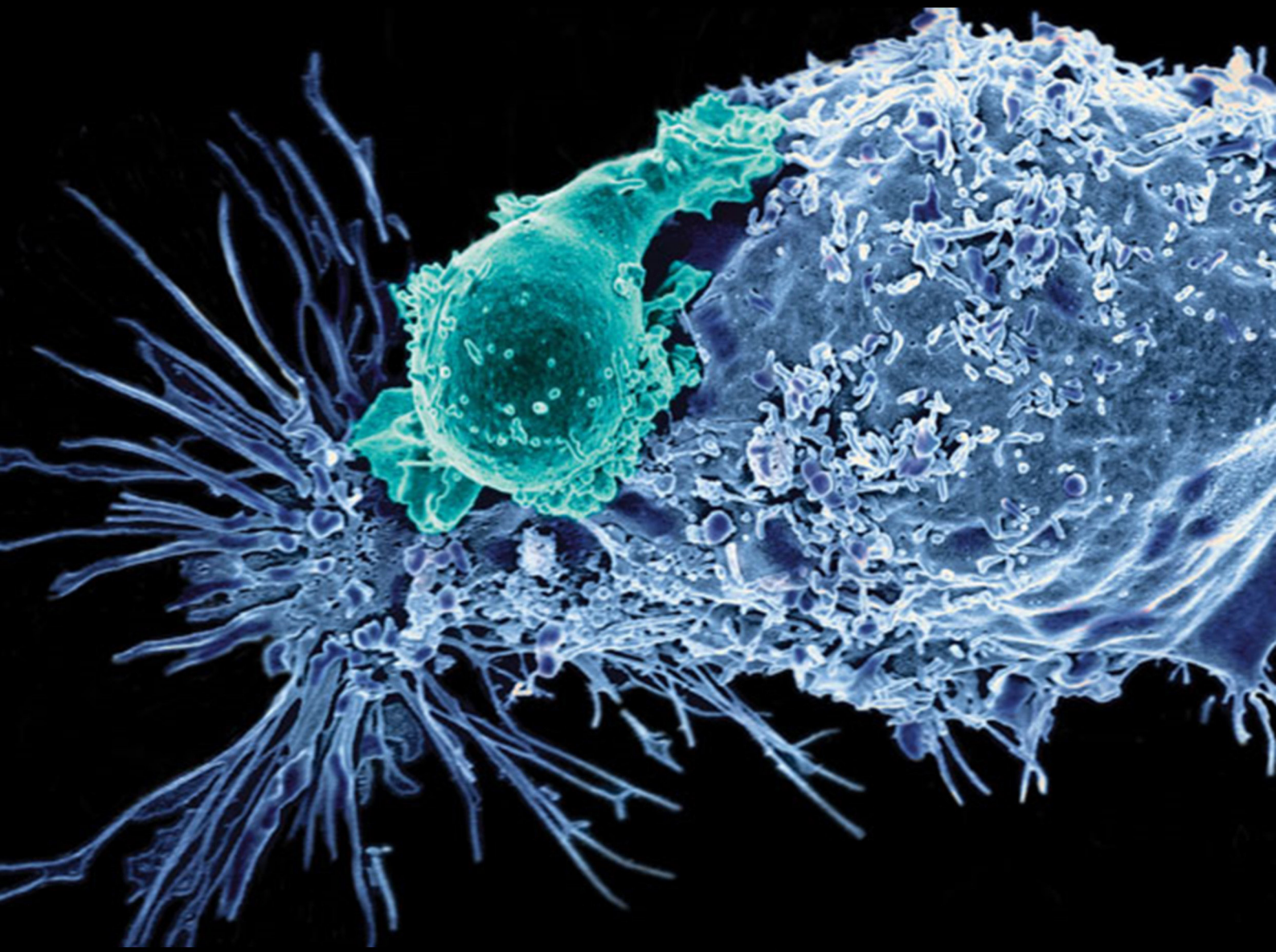
زیست نوین

دوفصلنامه علمی تخصصی انجمن علمی دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت مدرس - سال اول/شماره دوم/پاییز و زمستان ۹۸

گفت‌وگوی اختصاصی با دکتر خواجه
ریاست دانشکده علوم زیستی
دانشگاه تربیت مدرس



- مطالعه‌ی آماری وضعیت اشتغال دانش‌آموختگان علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس
- روش‌های ایمونوتراپی سرطان از گذشته تا به امروز
- ساخت رگ با استفاده از تکنیک مهندسی بافت
- سلول‌های بنیادی جنینی
- سرازوم

دانشگاه تربیت مدرس
معاونت فرهنگی و اجتماعی

جوان‌ها باید
خودشان را تقویت کنند
امروز جوان‌ها باید خردمندی، معرفت و دانش، ایمان، همبستگی و یکپارچگی خودشان را هر چه ممکن است، تقویت کنند درست همان مناطقی که دشمن می‌خواهد تقویت نشود.
KHAMENEI.IR
رهبر انقلاب ۷۹/۵/۵

بسم الله الرحمن الرحیم

زیست نوین

نشریه علمی تخصصی زیست نوین-انجمن علمی بیوفیزیک دانشگاه تربیت‌مدرس
تیراژ ۲۰۰ نسخه چاپی + انتشار الکترونیک / قیمت ۱۵۰۰۰ تومان

صاحب‌امتیاز: انجمن علمی دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت‌مدرس (معاونت فرهنگی و اجتماعی)
مدیرمسئول: رضا مهدویان
سردبیر: صنم صادقی محمدی
مدیر داخلی: محمد توحیدلو
مدیرمالی: امید توحیدلو

هیئت تحریریه
صنم صادقی محمدی (دکتری نانوبیوتکنولوژی)
محمد توحیدلو (کارشناسی ارشد بیوفیزیک)
رضا مهدویان (کارشناسی ارشد بیوفیزیک)
حمیدرضا اخباریون (کارشناسی ارشد بیوشیمی)
جلیل پرچکانی جوزکی (دکتری بیوفیزیک)
محمد عزتی (کارشناسی ارشد بیوشیمی)
نسرین سیدپور (کارشناسی ارشد فیزیک پزشکی)
کوشا ایرانی (کارشناسی ارشد بیوفیزیک)
سپیده عیسی زایی (کارشناسی ارشد ژنتیک)
ابراهیم فلاح (دکتری فیزیولوژی ورزشی)
امین ابراهیمیان (دکتری فیزیولوژی ورزشی)
ربابه نعمتی (کارشناسی ارشد بیوشیمی)
راشین محمدی (دکتری نانوبیوتکنولوژی)
زهرا السادات نقیب زاده (کارشناسی ارشد زیست سلولی و مولکولی)
سید محمدرضا مرتضوی (کارشناسی ارشد نانوبیوتکنولوژی)
شکوفه اکبری (کارشناسی ارشد ریاضی زیستی)
نیلوفر ترکزاده (کارشناسی ارشد بیوشیمی)
زینب فتوحی (کارشناسی ارشد نانوبیوتکنولوژی)

اساتید همکار این شماره
دکتر پرویز عبدالمالکی (مشاور انجمن)
دکتر خسرو خواجه
دکتر رضا حسن ساجدی
دکتر کامران منصوری
دکتر علیرضا نادری سهی
دکتر صادق امانی
دکتر محمد ستاری
دکتر یاسر کاظم زاده

ویراستار
زینب محمدی
محمدامین همتیان

طراحی و صفحه‌آرایی
امید توحیدلو
زهرا طاهرشمسی
حامد شهریارپور

Email: modaresbiophysic@gmail.com
@Tmubiophysics

کلیه علاقه‌مندان فعالیت به‌عنوان همکار در دوفصل نامه‌ی زیست نوین، صاحب‌نظران، محققین و اساتید محترم می‌توانند با ارسال مطالب و پیشنهادهای خود به آدرس ایمیل این نشریه و یا با تماس با انجمن علمی دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت‌مدرس نسبت به طرح مطالب خود درهیات تحریریه نشریه زیست نوین اقدام نمایند.

آدرس: تهران، بزرگراه جلال آل احمد، دانشگاه تربیت‌مدرس، دانشکده علوم زیستی ۱۵۴-۱۴۱۱۵

این نشریه دارای مجوز شماره ۴۳۸۴۱/ د ۱۹۳ در تاریخ ۲۵ / ۹ /۱۳۹۷ از معاونت فرهنگی و اجتماعی دانشگاه تربیت مدرس است.

