
3. Objective-oriented
4. Gene Expression Profile

www.SID.ir

Archive of SID

ویژه را در این پروتئوم به‌دست آورد که اختصاصی این سرطان بوده و در حالت‌های دیگر موجود نباشند. همچنین می‌توان وجود یا عدم وجود پروتئین یا پروتئین‌های خاصی در این پروتئوم را به عنوان مارکر این سرطان گزارش کرد [29،28].

1-2-4- پروتئومیکس کمی و مقایسه‌ای

از سوی دیگر گاهی مطالعه پروتئومیکسی را مطالعه‌ای کمی یا مقایسه‌ای[1] در نظر می‌گیرند، به این معنا که در آن الگوی بیان ژن (فراوانی نسبی یک یا چند پروتئین) در یک پروتئوم نسبت به یک پروتئوم مرجع مورد بررسی قرار می‌گیرد. به عنوان مثال در گیاه‌شناسی و کشاورزی می‌توان به مقایسه شدت بیان یک ژن خاص در سیب‌زمینی تحت تنش نمک و عدم تنش نمک اشاره کرد [30].

1-2-5- پروتئومیکس مبتنی بر عملکرد

در مقابل پروتئومیکس کمی، پروتئومیکس عملکردی[2] قرار دارد که در آن محقق در جستجوی یافتن عملکرد هر پروتئین در یک سلول یا ارگانیسم است. به عنوان مثال، این مطالعه گاهی مستلزم شناسایی سوبستراهایی برای آنزیم‌های خاص موجود در پروتئوم و یا شناسایی میان‌کنش‌های مهم مرتبط با پروتئین‌های ویژه است [32،31]

1-3- فناوری ریزنمایه پروتئینی

فناوری ریزنمایه پروتئین[3] از طریق ابزاری که آن را به اصطلاح ریزنمایه آشکارساز پروتئین[4] نیز می‌نامند [33] در پروتئومیکس کمی به صورت هدف‌دار، پروتئین‌های خاصی را مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌دهد. یک ریزنمایه آشکارساز پروتئین، حاوی واکنش‌گرهای متفاوتی است که بر اساس میان‌کنش‌های میل ترکیبی عمل کرده و پروتئین‌های ویژه‌ای را از بین مجموعه‌ای از پروتئین‌ها به دام می‌اندازند. واکنش‌گرهای به کار گرفته شده در ساختار ریزنمایه به طور معمول آنتی‌بادی‌ها یا لیگاندهای دیگری محسوب می‌شوند که می‌توانند به طور اختصاصی به پروتئین‌های خاصی متصل شوند. این آنتی‌بادی‌ها در تراکم فضایی خیلی بالایی روی یک نگهدارنده جامد، مثلاً بر روی سطح نازکی از سیلیکون به صورت یک سامانه ماتریسی در کنار هم چیده شده‌اند. بنابراین، موقعیت هر آنتی‌بادی بر روی سطح ریزنمایه از قبل مشخص است. هر آنتی‌بادی می‌تواند پروتئین هدف خود را از بین مجموعه زیادی از پروتئین‌های موجود در یک یا چند پروتئوم به دام اندازد به طوری که در مراحل بعد با شستشوی ریزنمایه، پروتئین‌هایی که به طور اختصاصی با آنتی بادی‌ها میان‌کنش نداده باشند از محیط ریزنمایه خارج شده و فقط پروتئین‌های مورد نظر برای بررسی‌های دقیق‌تر در دسترس خواهند بود.

از نظر تاریخی ریشه ریزنمایه پروتئینی به توسعه سنجش‌های ایمنی‌شناسی مربوط می‌شود. در اوائل سال 1929 میلادی آنتی‌بادی‌ها در مطالعات سرولوژیکی جهت رسوب دادن آنتی‌ژن‌ها به کار گرفته شدند [34] به طوری که آین آنتی‌بادی‌ها در مراحل بعد، از نظر کمی قابل بررسی بودند. در سال 1959 میلادی فناوری رادیوایمنواسی[5] توسعه داده شد [35] و در سال 1971 میلادی، سنجش ایمنولوژیکی مرتبط با آنزیم یا همان تست معروف الیزا ابداع شد [36]. در اواخر دهه 1980 گزارش شد که با بکارگیری لکه‌های کوچک حاوی آنتی‌بادی‌ها روی یک نگه‌دارنده جامد، می‌توان یک سنجش کمی خیلی حساس را انجام داد [36] و از این مرحله به بعد مشخص شد که از چینش کنار هم چنین

1. Quantitative Proteomics or Comparative Proteomics
2. Functional Proteomics
3. protein chip or protein microarray technology
4. protein-detecting microarrays
5. Radio Immuno Assay (RIA)

www.SID.ir

Archive of SID

لکه‌هایی که هر کدام حاوی آنتی‌بادی‌های ویژه‌ای‌اند، می‌توان مجموعه‌ای از آنالیت‌ها را مورد ارزیابی قرار داد. با این حال در اواخر دهه 1990 بود که با توسعه الگوریتم‌های مناسب کامپیوتری همراه با بهینه‌سازی ابزار و تجهیزات در زمینه ساخت ریزنمایه DNA و مشخص شدن کاربردهای آن، توجه خاصی نیز به سمت توسعه فناوری ریزنمایه پروتئین به منظور مطالعات پروتئومیکس کمی هدف‌دار معطوف شد.

1-3-1- سنجش‌های کمی در ریزنمایه پروتئین

در سال 1998 میلادی روشی معرفی شد که در آن با استفاده از یک چابگر جوهری استاندارد، آنتی‌بادی‌های منوکلونال مورد نظر روی صفحه نازکی از فیلم پلی‌استرن لکه‌گذاری شده بود [38]. در این روش هر لکه با قطری در حدود 200 میکرومتر حاوی یک نوع آنتی‌بادی به تعداد زیاد بود.