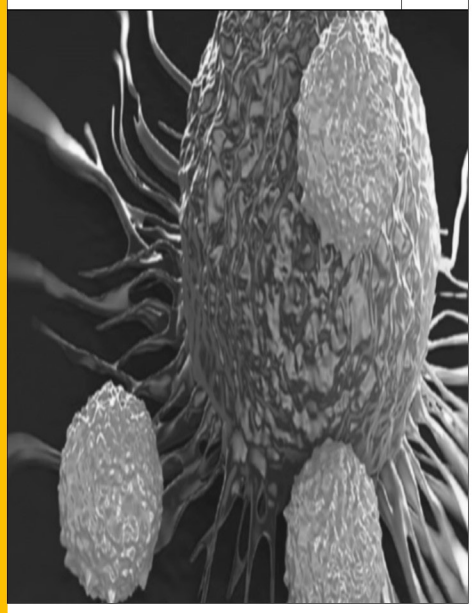
فهرست

۱ عمومی

سخن سردبیر ۵

مطالعه‌ی آماری وضعیت اشتغال دانش‌آموختگان علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس ۶

۲ مقالات



آشنایی با دنیای فتوپروتئین‌ها و کاربرد آن‌ها ۱۰

ساخت رگ با استفاده از تکنیک مهندسی بافت ۱۶

روش‌های ایمونوتراپی سرطان از گذشته تا به امروز ۲۱

تاثیر یک دوره کاهش بار تمرین به همراه مصرف مکمل کراتین بر پاسخ‌های هورمونی بازیکنان فوتبال ۲۶

پارامترهای ترمودینامیکی موثر در انعطاف‌پذیری مولکول‌های اسید نوکلئیک در محیط آب و آب-الکل ۳۴

ساختار سه بعدی ژنوم ۴۲

۳ گزارشات

سلول‌های بنیادی جنینی ۵۱

سرازوم ۵۴

بررسی تاثیر مصرف قارچ گانودرما برروی تقویت سیستم ایمنی در مقابله با بیماری سرطان ۵۶

نانو ذرات پلیمری ۵۸

٤ مصاحبه و افتخارات

گفت‌وگوی اختصاصی با دکتر خواجه ریاست محترم دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس ۶۱

افتخارات انجمن علمی دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت مدرس ۶۴

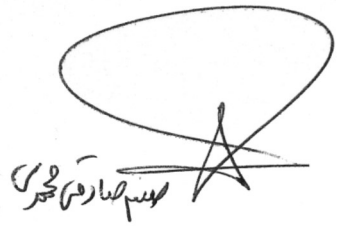
سخن سردبیر

زَکاةُ العِلمِ بَذلُهُ لِمُستَحِقِّهِ وَإجهادُ النَّفسِ فِی العَمَلِ بِهِ.

زکات دانش، آموزش به کسانی که شایسته آنند و کوشش در عمل به آن است.

(غرر الحکم و درر الکلم، ص۳۹۱)

به‌عنوان سردبیر جدید نشریه دانشجویی "زیست نوین" و به بهانه انتشار مجدد این نشریه فرصتی در اختیار دارم تا با خوانندگان گران‌مایه به گفتگو بپردازم. پرداختن زکات علم از توصیه‌های اکید بزرگان و گواه بر کرامت اهل دانش است، اما امروزه توجه به انگیزه و اهداف نوشتن اهمیت بیشتری دارد. این‌که چه کسی می‌نویسد مهم نیست، اما این‌که چرا می‌نویسد، درخور تأمل است. انگیزه‌ی نوشتن کمتر از محتوای نوشته نیست و بین این دو رابطه‌ای مستقیم برقرار است. اگر انگیزه نوشتن، تولید دانش باشد، بی‌شک نویسنده از قلم بی‌محتوا پرهیز می‌کند. امروزه، دانش این مرز و بوم گرفتار آفت بی‌انگیزگی و طویل کردن سیاهه‌ی سابقه‌ی علمی شده است. همچنین کثرت دانشجویان تحصیلات تکمیلی موجب شده است تا دانشجویان ازنظر علائق علمی دچار پراکنده‌کاری شوند و تعداد کمی از دانشجویان علائق خود را شناسایی کنند. یکی از مصادیق بارز چاپ نشریات دانشجویی، پرداختن به متون علمی قابل‌استفاده، ارائه ایده‌های پژوهشی نوین و توجه به خلأ موضوع پژوهشی برای دانشجویان است. در همین راستا نشریه دانشجویی زیست نوین با انتشار مطالب روز دنیا و معرفی دستاوردهای علمی جهانی و کشوری سعی بر پر کردن این خلأ دارد. لازم به یادآوری است تداوم انتشار نشریه بدون مشارکت شما امکان‌پذیر نخواهد بود. استقبال شما با ارسال مقالات ارزشمند و پرمایه باعث شکوفائی این نشریه در جمع اندیشمندان حوزه زیست‌شناسی خواهد گردید. انتظار داریم تا با مقالات ارسالی که حاصل فعالیت‌های پژوهشی شماست بر ارزش علمی مجله افزوده شود. لذا پذیرای نظرها و پیشنهادهای شما همراهان صمیمی هستیم. امیدواریم با ارتباط بیشتر و تعامل دوسویه، روزبه‌روز بر غنای این نشریه افزوده شود و به اهداف خود نزدیک‌تر شویم. لازم به ذکر است که همانند چاپ نخست نشریه، چارچوب تدوین مقالات به عهده نویسندگان بوده است. در پایان از همکاران بزرگوار که در انتشار مجدد نشریه تلاش نمودند قدردانی می‌نمایم.



مطالعه‌ی آماری وضعیت اشتغال دانش‌آموختگان علوم زیستی دانشگاه تربیت‌مدرس

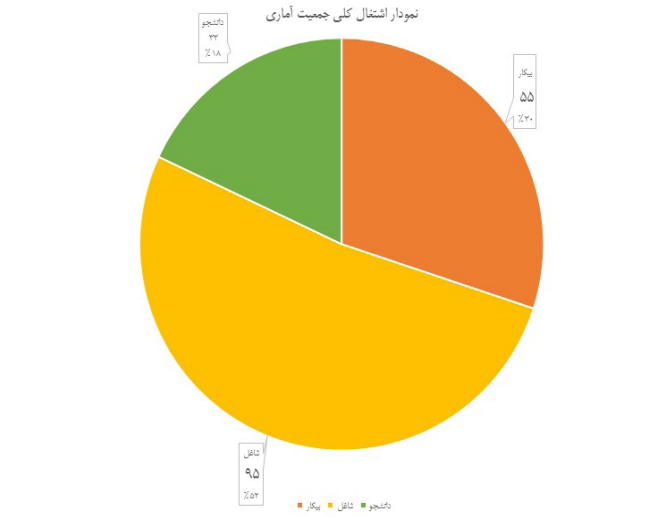
راشین محمدی

دانشجوی دکتری نانوبیوتکنولوژی

دانشگاه تربیت مدرس

زمستان سال گذشته و با همکاری انجمن علمی‌دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت‌مدرس رویدادی تحت عنوان گردهمایی دانش‌آموختگان دانشکده علوم‌زیستی برگزار گردید و جمعی بزرگ از دانش‌اموختگان این دانشکده را از اقصی‌نقاط کشور دور هم جمع کرد. در این مراسم اساتید گروه‌های مختلف دانشکده و ریاست دانشگاه ضمن ایراد سخنرانی، صحبت صمیمانه و مرور خاطرات با فارغ‌التحصیلان به شنیدن مشکلات و دغدغه‌های آنها در فضای پس از فراغت از تحصیل نیز پرداختند. در حاشیه‌ی این مراسم تیمی از اعضای این انجمن اقدام به جمع‌آوری آمار تحصیلی و شغلی افراد شرکت کننده در مراسم کردند، آماری که مقاله‌ی حاضر به تشریح آن خواهد پرداخت.

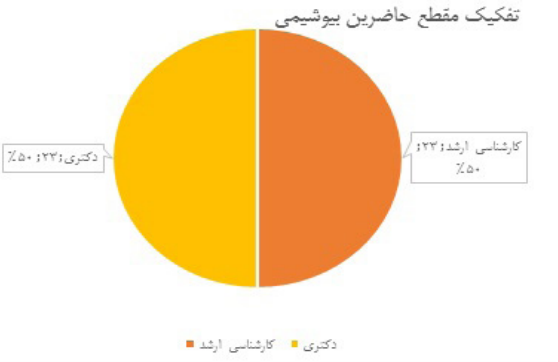
به طور کلی آمار حاصله را میتوان در پاراگراف زیر خلاصه کرد. درمجموع ۱۸۶ فارغ التحصیل از سالهای۱۳۸۰ تا ۱۳۹۷ در مقاطع ارشد و دکتری در رشته‌های بیوفیزیک، بیوشیمی، نانوبیوتکنولوژی و زیست‌شناسی گیاهی در این مراسم شرکت کرده و بصورت داوطلبانه فرم ارائه شده را تکمیل کرده‌اند. در مقاطع ارشد و دکتری در رشته‌های بیوفیزیک، بیوشیمی، نانوبیوتکنولوژی و زیست‌شناسی گیاهی در این مراسم شرکت کرده و بصورت داوطلبانه فرم ارائه شده را تکمیل کرده‌اند. در میان کل فارغ‌التحصیلان حاضر ۴۵٪ در مقطع ارشد و ۵۵٪ در مقطع دکتری می‌باشد. این در حالی است که ۵۲٪ از مجموع کل آن‌ها دارای شغل، ۱۸٪ دانشجو در مقاطع بالاتر و ۳۰٪ از آن‌ها بیکار می‌باشند. از میان کل شاغلان ۷۰٪ تمام وقت، ۱۱٪ نیمه وقت و ۱۵٪ پاره وقت می‌باشند. همچنین ۷۷٪ از آن‌ها عضو هیئت‌علمی، ۱۱٪ مشغول در مشاغل خصوصی و ۱۲٪ مشغول مشاغل غیر مرتبط می‌باشند. در مجموع از کل فارغ‌التحصیلان تعداد ۱۱۱ نفر آن‌ها مربوط به ورودی بعد از سال ۱۳۹۰ می‌باشند از این میان ۴۳ نفر بیکار، ۳۳ نفر دانشجو، ۲۹ نفر شاغل و ۶ نفر هیئت علمی هستند. این در حالی است که از مجموع ۳۰ نفر فارغ التحصیل بعد از سال ۱۳۹۴ به ترتیب تعداد ۱۳، ۹، ۸ و ۰ نفر بیکار، شاغل، دانشجو و هیئت علمی می‌باشند. از مجموع شاغلینی که ورودی بعد از