محققان قبل از وارد کردن مجموعه پروتئین‌های مورد بررسی به فضای ریزنمایه، به منظور به دام انداختن پروتئین‌های مورد نظر خود، ابتدا مجموعه پروتئین‌های مورد بررسی را با آنتی‌بادی‌های ثانویه‌ای که به طور اختصاصی به همان پروتئین‌های متصل شونده به آنتی‌بادی‌های اولیه بر روی سطح ریزنمایه متصل می‌شدند، وارد واکنش کردند. این آنتی‌بادی‌های ثانویه خود به یک ماده رنگی متصل بودند و بنابراین پروتئین‌های مورد نظر ابتدا رنگ‌آمیزی می‌شوند. این نوع روش رنگ‌آمیزی که در آن پروتئین به طور مستقیم رنگ را به خود نمی‌گیرد بلکه به یک آنتی‌بادی رنگ‌آمیزی شده متصل می‌شود روش رنگ‌آمیزی غیرمستقیم[1] می‌گویند. در مرحله بعد این مجموعه پروتئینی بر روی سطح ریز نمایه قرار داده شد و پروتئین‌های مورد نظر که به آنتی‌بادی‌های ثانویه نیز متصل شده بودند به‌وسیله آنتی‌بادی‌های اولیه موجود بر روی سطح ریزنمایه به طور اختصاصی به دام انداخته شدند. پس از انجام عمل شستشو فقط پروتئین‌های مورد نظر بر روی سطح ریزنمایه قابل آشکارسازی بودند. از آن جا که پروتئین مورد نظر در این آزمایش در پایان میان‌کنش با سطح ریزنمایه بین دو نوع آنتی‌بادی اولیه و ثانویه قرار می‌گرفت، این نوع مطالعه را با عنوان سنجش ساندویچی نیز مورد اشاره قرار می‌دهند [39] امروزه در پروتئومیکس کمی از این‌گونه روش‌ها می‌توان به بررسی مقدار نسبی یک پروتئین خاص در دو پروتئوم پرداخت، به این صورت که دو پروتئوم را با دو رنگ مختلف رنگ‌آمیزی کرده و پس از مخلوط کردن آن‌ها مجموعه حاصل را بر روی سطح ریزنمایه اعمال می‌کنند. بدیهی است که در صورت وجود یک پروتئین خاص در هر دو پروتئوم این پروتئین در چاهک اختصاصی مربوط به آنتی‌بادی خود به دام می‌افتد و هر دو نوع رنگ در این چاهک دیده خواهند شد. با مقایسه شدت این رنگ‌ها به‌کمک یک آشکارساز، می‌توان بیان نسبی این پروتئین را در دو پروتئوم مورد بررسی قرار داد. علاوه بر سنجش کمی یک پروتئین خاص، می‌توان با مطالعه کیفی، تغییرات پس از ترجمه بر روی این دو پروتئین را نیز بررسی نموده و مشخص کرد که مثلا در یک پروتئوم چه تغییرات شیمیایی روی یک پروتئین خاص صورت گرفته و در پروتئین موجود در پروتئوم دیگر صورت نگرفته است. از دیدگاه زیست‌شناسی شبکه‌وار این تغییرات پس از ترجمه را می‌توان در مفهوم تغییر در میان‌کنش این پروتئین در سامانه زیستی تفسیر کرد.

توجه شود که علاوه بر روش ساندویچی که در بالا به آن اشاره شد، گاهی از آنتی‌بادی ثانویه برای رنگ‌آمیزی استفاده نمی‌شود، یعنی برای بررسی کیفی پروتئین، می‌توان پس از به دام انداخته شدن آن به‌وسیله آنتی‌بادی‌های موجود در روی سطح ریزنمایه از روش طیف‌سنجی جرمی

1. Indirect Staining

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده کرد و یا این که برای مطالعه کمی، با روش‌های شیمیایی خاصی همه پروتئین‌های موجود در یک پروتئوم را نشانه‌گذاری نمود که این روش رنگ‌آمیزی را نشانه‌گذاری مستقیم[1] می‌نامند. در برخی موارد نیز خود پروتئین‌ها مستقیم بر روی سطح ریزنمایه ریخته شده و به‌وسیله آنتی‌بادی‌های نشانه‌گذاری شده، شناسایی می‌شوند.

همان‌طور که بیان شد، در سنجش کمی پروتئین‌ها؛ فقط دو نوع پروتئوم را پس از رنگ‌آمیزی با دو رنگ متفاوت می‌توان با یکدیگر مخلوط کرد و پس از انجام واکنش با آنتی‌بادی‌های موجود بر روی سطح ریزنمایه از روی شدت نسبی رنگ‌های موجود در هر چاهک مقدار یک پروتئین خاص را در یک پروتئوم نسبت به مقدار همین پروتئین در پروتئوم دیگر مشخص کرد. یکی از مهمترین دلایل محدود بودن تعداد پروتئوم‌های مورد بررسی در این گونه آزمایش‌ها این است که چون از رنگ‌های آلی برای رنگ‌آمیزی استفاده می‌شود و چاهک‌های مربوط به آنتی‌بادی‌های مختلف نیز در فضای خیلی متراکمی در کنار هم چیده شده‌اند، در عمل چنانچه چندین رنگ در این فضای کوچک کنار هم قرار گیرند به دلیل پهنای زیاد نوار رنگ‌ها و پیوسته بودن طیف آن‌ها، بین آن‌ها همپوشانی صورت گرفته و از ترکیب آن‌ها رنگ جدیدی حاصل می‌شود [40]. بنابراین آشکارساز نمی‌تواند شدت نسبی این رنگ‌ها را نسبت به یکدیگر مشخص کند زیرا در حقیقت یک رنگ را می‌بیند. امروزه با کمک یکی از محصولات نانوفناوری[2] یعنی کوانتوم دات‌ها[3] این مشکل در حال مرتفع شدن است. بنابراین می‌توان انتظار داشت که در آینده اتحادی بین نانوفناوری و پروتئومیکس نیز برقرار شود. در این جا مرور مختصری بر نانوفناوری و یکی از محصولات آن یعنی کوانتوم دات‌ها خواهیم داشت.