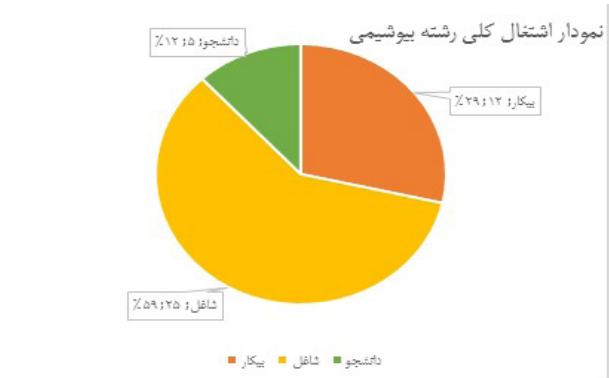


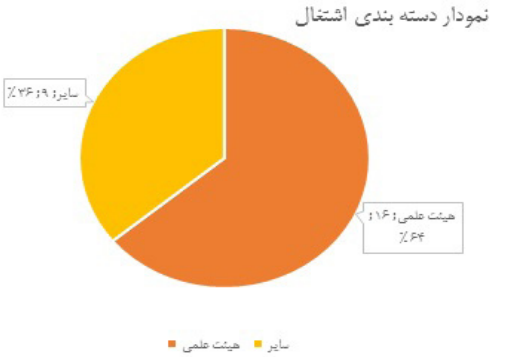
سال ۱۳۹۰ بوده‌اند تنها ٦٪ آنها هیئت علمی شده‌اند از این میان ٤ نفر از آن‌ها فارغ‌التحصیل رشته نانوبیوتکنولوژی، ۱ نفر در رشته بیوشیمی و ۱ نفر در رشته ژنتیک و ۲۹٪ از فارغ التحصیلان بعد از سال ۹۰ دارای شغل آزاد می‌باشند.

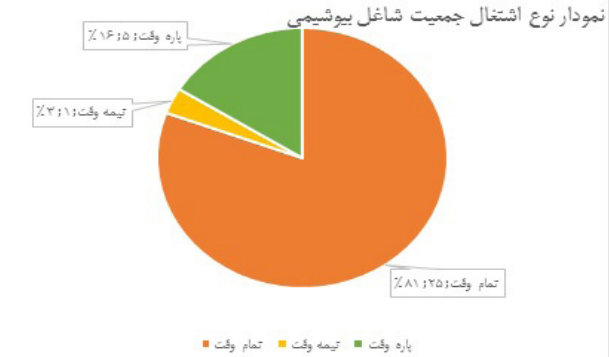
بررسی آماری وضعیت فارغ التحصیلان به تفکیک رشته:

رشته بیوشیمی: این رشته از سال ۱۳۷۰ در حال پذیرش دانشجو دکتری است. تعداد کل فارغ‌التحصیلان این رشته





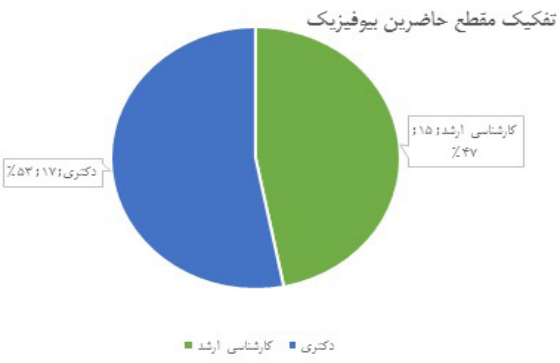


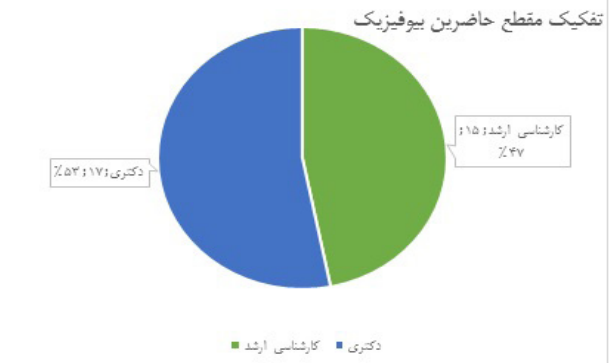


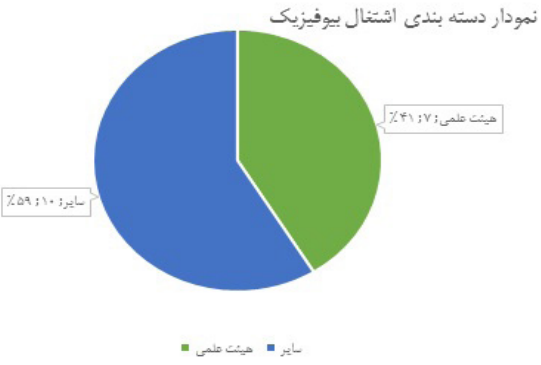
حاضر در کار آماری ٤٦ نفر می‌باشند.که ۵۰٪ در مقطع ارشد و ۵۰ ٪ فارغ التحصیل مقطع دکتری بوده‌اند. از میان فارغ التحصیلان شاغل این رشته ۸۱٪ دارای شغل تمام وقت، ۱٦٪ پاره وقت و ۳٪ نیمه وقت می‌باشند. در این میان ۱٦٪ از افراد فارغ التحصیل عضو هیئت‌علمی دانشگاه‌های مختلف کشور شده‌اند.

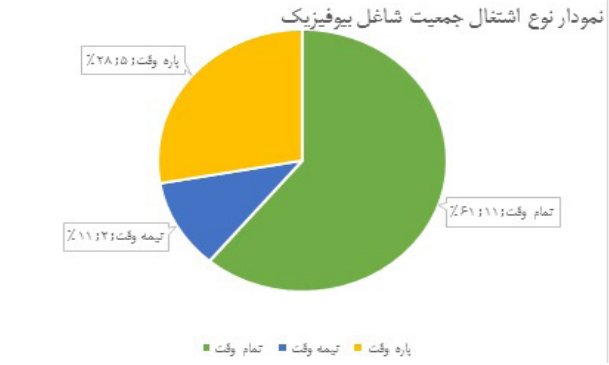
رشته بیوفیزیک: این رشته از سال ۱۳۷٤ در حال پذیرش دانشجوی ارشد و از سال ۱۳۷۹ درحال پذیرش دکتری می‌باشد. تعداد کل فارغ التحصیلان حاضر برای این رشته ۳۳ نفر می‌باشد که ۱۷ نفر از آن‌ها فارغ التحصیل دکتری بوده‌اند.

از میان این فارغ التحصیلان ۵۲٪ از آن‌ها شاغل، ۱۵٪ دانشجو و ۳۳٪ بیکار می‌باشند. از میان فارغ‌التحصیلان شاغل به ترتیب ٦۱، ۱۱ و ۲۸٪ تمام وقت، پاره وقت و نیمه وقت می‌باشند. از این تعداد، ۷ نفر که ٤۱٪ از افراد را تشکیل می‌دهند، هیئت علمی دانشگاه‌های مختلف کشور شده‌اند.