2- مقدمه‌ای بر نانوفناوری

ریچارد فاینمن[4] برنده جایزه نوبل فیزیک و از پیشگامان این علم در قرن گذشته شاید اولین کسی باشد که ایده نانوفناوری را به طور نظری مطرح نمود [41]. وی در سخنرانی معروف خود که در 29 دسامبر 1959 در گردهمایی سالانه انجمن فیزیک آمریکا در مؤسسه فناوری کالیفرنیا ایراد کرد، از دنیایی صحبت به میان آورد که امروزه دنیای نانو نامیده می‌شود. او سخنرانی خود را با این عنوان شروع کرد که "در آن زیر فضای خالی زیادی وجود دارد" که منظور او فضای خالی بین اتم‌ها در دنیای ذرات نانو بود (در یک مقیاس‌بندی اگر فرض شود که هسته 1 متری باشد، نزدیکترین الکترون به آن در 100 کیلومتری اطراف آن در حال گردش است و فضای خالی زیادی در هر اتم وجود دارد) بر این اساس وی این سؤال را مطرح کرد که چرا نتوان همه 24 جلد دایره المعارف بریتانیکا را در فضایی به اندازه سر یک سوزن جا داد، او در ادامه سخنرانی خود سؤالات دیگری را همزمان با یک سری جواب‌های احتمالی بر اساس دانش روز آن زمان، مطرح نمود. امروزه از این سخنرانی به عنوان یک سخنرانی کلاسیک در تاریخ فیزیک نام برده می‌شود.

اما نانوفناوری چیست و نانو فناوری در جستجوی چه اهدافی است؟

از آن جا که در نانوفناوری صحبت از ذراتی می‌شود که هیچ‌گاه به طور مستقیم مشاهده نشده‌اند [42]، می‌توان آن‌ها را در دنیای دیگری فرض کرد. به عبارت دیگر انسان در دنیایی زندگی می‌کند که با حواس پنجگانه خود می‌تواند با ماهیت‌های قابل درک موجود در آن به طور مستقیم رابطه برقرار کند و مشاهده این ذرات به اصطلاح حجیم[5] و قابل درک برای انسان به صورت یک عادت

1. Direct Labelling
2. Nano technology
3. quantum dots

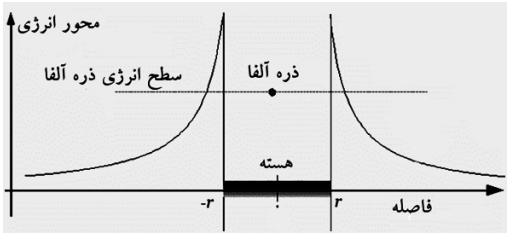
4. Richard Phillips Feynman (1918-1988)
5. Bulk

www.SID.ir

Archive of SID

روزمره در آمده است؛ بنابراین می‌توان این پدیده‌ها را پدیده‌هایی کلاسیک و جا افتاده در نظر گرفت و به همین ترتیب دنیایی که انسان قادر به درک آن است نیز دنیای کلاسیک یا دنیای اجسام حجیم است. از طرفی هر اتفاقی باید قابل توجیه بوده و در صورت امکان فرمول‌بندی شود. بر این اساس از زمان‌های بسیار قدیم فلاسفه و دانشمندان در اندیشه توجیه پدیده‌های کلاسیکی بودند که در دنیای کلاسیک به فراوانی مشاهده می‌شدند. (مثل افتادن سیب از درخت به سمت پایین و نه به سمت بالا) به طوری که امروزه قواعدی حاکم بر دنیای کلاسیک وجود دارد که اصطلاحا در قالب پارادایم[1] نیوتنی جمع‌آوری و فرمول‌بندی شده‌اند. البته قانون ارشمیدس نیز که سال‌ها قبل از نیوتن کشف شده بود نیز از آن جا که یک پدیده کلاسیک مربوط به دنیای کلاسیک را توجیه می‌کند در پارادایم نیوتن قرار می‌گیرد (پارادایم اصطلاحی است در فلسفه علم که به‌وسیله توماس کوهن[2] فیزیکدان آمریکایی و استاد فلسفه علم به واژگان فلسفه اضافه شد) [43].

در اوایل قرن بیستم دانشمندان به برخی پدیده‌ها برخورد کردند که در پارادایم کلاسیک نیوتنی قابل توجیه نبود و با مشاهدات کلاسیک در تناقض بودند، به عنوان مثال از دید کلاسیک نور خاصیت موجی داشت اما برخی مشاهدات حاکی از وجود خاصیت ذره‌ای در نور بود. خیلی از خواص که در دنیای کلاسیک خاصیت پیوسته داشتند در مشاهدات غیرمستقیمی که به واسطه ابزار پیشرفته جدید از دنیای ذرات کوچک به عمل می‌آمد، خاصیت ناپیوسته از خود نشان می‌دادند. از این مرحله به بعد بود که دانشمندان بتدریج به این نتیجه رسیدند که علاوه بر قواعد کلاسیک حاکم بر دنیای اجسام حجیم، قوانین دیگری وجود دارند که در دنیای ذرات کوچک و نانو وجود داشته و نه تنها با قواعد کلاسیک سازگار نیستند بلکه گاهی بر خلاف این قوانین حرکت می‌کنند. این قوانین را امروزه قواعد کوانتومی و دنیایی که در آن این قوانین حاکم‌اند، دنیای کوانتوم[3] می‌نامند (اصطلاح کوانتوم به مفهوم ناپیوسته بودن است). پدیده تونل زنی ذره آلفا یکی از معروفترین پدیده‌های کوانتومی است (شکل 1). به این صورت که اگر یک ذره آلفا در چاهک انرژی قرار گرفته باشد برای گسیل چنین ذره‌ای از داخل هسته بر طبق قوانین کلاسیک انتظار می‌رود که این ذره ابتدا مقداری انرژی کسب کرده و پس از بالا رفتن سطح انرژی از بالای منحنی چاهک انرژی به بیرون ازهسته پرتاب شود، این در حالی است که در خیلی از مواقع ذره آلفا بدون کسب انرژی فعال‌سازی از ضخامت دیواره منحنی عبور کرده و گسیل می‌شود. اگر این پدیده قرار باشد در دنیای کلاسیک برای انسان اتفاق افتد درست مثل این است که انسان بدون این که با کوچکترین مقاومتی روبرو شود از یک دیوار سخت به راحتی عبور کند!!! بدیهی است که با قوانین حاکم بر دنیای کلاسیک هیچ گاه این اتفاق برای ما نخواهد افتاد.