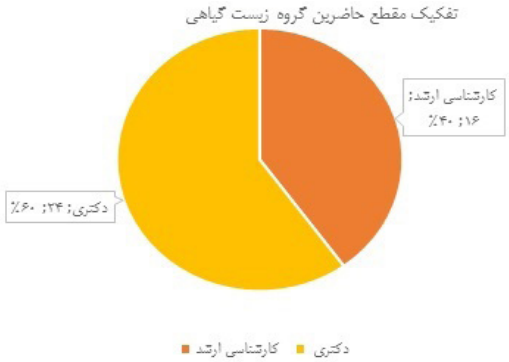


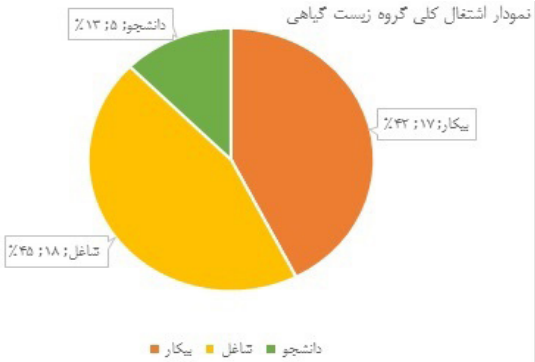


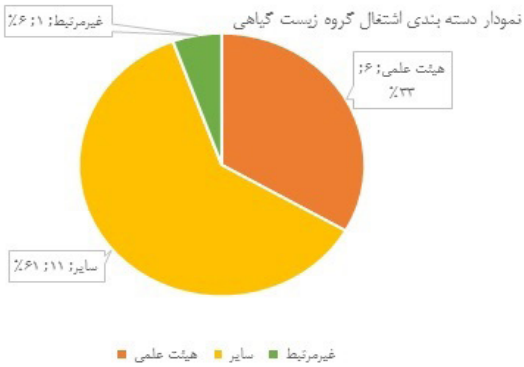


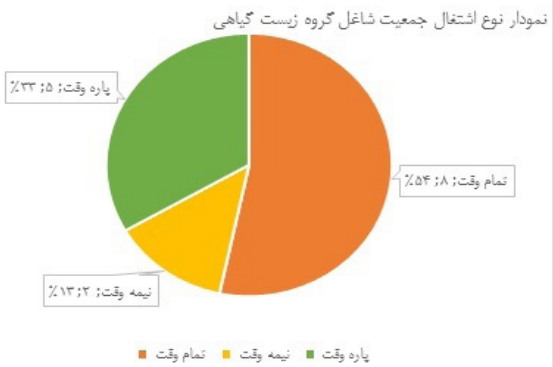


زیست گیاهی: این رشته از رشته‌های قدیمی‌تر دانشکده بوده و درحال حاضر در حال پذیرش دانشجو در هر دو مقطع ارشد و دکتری می‌باشد. تعداد کل فارغ التحصیلان حاضر این رشته ۴۰ نفر می‌باشد. ۶۰ ٪ از این تعداد فارغ‌التحصیل دکتری و ۴۰٪ فارغ‌التحصیل ارشد هستند. این رشته دارای بیش‌ترین نرخ بیکاری که برابر ۳۱٪ از فارغ‌التحصیلان است، می‌باشد. از مجموع ۵۳٪ از کل فارغ‌التحصیلان که شاغل هستند، ۷۰٪ تمام وقت، ۲۰ ٪ پاره وقت و ۱۰ ٪ از آن‌ها را شغل نیمه وقت تشکیل می‌دهد. از این میان ۳۳٪ از افراد هیئت علمی و ۶٪ از افراد دارای شغل غیر مرتبط هستند.

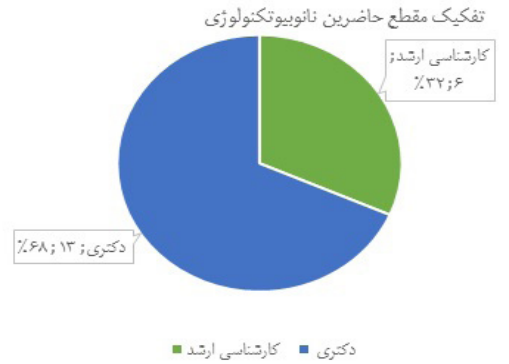


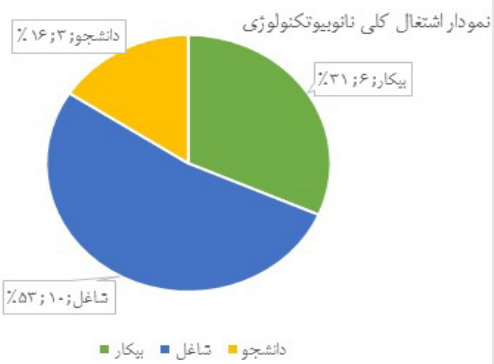


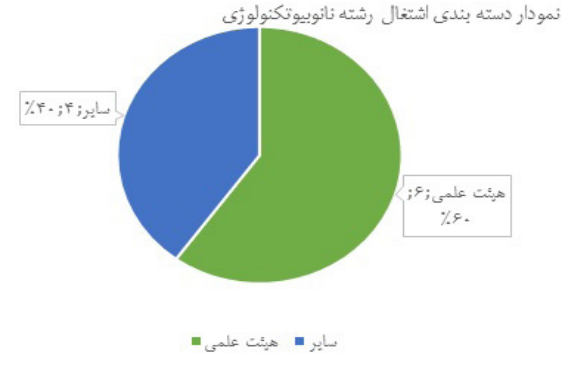


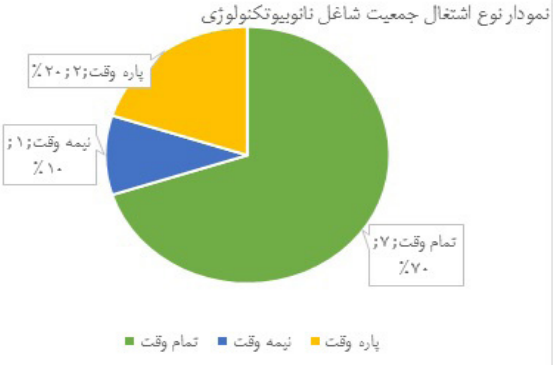


نانوبیوتکنولوژی: این رشته جدیدترین رشته در دانشکده علوم زیستی تربیت مدرس است. دکتری این رشته از سال ۱۳۸۶ وارد دانشگاه تربیت مدرس شد. در حالی که دوره ارشد این رشته ۹ سال بعد یعنی در سال ۱۳۹۵ شروع به پذیرش دانشجو کرد. در بین شرکت‌کنندگان در نظرسنجی رشته نانوبیوتکنولوژی دارای ۱۹ عضو است. از این میان ۳۲٪ فارغ التحصیل ارشد و ۶۸٪ درصد فارغ‌التحصیل دکتری هستند. ۵۳٪ از این افراد شاغل، ۳۱٪ بیکار و ۱۶٪ دانشجو در مقاطع بالاتر می‌باشند. از میان افراد شاغل، ۷۰٪ تمام وقت، ۲۰٪ پاره وقت و ۱۰٪ نیمه وقت هستند که ۶۰٪ از این تعداد هیئت علمی در دانشگاه‌های کشور شده‌اند. با این حال تعداد ۳۱٪ از فارغ‌التحصیلان بیکار هستند، این تعداد با توجه به جدید بودن رشته بسیار قابل توجه است.

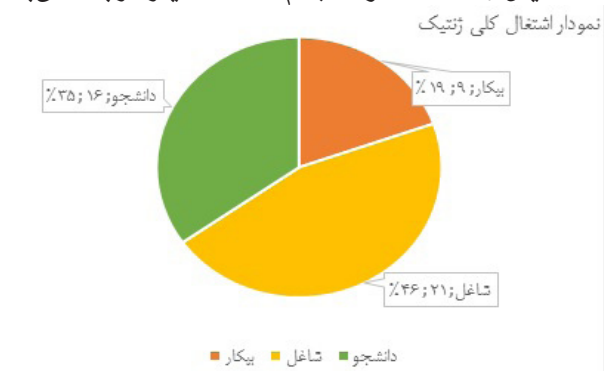


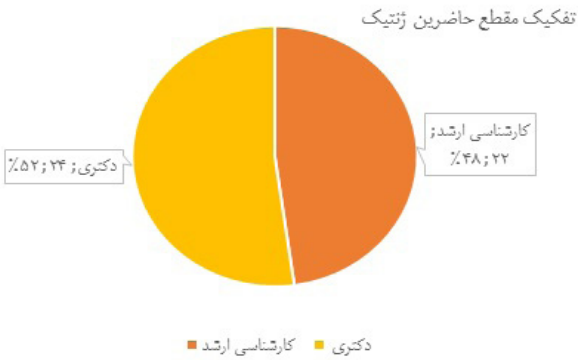


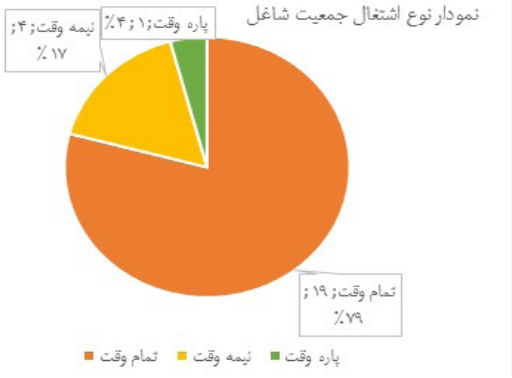


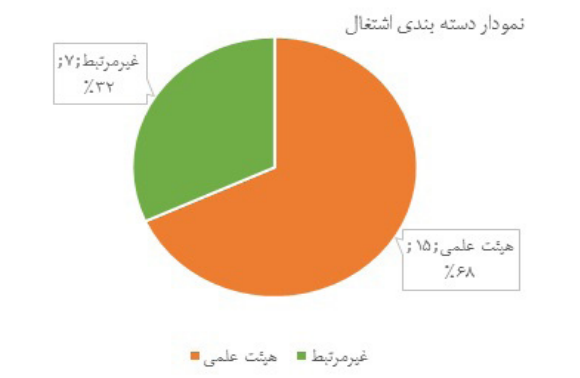


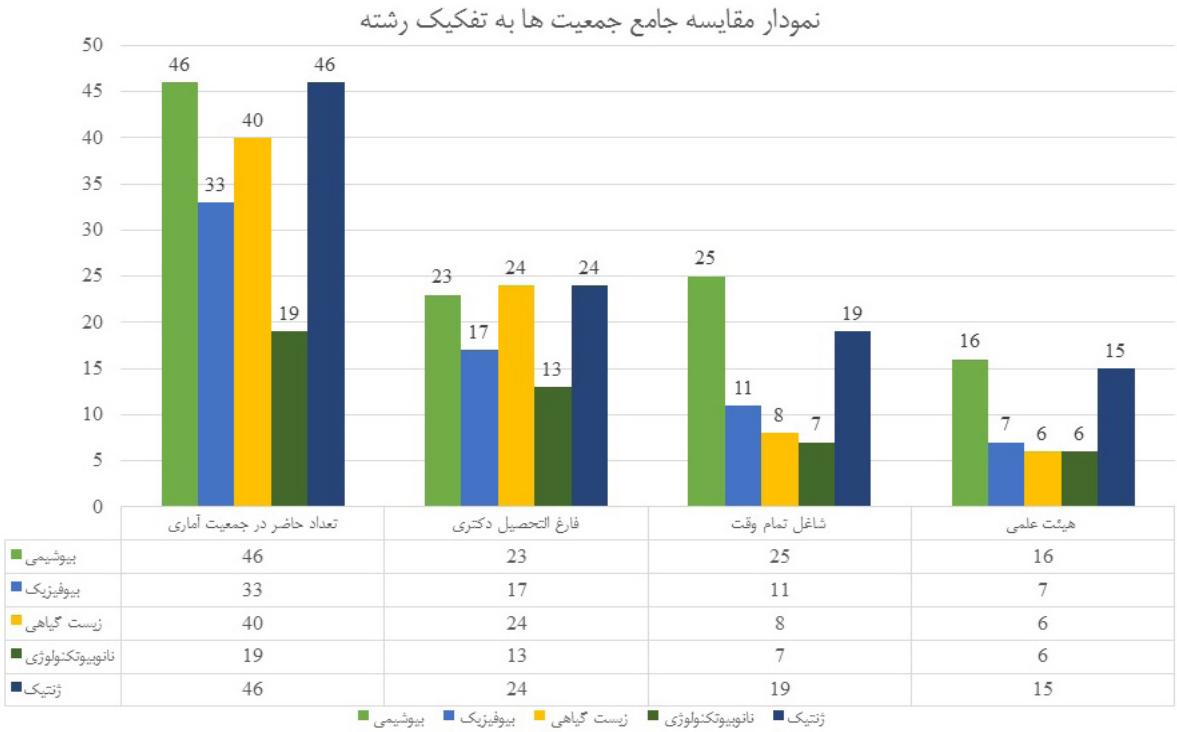
ژنتیک: رشته ژنتیک از سالهای اول تاییس دانشکده علوم زیستی در حال پذیرش دانشجو می‌باشد. از میان ٤٦ نفر فارغ‌التحصیل حاضر این رشته در داده‌کاوی آماری، ٢٤ نفر فارغ‌التحصیل دوره دکتری و ٢٢ نفر ارشد هستند. ٤٦٪ از این تعداد را افراد شاغل ٣٥٪ دانشجو و ١٩٪ بیکار تشکیل می‌دهند. این رشته دارای کم‌ترین نرخ بیکاری در بین چهار رشته فوق‌الذکر می‌باشند. ٧٢٪ از شاغلان دارای شغل تمام وقت، ١٧٪ نیمه وقت و ٤٪ پاره وقت هستند، که تعداد ١٥ نفر توسط دانشگاه‌های مختلف به عنوان هیئت علمی پذیرش شده‌اند. با این حال ٣٢٪ از افراد این رشته مشغول انجام مشاغل غیر مرتبط می‌باشد.











جداول و آمار: رضا مهدویان

آشنایی با دنیای فتوپروتئین‌ها و کاربرد آن‌ها

ربابه نعمتی

کارشناسی ارشد بیوشیمی

دانشگاه تربیت مدرس

چکیده

بیولومینسانس یا تولید نور توسط موجودات زنده یکی از پدیده‌های شگفت‌انگیزی است که از زمان‌های بسیار دور تا به امروز ذهن انسان‌ها را به خود مشغول کرده است. امروزه مشخص‌شده است که سیستم‌های بیولومینسانسی گوناگونی وجود دارد که در آن‌ها تولید نور با دخالت آنزیم لوسیفراز و یا فتوپروتئین ها اتفاق می‌افتد. این پدیده تاکنون در بیش از ۷۰۰ سرده از جانداران که حدود ۸۰ درصد آن‌ها دریازی هستند مورد شناسایی قرارگرفته است. در سال‌های گذشته فتوپروتئین‌های وابسته به کلسیم اهمیت زیادی در زمینه‌های مختلف نظیر سنجش کلسیم درون‌سلولی، تحلیل بیان ژن، کشف دارو و ... یافته‌اند. در این مطالعه کاربردهای مختلف فتوپروتئین‌های وابسته به کلسیم بررسی می‌شود.

۱- مقدمه

فتوپروتئین‌ها اولین بار توسط شیمومورا [۱] و همکارانش از یک چتر دریایی به نام Aequorea victoria[۲] جداسازی و تعیین خصوصیت شدند. فتوپروتئین حاصله آکوئورین نام گرفت که در محلول‌های آبی با افزودن مقدار کمی از یون‌های کلسیم قادر به نشر نور بود [۱]. تا قبل از این کشف، تمامی واکنش‌های بیولومینسانسی توسط سیستم لوسیفرین[۳] - لوسیفراز[۴] راه‌اندازی می‌شد. اما آکوئورین نمی‌توانست در سیستم بیولومینسانسی لوسیفرین - لوسیفراز قرار بگیرد زیرا برخلاف سیستم لوسیفرین - لوسیفراز میزان نور منتشره توسط آن، با غلظت خود آکوئورین متناسب بود نه با مقدار سوبسترا (لوسیفرین). در ابتدا تصور می‌شد آکوئورین پروتئینی منحصربه‌فرد و بی‌مانند است اما در سال ۱۹۶۶ شیمومورا و جانسون از نوعی کرم حلقوی[۵] پروتئین غیرعادی دیگری کشف کردند، که همچون آکوئورین میزان نور منتشره توسط آن با مقدار خود پروتئین متناسب بود اما برخلاف آکوئورین برای فعال‌سازی به یون کلسیم نیاز نداشت و زمانی که مقدار کمی Fe^{2+} و یک پراکسید در حضور اکسیژن به آن اضافه می‌شد نور تولید می‌کرد. با توجه به اینکه تولید نور توسط این دو پروتئین با هیچ‌کدام از مکانیسم‌های تولید نوری که تا آن زمان شناسایی شده بودند قابل توضیح نبود اصطلاح جدید «فتوپروتئین» برای آن‌ها در نظر گرفته شد [۲]. به طور کلی فتوپروتئین یک اصطلاح عمومی برای پروتئین‌هایی با توان بیولومینسانسی است که در اندام‌های نوری ارگانیسم‌های لومینسانس وجود دارد [۱].

۲- انواع فتوپروتئین‌ها

دسته‌ی اول فتوپروتئین‌های فعال‌شونده توسط یون کلسیم که شامل Berovin، Clytin، Halistaurin، Obelin، Aequorin، Mnemiopsin، Thalassicolin، Bolinopsin و BfosPP است [۲]. دسته دوم شامل فتوپروتئین‌هایی می‌شود که برای فعال شدن به یک پراکسید نیاز دارند، از این گروه می‌توان به Polynoidin اشاره کرد. دسته سوم که توسط ATP و Mg^{2+} فعال می‌گردند، فتوپروتئین Luminodesmus که از نوعی هزارپا[۶] استخراج شده است در این گروه جای می‌گیرد. از میان فتوپروتئین-ها، انواع حساس به یون کلسیم و حساس به سوپراکسید براي کاربردهاي آنالیتیك مورد استفاده قرار گرفته‌اند. انواع فتوپروتئین-های حساس به کلسیم: انواع متعددی از این پروتئین‌ها از هیدروئیدها و ژله ماهیان جداسازی شده‌اند. به عنوان مثال آکوئورین و ابلین که به ترتیب از Victoria Aequorea و Obelia geniculate جداسازی شده‌اند.

۲-۲- فتوپروتئین‌های کتنوفور (شانه‌داران)

فتوپروتئین‌های نمیوپسین[۷]، بروین[۸] وBfosPP به ترتیب از گونه‌های Mnemiopsis leidyi، Beroe abyssicola و Bathocyroe fosteri از شانه‌داران جداسازی شده‌اند.این دسته از فتوپروتئین‌ها همانند کلنترات‌ها وابسته به کلسیم هستند ولی بر خلاف آن‌ها حساس به نور بوده و به آسانی توسط طیف وسیعی از طول موج‌ها در محدوده ماوراء بنفش و مرئی (۵۷۰-۲۳۰ نانومتر) غیرفعال می‌شوند [۳].