شکل 1 تونل زنی ذره آلفا

به طور خلاصه این نتیجه حاصل می‌شود که حداقل دو دنیای متفاوت کلاسیک و کوانتوم با برخی قوانین متفاوت به ترتیب برای اجسام حجیم و اجسام نانو وجود دارد.

پدیده‌های دنیای کوانتوم را به اصطلاح در قالب پارادایم فیزیک کوانتوم و با استفاده از توابع موج توجیه و در برخی موارد پیش‌بینی می‌کنند. توابع موج توابعی دیفرانسیلی‌اند و

1. Paradigm
2. Thomas Kohn
3. Quantum World

www.SID.ir

Archive of SID

در حالت کلی دو توانایی عمده دارند: اول این که قادر به توجیه یک پدیده بوده و دوم این که قادر به پیش‌بینی وقوع یک پدیده‌اند. زیرا از نظر ریاضی هر تابع دیفرانسیلی باید حل شود و پیش از حل شدن در صفحه مختصات به طور بالقوه حاوی ده‌ها منحنی مربوط به معادله، به موازات هم‌اند بر حسب این که در حل این معادله دیفرانسیلی چه شرایط مرزی اعمال شود، یکی از این منحنی‌ها به دست می‌آید، از این نظر چنین توابعی خاصیت پیش‌بینی‌کنندگی دارند یعنی بر حسب نوع شرایط مرزی اعمال شده در حل این معادلات می‌توان وجود یک منحنی خاص (مربوط به یک رفتار فیزیکی و یا زیستی) را پیش‌بینی کرد.

از طرف دیگر گاهی یک پدیده اتفاق افتاده و آثار آن به‌عنوان مثال به صورت یک طیف و منحنی مشاهده شده است؛ در این حالت می‌توان معادله را با اعمال شرایط مرزی طوری حل کرد تا به این منحنی رسید، از این نظر می‌توان گفت که این پدیده توجیه شده است.

حال به چند مثال زیر توجه شود:

اگر از دو حبه قند یکی را له کرده و هر دو را در دو لیوان آب با حجم و دمای برابر انداخته و در شرایط یکسانی هم زده شوند، از آن جا که حل شدن آن ها در آب یک پدیده کلاسیک و تکراری است، انتظار می‌رود خاکه قند سریع‌تر از حبه قند در آب حل شود و در عمل نیز چنین چیزی مشاهده می‌شود؛ برای توجیه این اتفاق نیز یک تفسیر کلاسیک وجود دارد، به این صورت که چون در خاکه قند نسبت سطح به حجم بالا رفته و در واقع سطح واکنش‌دهنده افزایش یافته است، در زمان کمتری در آب حل می‌شود.

حال به مثال بعد توجه شود: ذرات طلا در مقیاس نانو نسبت به ذرات طلا در اندازه حجیم، دمای ذوب بسیار پایین‌تری دارند. در این جا یک خاصیت فیزیکی در این ماده بر حسب اندازه آن تغییر کرده است. به عبارت دیگر می توان گفت طلا در مقیاس حجیم و اندازه بزرگ از قوانین دنیای کلاسیک تبعیت می‌کند. در واقع طبق این قواعد نقطه ذوب خاص خود را دارد در حالی که نقطه ذوب همین عنصر در مقیاس نانو کاهش یافته است [44]

به عنوان مثال دیگر می‌توان از فلز مس نام برد که در اندازه‌های بزرگ و در دنیای کلاسیک به عنوان یک رسانای خوب جریان الکتریسیته عمل می‌کند؛ ولی همین فلز زمانی که به اندازه نانو در می‌آید در حضور میدان مغناطیسی خارجی به یک نیمه رسانا تبدیل می‌شود [45]

بنابراین با توجه به مطالبی که گفته شد می‌توان این گونه اظهار نظر کرد که در نانوفناوری در گام اول باید در مواد مختلف در مقیاس نانو برخی خواص جدید کشف شوند و دوم این که راه‌کارهایی پیدا شوند تا بتوان با دقتی در حد اتم، موادی ساخت که دارای خواص جدید نوری، مغناطیسی، دمایی و یا الکتریکی باشند.

در مورد ساختن مواد در مقیاس نانو اولین بار در سال 1989 محققی به نام دان ایگلر[1] در مؤسسه تحقیقاتی شرکت IBM برای اولین بار موفق شد با جابجایی اتم‌ها، کلمه مورد نظر خود یعنی حروف واژه IBM را در مقیاس اتمی بنویسد، او اولین کسی است که موفق شد اتم‌ها را تک‌تک و به طور ارادی جابجا کند. در حقیقت ساخت و بکارگیری میکروسکوپ روبشی تونل زنی[2] گام بزرگی در نانوفناوری محسوب می‌شود [46]

اکنون به مثال‌های زیر توجه شود:

شرکت نانوسونیک کائوچوهایی ساخته است که همانند کائوچو انعطاف‌پذیر بوده و خاصیت کشسانی دارند، با این حال مانند یک فلز رسانای جریان الکتریسیته‌اند.