۲-۳- فتوپروتئین‌های شعاعیان[۹]

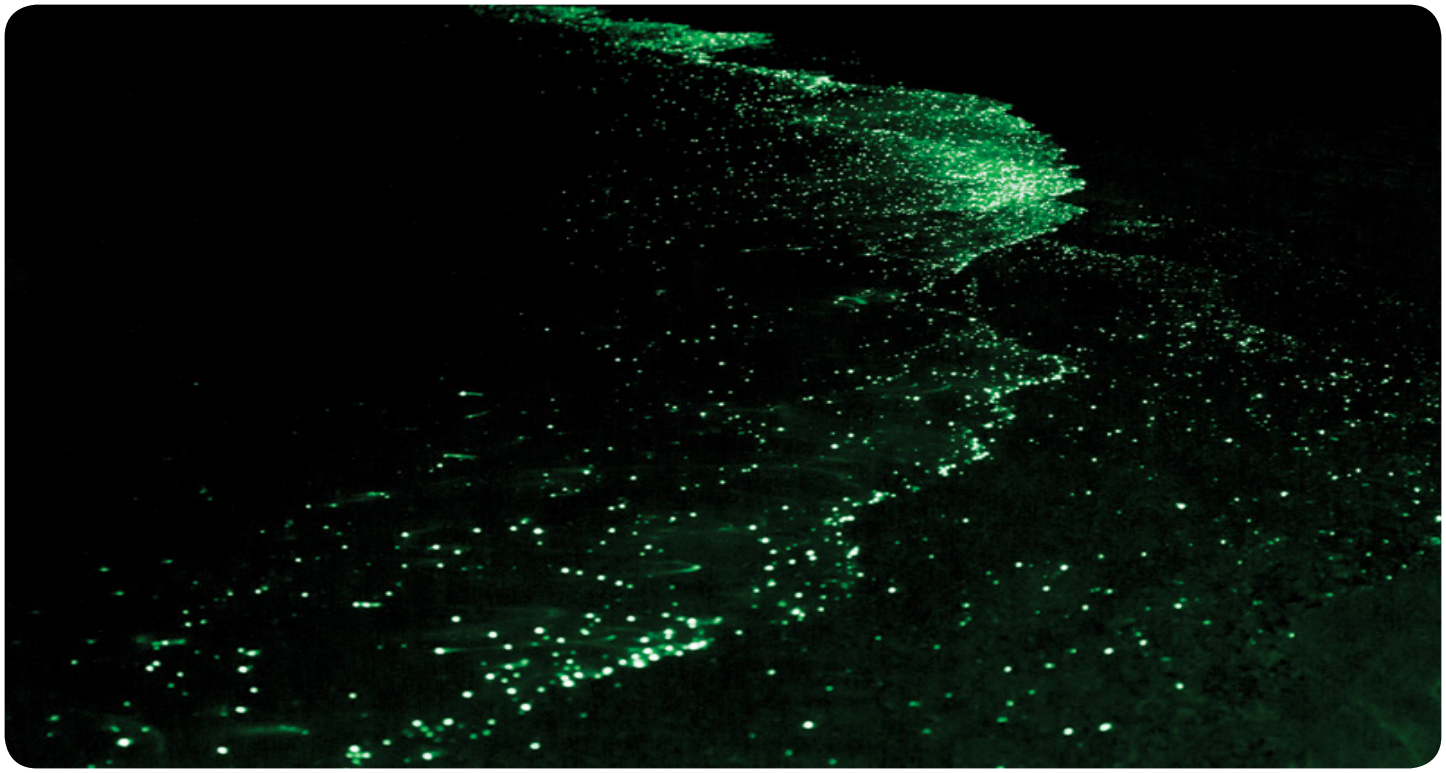
این پروتئین‌ها از انواع گونه‌های تالاسیکالا[۱۰] جداسازی شده‌اند و از این نظر مورد توجه قرار گرفته‌اند که غیر از فتوپروتئین‌های کلنترات و کتنوفور تنها مثال شناخته‌شده از فتوپروتئین‌های حساس به کلسیم هستند.

۳- ساختار و مکانیسم نشر نور در فتوپروتئین های وابسته به کلسیم

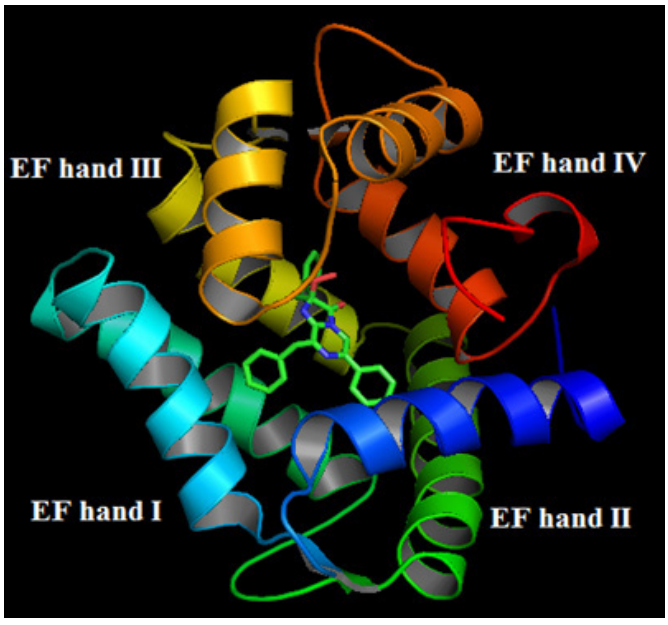
فتوپروتئین‌ها از سه بخش تشکیل شده اند: بخش پروتئینی موسوم به آپوپروتئین[۱۱] با وزن مولکولی تقریبی ۲۲ تا ۲۷ کیلودالتون، اکسیژن مولکولی و یک بخش پروستتیک به نام

شکل ۱. تصویری از mnemiopsis leidyi و aequorea victoria به ترتیب از خانواده کتنوفورها و کلنترات‌ها

1- Shimomura
2- Aequorin
3- luceferin
4- luciferase
5- Chaetopterus
6- Luminodesmus sequoia
7- mnemiopsin
8- berovin
9- Radiolarian
10- Thalassicola
11- apophotoprotein
12- coelenterazine



کلنترازین[12] (با وزن مولکولی ٤٢٣ دالتون) که به صورت غیرکوالانسي اما محکم به بخش پروتئینی متصل شده است و نقشی معادل لوسیفرین در سیستم مبتنی بر لوسیفراز دارد. . فولد زنجیره ی مولکولی آن ها به گونه ای است که یک حفره ی آبگریز را جهت قرارگیری ۲ - هیدروپراکسی کلنترازین به صورت محکم و غیرکووالان فراهم می کند. با اتصال Ca^{2+} به موتیف EF-hand، با دکربوکسیلاسیون‌اکسیداتیو ۲-هیدروپراکسي‌کلنترازین، کولنترامید (محصول واکنش) در وضعیت برانگیخته‌اش ایجاد می‌شود و کولنترامید برانگیخته با نشر طیفی گسترده در محدوده‌ی نور آبي با بیشینه‌ی ٤٦٥ تا ٤٩٥ نانومتر به وضعیت پایه‌اش برمی‌گردد.



شکل ۲ ساختار فتوپروتئین ها؛ آپوپروتئین که کلنترازین به صورت غیرکوالانسي اما محکم به بخش پروتئینی متصل شده است.

٤- بررسی تغییرات یون کلسیم

یون کلسیم در مسیرهای تبدیل پیام، انقباض ماهیچه، رهاسازی انتقال‌دهنده‌ی عصبی در محل سیناپس‌ها، فرایند لقاح، آپوپتوز[1] ، متابولیسم سلولی و انعقاد خون نقش داشته و برای برخی از آنزیم‌ها به عنوان کوآنزیم عمل می کند.با توجه به اهمیت این یون، رصد[2] و دنبال کردن تغییرات غلظت و جریان آن در سلول می تواند درک درستی از فیزیولوژی و عملکرد سلول در پاسخ به عوامل مختلف را ارائه دهد. کشف آکوئورین و پی بردن به توانایی ذاتی این فتوپروتئین برای اتصال به یون کلسیم، موجب توسعه ی سیستم‌های اندازه‌گیری این یون شده است. می توان گفت اندازه‌گیری و رصد یون کلسیم یکی از اولین کاربردهای آکوئورین بوده است. با آکوئورین طبیعی می توان غلظت ۱۰۰ نانومولار تا ۱۰ میکرومولار از یون کلسیم را موردمطالعه قرارداد. با این وجود غلظت یون کلسیم در شبکه آندوپلاسمی، میتوکندری، پراکسی زوم ها و جسم گلژی بسیار زیاد و در حد میلی مولار است، بنابراین برای بررسی تغییرات یون کلسیم در این اندامک ها می توان از فتوپروتئینی با حساسیت کم نسبت به یون کلسیم، به‌عنوان مثال clytin استفاده کرد. استفاده از کلنترازین‌های سنتزی، تمایل آکوئورین به یون کلسیم را به شدت و تا حد میلی مولار تحت تاثیرقرار می دهد بررسی ها نشان داده است در آکوئورین تمایل موتیف EF-hand III برای اتصال به یون کلسیم، بیشتر از دو موتیف دیگر است. یون کلسیم به لوب موجود در این موتیف که بنیان‌های ۱۱۷ تا ۱۲۸ در تشکیل آن نقش دارند متصل می‌گردد. جهش در این بنیان‌ها نیز بر