شرکت جنرال الکتریک در اندیشه ساختن سرامیک‌هایی است که انعطاف‌پذیر باشند، در صورت رسیدن به این هدف می‌توان از این سرامیک‌ها در بخش‌هایی از موتور جت استفاده کرد. در این صورت بازدهی این موتورها در

1. Don Eigler
2. Scanning Tunnling Microscope (STM)

www.SID.ir

Archive of SID

دماهای بالاتر به میزان زیادی افزایش خواهد یافت.
چندین شرکت نیز در حال انجام تحقیقات برای ساختن رنگ‌هایی هستند که این رنگ‌ها علاوه بر ایجاد زیبایی در نمای ساختمان‌ها بتوانند به عنوان سلول‌های خورشیدی در جذب و ذخیره‌سازی انرژی عمل کنند.
برخی شرکت‌ها نیز از طریق وارد کردن ذزات نانو در ساختار پارچه‌ها، خواص ضدآب و ضدبو را در آن‌ها به وجود آورده‌اند.
در سال 1991 یک محقق ژاپنی در مؤسسه NEC در Tsukuba فرم جدیدی از کربن را کشف کرد که در آن صفحات نازکی از گرافیت می‌توانستند لوله‌هایی با قطری در حد نانو را تشکیل دهند که این لوله‌ها دارای برخی خواص غیر عادی بودند [47]. از آن زمان تاکنون تحقیقات وسیعی در زمینه بکارگیری این نانولوله‌ها برای مقاصد مختلف مانند استفاده از آن‌ها به عنوان حسگرها، کاوشگرهای ملکولی، استفاده درحافظه کامپیوتر، به عنوان منبع الکترون در مونیتور تلویزیون‌ها، به عنوان سلول های سوختی و موارد مشابه صورت گرفته است.

3- نانوزیست‌فناوری

زیست‌شناسی نیز از این پیشرفت‌ها در نانوفناوری بی‌نصیب نمانده است [۴۹،۴۸]؛ این شناخت از دانش مانند خیلی از علوم دیگر با نانوفناوری متحد شده، به‌گونه‌ای که از اتحاد دو علم نانوفناوری و زیست‌شناسی علم نانوزیست‌فناوری[1] متولد شده است. در این قسمت به برخی از کاربردهای نانوفناوری در زیست شناسی اشاره می‌شود:
از طریق نانوفناوری فرایندهای زیستی را می‌توان در سطح یک ملکول ردیابی کرد [۵۱،۵۰].
از طریق بکارگیری ذرات آهن در مقیاس نانو می‌توان کیفیت تصاویر MRI را به میزان بالایی افزایش داد [52]

امروزه قطعات کوچک طلا در اندازه نانو را به اولیگونوکلئوتیدهایی متصل کرده و این اولیگونوکلئوتیدها بر حسب توالی خود دارای توانایی اتصال به مواد ژنتیکی پاتوژن‌ها می‌باشند، همچنین تحقیقاتی انجام می گیرد تا از نانوفناوری در انتقال دارو و ژن نیز استفاده شود [53].
شرکت معروف داروسازی pfizer در قبال هر 1 کیلوگرم محصولی که تولید می‌کند 25 کیلوگرم ضایعات به وجود می‌آورد که از نظر زیست‌محیطی دارای اهمیت می‌باشند. امروزه محققان به این نتیجه رسیده‌اند که یکی از راه‌های کاهش دادن این مقدار ضایعات، ساده کرده مسیر فرایندها و در صورت امکان حذف برخی مراحل در سنتز دارو است که شاید یکی از بهترین راهکارها استفاده از مواد محصول نانوفناوری باشد که با توانایی حمل مواد واکنش دهنده به ساده‌تر شدن این فرایندها کمک کنند [54].

3-1- کوانتوم‌دات‌ها

در سال 1999 در آمریکا شرکتی به نام quantum dot corporation تأسیس شد که یک محصول نانوفناوری به نام کوانتوم دات را تولید می‌کرد. این شرکت در سال 2003 اولین محصول زیستی خود را روانه بازار کرد که یک کوانتوم دات متصل به یک آنتی‌بادی بود و در آزمایش لکه‌گذاری وسترن[2] مورد استفاده قرار گرفت [۵۶،۵۵].
کوانتوم دات‌ها نانوبلورهایی[3] اند که فقط از چند صد اتم تشکیل شده‌اند. و به خاطر اندازه کوچکی که دارند، دارای برخی خواص غیرکلاسیک و جالب‌اند [57-59] به این صورت که همگی آن‌ها همانند یک فلوئوروفور[4] (کروموفوری که دارای خاصیت جذب نور و رسیدن به حالت برانگیختگی و نشر نور است) دارای خاصیت فلوئورسانس اند و بر حسب نوع ماده‌ای که از آن سنتز

1. Nanobiotechnology

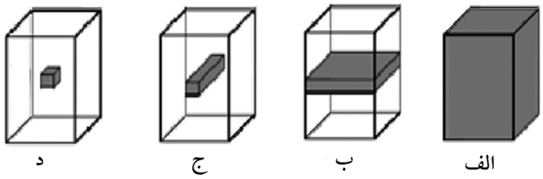
2. western Blot
3. Nano-Crystal
4. Flourophore