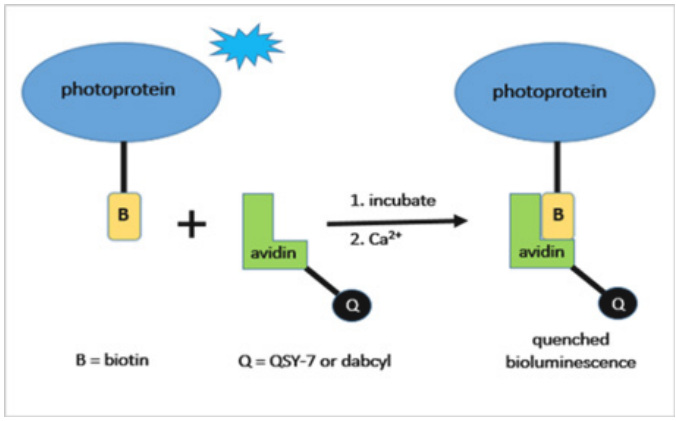
1- Apoptoz
2- Monitoring
3- targeting sequence

تغییر حساسیت آکوئورین به یون کلسیم تأثیر بسیار جدی دارد. لازم به ذکر است که محققان برای قرارگیری آکوئورین در بخش های خاصی از سلول، با روش های مهندسی ژنتیک توالی های هدف‌یاب[۳] اختصاصی را به آکوئورین متصل کرده و آکوئورین های کایمری طراحی کرده‌اند که به محل های خاصی در سلول هدایت می شوند. با استفاده از این آکوئورین-های مهندسی‌شده، بررسی تغییرات یون کلسیم، به‌طور اختصاصی تر و در نواحی دلخواه سلول امکان‌پذیر شده است[٤].

۵- استفاده از فتوپروتئین‌ها در سیستم BRET

۵-۱- سنجش و اندازه‌گیری بیوتین

در این سنجش با استفاده از روش‌های شیمیایی، بیوتین را به فتوپروتئینی مانند آکوئورین متصل کردند. از طرف دیگر،



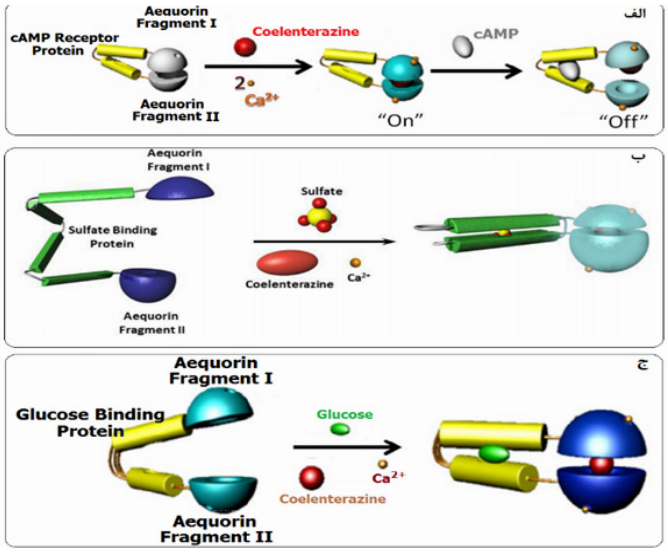
شکل ۳. استفاده از پدیده BRET برای اندازه‌گیری بیوتین موجود در نمونه.

رنگ‌های فلوئورسنتی QSY-۷ و یا dabcyl که قدرت خاموش کردن نشر بیولومینسانس آکوئورین را دارند نیز به اویدین متصل نمودند (شکل۳). بیوتین آزاد موجود در نمونه‌ی موردمطالعه، برای اتصال به آویدین با بیوتین متصل به فتوپروتئین رقابت می‌کند. درصورتی‌که میزان بیوتین آزاد در نمونه افزایش یابد از خاموشی نشر بیولومینسانسی فتوپروتئین کاسته می‌شود [٥].

در روشی دیگر با استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک، فتوپروتئین را به استرپتوآویدین و GFP را نیز به پروتئین حمل‌کننده بیوتین (BCCP) که زیر واحدی از آنزیم استیل کوآنزیم A کربوکسیلاز است، متصل کردند. بااتصال SAV-AEQ به BCCP-GFP، پدیده‌ی انتقال انرژی صورت می‌گیرد و از شدت نشر نوری در ٤٧٠ نانومتر که مربوط به فتوپروتئین آکوئورین است کاسته شده و به‌شدت نشر نور در ٥١٠ نانومتر افزوده می‌شود. وجود بیوتین در محیط، مانع انتقال انرژی از فتوپروتئین به GFP می‌شود زیرا برای اتصال به SAV-AEQ با BCCP-GFP رقابت می‌کند؛ بنابراین می‌توان میزان بیوتین موجود در محیط را سنجش کرد [٦].

۵-۲- سنجش پروتئازها

در این سنجش، فتوپروتئین توسط یک لینکر آمینواسیدی به GFP متصل شد. این لینکر، توالی تشخیصی پروتئازهایی همچون کاسپاز ۳ و آلفا-ترومبین است. در صورت وجود پروتئاز در محیط، GFP از فتوپروتئین جداشده و نشر نور آبی فتوپروتئین مشاهده می‌شود اما در صورت عدم وجود پروتئاز، پدیده‌ی BRET اتفاق می‌افتد و نشر نور سبز را خواهیم داشت[٧].



شکل ٤. ساخت سوئیچ‌های مولکولی با استفاده از آکوئورین برای سنجش میزان (الف) cAMP ، (ب) سولفات و (ج) گلوکز .

۵-۳- استفاده از فتوپروتئین‌ها در سوئیچ‌های مولکولی

یکی دیگر از کاربردهای جالب فتوپروتئین‌ها، طراحی و ساخت سازه‌هایی به نام سوئیچ‌های مولکولی است. از این سوئیچ‌های مولکولی که به‌صورت یک نانوسنسور عمل می‌کنند برای اندازه‌گیری آنالیت‌هایی همچون گلوکز، سولفات وcAMP، استفاده شده است. در این سوئیچ‌های مولکولی دو بخش ساختاری آکوئورین به دو انتهای N و C ترمینال پروتئینی که توانایی اتصال به یک آنالیت خاص را دارد متصل می‌شود. درصورتی‌که آنالیت موردنظر در محیط وجود داشته باشد، با اتصال آنالیت به جایگاه اتصالی خود، دو بخش آکوئورین به هم نزدیک یا دور می‌شوند. درنتیجه، این نزدیکی و دوری سبب ایجاد آکوئورین فعال یا ممانعت از ایجاد آن می‌شود.

۵-٤- تولید بیوسنسورهای مبتنی بر سلول [1]

بیوسنسورها یا حسگرهای زیستی برای تشخیص سریع عوامل گوناگونی همچون میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، داروها، سموم، موادمخدر و آلودگی‌های محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در بیوسنسورهای مبتنی بر سلول یا بیوسنسورهای سلولی از سلول-های زنده به‌عنوان گیرنده‌ی زیستی برای تشخیص آنالیت‌ها استفاده می‌شود. یکی از موارد مهم استفاده از فتوپروتئین‌ها، ساخت بیوسنسورهای سلولی است که در آن‌ها از فتوپروتئین به‌عنوان ژن گزارشگر استفاده می‌شود. فتوپروتئین‌هایی مانند آکوئورین برخلاف بسیاری از پروب‌های کمی لومینسانسی که برای عملکرد بالا نیازمند شرایط بازی و pH بالاتر از ۹ هستند در pH فیزیولوژیک به‌خوبی فعالیت دارند [٨]. یکی از این

1- Cell-based biosensors (CBBs)

بیوسنسورهای بسیار اختصاصی که امروزه به‌صورت تجاری درآمده CANARY است. در این تکنیک از لنفوسیت‌های B مهندسی‌شده به‌منظور آشکارسازی و تشخیص عوامل مختلف یا میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود. این لنفوسیت‌ها فتوپروتئین آکوئورین را در سیتوزول خود و آنتی‌بادی‌های اختصاصي برای یک آنتی‌ژن خاص را در سطح غشاء خود بیان می‌کنند. بااتصال آنتی‌ژن خاص به این آنتی‌بادی‌های اختصاصي، انتقال پیام در درون سلول راه‌اندازی می‌شود که درنتیجه‌ی آن میزان کلسیم درون سلولی افزایش پیدا می‌کند که افزایش کلسیم موجب تحریک آکوئورین و نشر نور می‌شود. نور منتشر شده با دستگاه لومینومتر قابل اندازه‌گیری است [۹].