www.SID.ir

Archive of SID

شده‌اند و به‌ویژه بر حسب اندازه خود می‌توانند تحت تأثیر یک نور لیزر تحریک شده و همگی فلوئورسانس مخصوص به خود را در محدوده نور مرئی گسیل کنند. نکته جالب در این است که در درجه اول می‌توان کوانتوم دات‌هایی ساخت که همگی دارای یک رنگ، ولی با شدت‌های مختلف باشند، با این توضیح که شدت رنگ‌ها در این جا به صورت پیوسته نیست و اگر به عنوان مثال رنگ قرمزی با شدت‌های مختلف از تعدادی کوانتوم دات گسیل شود بر خلاف آنچه که در حالت کلاسیک انتظار می‌رود، این رنگ‌ها به صورت یک طیف پیوسته نبوده و در فضای کم با یکدیگر همپوشانی نخواهند کرد؛ بنابراین آشکارساز می‌تواند هر شدتی را بدون تداخل با دیگری تشخیص دهد. نکته دوم این است که در حالت کلی رنگ ناشی از فلوئورسانس کوانتوم دات‌ها در مقایسه با رنگ‌های آلی مثل رودامین، 20 برابر درخشان‌تر و در مقابل عوامل زایل‌کننده رنگ[1] 100 بار مقاوم‌ترند، یعنی نیمه‌عمر بالایی نسبت به رنگ‌های معمولی دارند. علاوه بر این پهنای باند نیز در این رنگ‌ها بسیار باریکتر از پهنای باند رنگ‌های معمولی است و به همین علت حتی اگر چندین کوانتوم دات با رنگ‌های مختلف در یک فضای متراکم نظیر سطح ریزنمایه در کنار هم قرار گیرند، آشکارساز هر کدام از رنگ‌ها را بدون همپوشانی با دیگری تشخیص داده و شدت آن را مورد ارزیابی قرار می‌دهد. این در حالی است که رنگ‌های معمولی وقتی در مقیاس فضایی کم در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند به دلیل داشتن پهنای باند زیاد با یکدیگر همپوشانی کرده و رنگ ترکیبی جدیدی می‌دهند. از خواص دیگر کوانتوم دات‌ها این است که در آب محلول بوده و با شرایط زیستی نیز سازگارند[2] [60].

در این جا برای رسیدن به تعریف دقیقی از کوانتوم دات به شکل 2 توجه کنند. در شکل 2- الف جسمی دیده می‌شود که در هر سه بعد حجیم بوده و بنابراین انتظار می‌رود که خواص کلاسیک از خود نشان دهد. در تصویر ب، همین جسم در یکی از ابعاد نانو شده است به این حالت در اصطلاح بستر کوانتومی، نانو ول یا کوانتوم ول[3] می‌گویند. بنابراین بر اساس مطالبی که اشاره شد، انتظار می‌رود که این جسم حداقل در یک بعد خواص کوانتومی از خود نشان دهد. در تصویر ج، همان جسم اول این بار در دو بعد فضایی به اندازه نانو در آمده است، بنابراین این جسم که سیم کوانتومی یا نانوسیم[4] نامیده می‌شود در این دو بعد خواص کوانتومی از خود نشان خواهد داد. از آنجا که DNA نیز همین شرایط را دارد، بنابراین از این دیدگاه می‌توان DNA را به عنوان یک نانوسیم در حوزه مطالعاتی نانوفناوری مورد مطالعه قرار داد. در تصویر د، جسم الف در حالتی مشاهده می‌شود که در هر سه بعد به اندازه نانو در آمده است، بنابراین در هر سه بعد می‌تواند از قوانین دنیای کوانتوم تبعیت کرده و برخی خواص کوانتومی را از خود بروز دهد. این حالت که به اصطلاح کوانتوم دات (نانو دات) نامیده می‌شود، قابل مقایسه با پروتئین‌های فشرده و کروی کوچک با اندازه‌ای در حد نانو است.



شکل 2 مفهوم ابعاد و اندازه‌ها در فیزیک کلاسیک و کوانتوم

امروزه از کوانتوم‌دات‌های زیستی در آزمایش‌هایی نظیر وسترن بلات [56] در ردیابی مسیر حرکت لیگاندها و چگونگی اتصال آن‌ها به گیرنده‌های سلولی در محیط آزمایشی [61] و محیط زنده [62] و رنگ‌آمیزی اندامک‌های سلولی و در مطالعات پروتئومیکسی [64،63]

1. Photo Bleaching Factors
2. Biocompatible
3. Nanowell or quantum well
4. quantum Wire or NanoWire

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده می‌شود.

در رنگ‌آمیزی اجزای سلولی هر کوانتوم‌دات با یک رنگ خاص را به آنتی‌بادی ویژه‌ای که دارای قابلیت اتصال اختصاصی به یک اندامک است، متصل می‌کنند. بر این اساس می‌توان به طور همزمان چندین کوانتوم دات را روانه سلول کرد تا هر کدام به اندام هدف خود متصل شوند، در این صورت پس از تحریک کوانتوم‌دات‌ها با نور لیزر مناسب، می‌توان هر اندامک سلولی را به رنگ خاصی مشاهده کرد.

3-1-1- کوانتوم‌دات‌ها و پروتئومیکس

همان طور که بیان شد یکی از محدودیت‌های مطالعه در پروتئومیکس کمی این است که در رنگ‌آمیزی با رنگ‌های معمولی فقط دو نوع پروتئوم را می‌توان با دو رنگ مختلف رنگ‌آمیزی کرد؛ پس از مخلوط کردن آن‌ها با یکدیگر نیز از طریق مقایسه شدت این رنگ‌ها بر روی سطح ریزنمایه و در چاهک حاوی آنتی‌بادی مورد نظر، به طور نسبی میزان بیان یک ژن خاص را در یک پروتئوم نسبت به پروتئوم دیگر مورد سنجش قرار داد. در این رابطه اعمال کردن بیش از دو نوع پروتئوم در فضای متراکم چاهک‌ها در ریزنمایه نتیجه قابل قبولی به‌دست نمی‌دهد که علت آن همپوشانی بین رنگ‌های آلی مختلف در فضای متراکم ریزنمایه است.

با توجه به خواص کوانتوم دات‌ها، می‌توان از کوانتوم دات‌ها به طور همزمان برای رنگ‌آمیزی پروتئین‌ها و سنجش میزان بیان ژن‌ها در پروتئوم‌های مختلف[1]، استفاده کرد. به این صورت که در استفاده از کوانتوم دات‌ها می‌توان به طور همزمان چندین پروتئوم را با کوانتوم دات‌های مختلف رنگ‌آمیزی کرده و پس از مخلوط کردن همه آن‌ها با یکدیگر مخلوط حاصل را روی سطح ریزنمایه وارد کرد. در این صورت در چاهک حاوی یک آنتی‌بادی خاص، ممکن است به طور همزمان چندین کوانتوم دات مختلف وجود داشته باشند که پس از تحریک با نور لیزر چندین نور مختلف از یک فضای متراکم گسیل خواهد شد؛ اما با توجه به این که این رنگ‌ها پهنای باند کمی دارند و همچنین نسبت به رنگ‌های آلی بسیار درخشان‌ترند، تشخیص آن‌ها با آشکارساز به سهولت انجام شده و شدت نسبی این رنگ‌ها نسبت به یکدیگر به‌عنوان تابعی از تفاوت مقدار پروتئین مورد نظر در پروتئوم‌های مختلف، معین می‌شود [۶۵،۶۴]. به عنوان یکی دیگر از کاربردهای بالقوه کوانتوم‌دات‌ها، می‌توان به استفاده از آن‌ها در ساختن چیپ‌های سخت‌افزاری ذخیره‌کننده اطلاعات در کاربردهای بیوانفورماتیک اشاره کرد [۶۶،۶۳].

1. Multiplex Color system assay

4- منابع

[1] Dove, A. (1999). Proteomics: translating genomics into products? Nat. Biotechnol. 17, pp. 233-236.

[2] Wilkins, M. R., Williams, K. L., Apple, R. D. and Hochstrasser, D. F. (1997). Proteome Research: New Frontiers in Functional Genomics. Springer, Berlin, pp. 1- 243.

[3] Wilkins, M. R. et al. (1996). From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. Nat. Biotechnol. 14, pp. 61–65.

[4] Celis, J. et al. (1996). Human 2-D PAGE databases for proteome analysis in health and disease. FEBS Lett. 398, pp. 129–134.

[5] Anderson, N. G. & Anderson, N. L. (1996). Twenty years of two-dimensional electrophoresis: past, present and future. Electrophoresis. 17, pp. 443–453.

[6] Barret, T. & Gould, J. (1973). Tissue and species specificity of non-histone chromatin proteins. Biochem. Biophys. Acta. 294, pp. 165–170.

[7] O'Farrell, P. H. (1975). High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. J. Biol. Chem. 250, pp. 4007–4021.

[8] Justin, L. P. B. and Brandon T. R. (2011). Mass spectrometry: come of age for structural and dynamical biology. Curr. Opin. Struct. Biol. 21, pp. 641–649.

[9] Benson D. A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman D. J., Ostell, J., Wheeler, D. L. (2006). Genbank.

www.SID.ir

Archive of SID

Nucl Acids Res. 34, D16–D20.
[10] Pandey, A and Mann, M. (2000). Proteomics to Study genes and genomes. Nature. 405, pp. 837-846.
[11] Kunal, A and Kelvin, H. L. (2003). Functional genomics and proteomics as a foundation for systems biology. Brief. Func. Genomic. Proteomic. 2(3), pp. 175–184.
[12] Chuang, H., Hofree, M., and Ideker, T. (2010). A Decade of Systems Biology. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 26, pp. 721-744.
[13] Banks, R. E et al. (2000). Proteomics: new perspectives, new biomedical opportunities. The Lancet. 356, pp. 1749-1756.
[14] Matthias, M., Ole N. J. (2003). Proteomic analysis of post-translational modifications. Nat Biotech. 21, pp. 255-261.
[15] Bensmail, H and Haoudi, A. (2003). postgenomics and bioinformatics in cancer research. J. biomed. biol. 4, pp. 217-230.
[16] Sreekumar, A. et al. (2001). profiling of cancer cells using protein micro array: discovery of novel radiation regulated proteins. Cancer res. 15, pp. 7585-7593.
[17] Chain, P., Kurtz, S., Ohlebusch, E and Slezak, T. (2003). An applications-focused review of comparative genomics tools: Capabilities, limitations and future challenges. Brief. Bioinformatics. Vol 4. No. 2, pp. 105–123.
[18] Klose, J. (2009). From 2-D electrophoresis to proteomics. Electrophoresis. 30, S142–S149.
[19] Dongre, A. et al. (1997). Emerging tandem-mass-spectrometry techniques for the rapid identification of proteins. Trends Biotechnol. 15, pp. 418–425.
[20] Haleem J. I. and Timothy, D. V. (2008). Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D-PAGE): advances and perspectives. BioTechniques. 44, pp. 697-700.
[21] Bantscheff, M. et al. (2007). Quantitative mass spectrometry in proteomics:a critical review. Anal Bioanal Chem. 389, pp. 1017–1031.
[22] Hillenkamp, K. M. (1988). Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. Anal Chem. 60, pp. 2299-2301.
[23] Fenn J. B. et al. (1989). Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. Science. 246, pp. 64-71.
[24] Wright, M. E., Han, D. K., Aebersold, R. (2005). Mass spectrometry-based expression profiling of clinical prostate cancer. Mol Cell Proteomics. 4, pp. 545-554.
[25] Pan, S. Z. H et al. (2005). High throughput proteome screening for biomarker detection. Mol Cell Proteomics. 4, pp. 182-190.
[26] Kumar, C., Mann, M. (2009). Bioinformatics analysis of mass spectrometry-based proteomics data sets. FEBS Letters. 583, pp. 1703–1712.
[27] Macbeath, G. (2002). protein micriarray and proteomics. Nat. genet. 32, Suppl, pp. 526-532.
[28] Gast, M. W., Schellens, J. H. M., Beijnen, J. H. (2009). Clinical proteomics in breast cancer: a review. Breast Cancer Res Treat. 116, pp. 17–29.
[29] Wulfkuhl, J. D., Liotta, L. A., Petricoin, F. E. (2003). Proteomics Applications for the early detection of Cancer. Nat. Rev. 3, pp. 267-275.
[30] Aghaei, K., Ehsanpour, A. A., Komatsu, S. S. (2008). Proteome analysis of potato under salt stress. J. Proteom. Res. 7(11), pp. 4858-4868.
[31] Gonzalez-Angulo, A. M. et al. (2011). Functional proteomics can define prognosis and predict pathologic complete response in patients with breast cancer. Clin. Proteomics. 8, pp. 11-18.
[32] Köcher, T. & Superti-Furga, G. (2007). Mass spectrometry–based functional proteomics: from molecular machines to protein networks. Nat. Methods. Vol.4, No.10, pp. 807-815.
[33] Kodadek, T. (2001). Protein microarrays: prospects and problems. Chem. Biol. 8, pp. 105–115.
[34] Heidelberger, M. & Kendall, F. E. (1929). A quantitative study of the precipitation reaction between type III pneumococcus polysaccaride and purified homologousantibody. J. Exp. Med. 50, pp. 809–823.
[35] Yalow, R. S. & Berson, S. A. (1959). Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods. Nature. 184, pp. 1648–1649.
[36] Engvall, E. & Perlman, P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. Immunochemistry. 8, pp. 871–874.
[37] Ekins, R., Chu, F. & Biggart, E. (1990). Multispot, multianalyte, immunoassay. Ann. Biol. Clin. (Paris). 48, pp. 655–666.
[38] Silzel, J. W et al. (1998). Mass-sensing, multianalyte microarray immunoassay with imaging detection. Clin. Chem. 44, pp. 2036–2043.
[39] Nielsen, U. B., Geierstanger, B. H. (2004). Multiplexed sandwichassays in microarray format. J. immunol. Methods. 290, pp. 107–120.
[40] Mingyong, H et al. (2001). Quantum.dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. Nat Biotechnol. 19, pp. 631-635.

www.SID.ir

Archive of SID

[41] Feynman, R. (2003). There is plenty of room at the bottom. Am. Phys. soc. pp. 1-11.
[42] Whiteside, G. (2003). The right size in nanotechnology. Nat. biotechnol, pp. 1161-1165.
[43] Kuhn, T. S (1970). The Structure of Scientific Revolutions. (2nd Edition) University of Chicago Press. Section V, pp. 43-51.
[44] Koga, K., Ikeshoji, T. and Sugawara, K. (2004). Size- and Temperature-Dependent Structural Transitions in Gold Nanoparticles. Phys. Rev. Lett. 92, 115507.
[45] Samim, M., Kaushik, N. K. and Maitra, A. (2007). Effect of size of copper nanoparticles on its catalytic behaviour in Ullman reaction. Bull. Mater. Sci. 30, pp. 535–540.
[46] Fall meeting of the material research society, (1990). A New Role for the STM. Science. 250, pp. 1340–1341.
[47] Sumio, I. (1991). "Helical microtubules of graphitic carbon". Nature. 354, pp. 56–58.
[48] Salata, O. V. (2004). application of nanoparticles in biology and medicine. J. nanotech. 2, pp. 1-6.
[49] Sarikaya, M. et al. (2003). Molecular biomimetics: nanotechnology through biology. Nat. mater. 2, pp. 577-585.
[50] Sunney, X. et al. (2008). Single-Molecule Approach to Molecular Biology in Living Bacterial Cells. Ann Rev Biophys. 37, pp. 417-444.
[51] Sako, Y., Yanagida, T. (2003). Single-molecule visualization in cell biology. Nat Rev Mol Cell Biol. Suppl: SS1-5.
[52] Ruirui, Q., Chunhui, Y. and Mingyuan, G. (2009). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: from preparations to in vivo MRI applications. J. Mater. Chem. 19, pp. 6274–6293.
[53] Pooja, M., Tiwari, K. V., Vida, A. D and Shree, R. (2011). Singh. Functionalized Gold Nanoparticles and Their Biomedical Applications. Nanomaterials. 1, pp. 31-63.
[54] Nanotechnology Aims to Improve Drug Synthesis. (Monthly Feature 2005). NCI Alliance for Nanotechnology in Cance research, pp. 1-3.
[55] Ouellette, J. (2003). Quantum Dots for sale. AIP. pp. 14-17.
[56] Richard, L. O. Theresa, F. H. and Hongjian, L. (2005). Western blot analysis with quantum dot fluorescence technology: A sensitive and quantitative method for multiplexed proteomics. Nat. Methods. 2, pp. 79-81.
[57] Alivisatos, A. P. (1996). Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. Science. 271, pp. 933–937.
[58] Nirmal, M., Murray, C. B. and Bawendi, M. G. (1994). Fluorescence-line narrowing in CdSe quantum dots: Surface localization of the photogenerated exciton. Phys. Rev. B: Condens. Matter. 50, pp. 2293–2300.
[59] Weller, H. (1993). Colloidal Semiconductor Q-Particles: Chemistry in the Transition Region between Solid State and Molecules. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 32, pp. 41-53.
[60] Warren, C. W. and Shuming, N. (1998). Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. Science. 281, pp. 2016-2018.
[61] Lidke, D. et al. (2004). Quantume dot ligands provide new insights into erb /HER receptor-mediated signal transduction. Nat. biotechnol. pp. 198-203.
[62] Akerman, E. M. et al. (2002). Nanocrystal targeting in vivo.PNAS. 99, pp. 12617-12621.
[63] Khalifeh, Kh and Ranjbar, B. (2005). A novel application of quantum dots as a tool for storage of CD spectra data in proteomics.Med Hyp. pp. 821-822.
[64] Khalifeh, Kh and Ranjbar, B. (2006). Application of quantum dots in quantitative proteomics for multiplex colour system assay. Med Hyp. pp. 203-204.
[65] Lonnie, J. L., Jennine, N. Chesler, J. Y. (2007). Lab-on-a-chip immunoassay for multiple antibodies using microsphere light scattering and quantum dot emission. Biosensors Bioelectron. 23, pp. 675–681.
[66] Chang, S. and grover, ch. (2004). Information coding and retrieving using fluorescent semiconductor Nanocrystals for object identification. Opt. Soc. Am. pp. 143-148.

www.SID.ir