همانطوریکه اشاره شد در سیستم‌های CANARY رایج از لنفوسیت‌های B مهندسی‌شده‌ایی استفاده می‌شود که علاوه بر ژن آکوئورین، همزمان ژن‌های زنجیره‌های سبک و سنگین آنتی‌بادی اختصاصی نیز به درون آن منتقل می‌گردد که مشکلاتی را به دنبال دارد.ازاین‌رو در آزمایشگاه تحقیقاتی دکتر ساجدی در دانشگاه تربیت مدرس، به‌جای لنفوسیت‌های B، از هیبریدومایی که تولیدکننده آنتی‌بادی اختصاصی علیه آنتی‌ژن O1 ویبریو کلرا بود استفاده شد و با استفاده از این هیبریدوما، دیگر نیاز به انتقال ژن‌های آنتی‌بادی به سلول نبوده و بنابراین از مشکلات ناشی از پایدار کردن چنین سازه ژنی بزرگی که دست‌کاری ژنتیکی فراوانی بر روی آن شده است کاسته شد. با این روش، ۵۰ کلونی از باکتری ویبریو کلرا در زمانی کمتر از ۲۰ ثانیه شناسایی شد [۱۰].

۵-۵- استفاده از فتوپروتئین‌ها در سنجش‌های ایمنی بیولومینسانسی

در سنجش آنالیت‌هایی مثل کورتیزول، پروستاسیکلین، آنژیوتانسین و وازوپرسین از فتوپروتئین‌ها استفاده می‌شود. در این روش آنالیت مورد نظر به صورت ژنتیکی یا شیمیایی به فتوپروتئین، سپس زوج فتوپروتئین آنالیت به آنتی‌بادی آنالیت متصل می‌شود. افزودن کلسیم باعث تابش نور از فتوپروتئین آنالیت می‌شود که نور بیولومینسانسی تابیده شده با غلظت آنالیت متناسب است [۱۱].

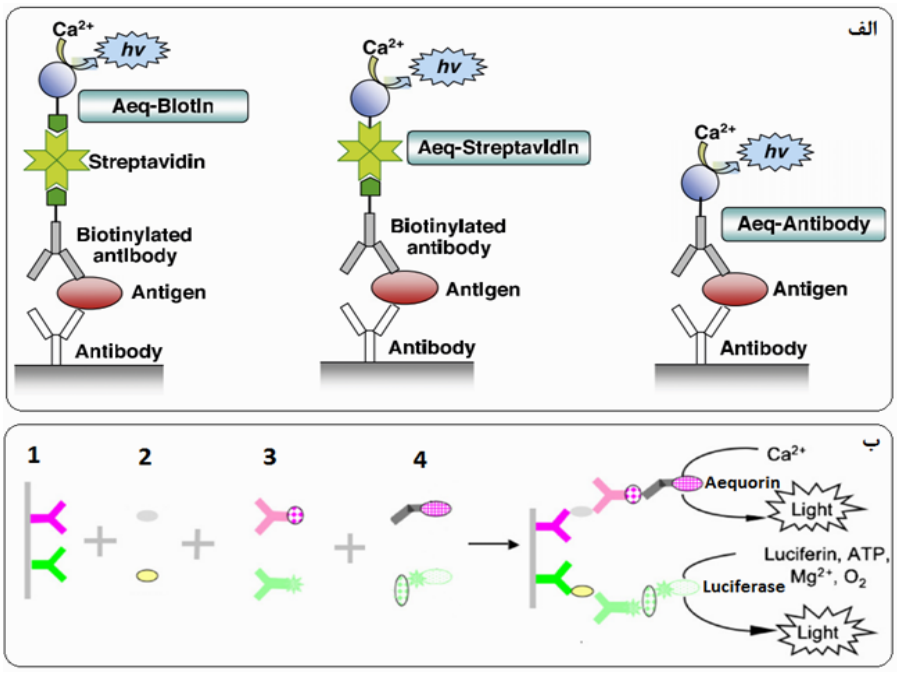
- اندازه گیری و ردیابی پروتئین ها: برای مثال مانیتورینگ سطوح آنژیوتنسین II برای درمان فشار خون، بیماری‌های قلبی و ...، آنتی ژن ویژه پروستات، اسید فسفاتاز پروستات و ...
- موقعیت‌یابی پروتئین‌ها در سلول‌ها و بافت‌های مختلف.
- اندازه‌گیری و ردیابی پاتوژن‌ها. برای مثال: ویروس هپاتیت، باکتری *E. coli*
-به‌عنوان ابزاری مستقیم و حساس برای پیگیری هیدرولیز پیوندهای آمیدی توسط پروتئازها [۱۲].

در سنجش‌های ایمنی تسهیم شده نیز استفاده از فتوپروتئین‌هایی با ویژگی‌های نشری متفاوت امکان کمی‌سازی و اندازه‌گیری دو یا بیش از دو آنالیت را به طور هم‌زمان در یک نمونه فراهم می‌سازد.

- اندازه‌گیری متابولیت‌های انرژی از قبیل: ATP، گلوکز، گلیکوژن، لاکتات در دیواره‌ی سرخرگ‌ها و ... [۱۳].

۶-۵- کشف دارو و مانیتورینگ اثرات درمانی دارو

اصطلاح AequoScreen اشاره به‌نوعی سنجش ایمنی تجاری سازی شده دارد که از آن برای غربالگری داروهای مؤثر برگیرنده-



شکل ۵. الف) سنجش ایمنی با روش ساندویچی و با استفاده از نشر بیولومینسانسی اکورین در سه شکل متفاوت. ب) سنجش همزمان دو مارکر سرطان پروستات، سطح با دو آنتی‌بادی (۱) مربوط به آنتی‌ژن‌های PAP وPSA (۲) فعال می‌شود. آنتی‌بادی‌های ثانویه (۳) با دیگوکسیژنین و بیوتین نشان‌دار می‌شوند. با به‌کارگیری قطعه‌ی Fb آنتی‌بادی ضد دیگوکسیژنین که با اکورین نشان‌دار شده است و آنزیم لوسیفراز متصل به بیوتین ـ استرپتاویدین (٤)، فرم ساندویچی سنجش ایمنی شکل می‌گیرد.

های جفت شده با پروتئین (GPCR) G استفاده شده‌است. لازم به ذکر است که بیشتر داروها این گیرنده‌ها را مورد هدف قرار می‌دهند. در AequoScreen، از فتوپروتئین آکوئورین استفاده می‌شود که در نتیجه‌ی افزایش یون کلسیم درون‌سلولی که در اثر اتصال یک ترکیب یا دارو به GPCRs اتفاق می‌افتد آکوئورین نور آبی منتشر می‌کند که با دستگاه قابل ثبت و ردیابی است [۱۴].

۵-۷- سنجش هیبریداسیون

اساس این روش، میانکنش قوی و اختصاصی بین دو رشته‌ی نوکلئیک اسید مکمل است .پروب های DNA و RNA مورداستفاده در این روش توسط رادیوایزوتوپ ها (P^{32}،S^{35} یا H^3) نشان‌دار می شوند و سپس با تکنیک های رادیوگرافی ردیابی می‌شوند که مشکلاتی در ارتباط با پایداری و ایمن بودن رادیوایزوتوپ ها وجود دارد.به همین دلیل در سال‌های اخیر استفاده از نشانگرهای غیررادیواکتیو بیشتر شده است که فتوپروتئین آکوئورین یکی از این نشانگرهاست زیرا برای فعالیت نیازی به منبع نور خارجی ندارند. این روش به سه شکل سنجش بر پایه هدف تثبیت شده،

شکل ٦ . استفاده از فتوپروتئین‌ها برای پیش بینی پوسیدگی دندان

تشخیص با پروب تثبیت شده و سنجش نوع ساندویچی انجام می‌پذیرد که از بین این سه فرم نوع ساندویچی از حساسیت و صحت تشخیص بالاتری برخوردار است. از سنجش هیبریدیزاسیون برای شناسایی عامل مولد مالاریا نیز استفاده شده است [۱۵]. فتوپروتئین‌ها در آنالیز نوکلئیک اسیدها و مطالعه‌ی دینامیک پروتئین‌ها، و سنجش‌های مبتنی بر مهار بیولومینسانسی هم مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

همچنین در سال ۲۰۱۷ از آکوئورین برای اولین بار در دندان‌پزشکی جهت پیش بینی پوسیدگی دندان استفاده شد. این پیش بینی بر اساس ایجاد اختلال در چرخه‌ی اتصال و آزاد سازی کلسیم در سطح دندان صورت می‌گیرد.

٦- نتیجه‌گیری

فتوپروتئین ها امروزه کاربردهای زیادی در زمینه‌های گوناگون همچون تصویربرداری از بافت‌های زنده، مطالعه سرطان، مطالعه سلول‌های بنیادی و بیماری‌های عفونی، آشکارسازی باکتری‌ها، سنجش میان کنش پروتئین - پروتئین و پروتئین - لیگاند، آنالیزهای in vivo، آنالیز بیان ژن‌ها، اندازه‌گیری مولکول‌های کوچک زیستی از قبیل کورتیزول، تیروکسین و . . . در مایعات بیولوژیکی، تولید حسگرهای زیستی، نقشه‌برداری مسیرهای تبدیل پیام و سنجش همزمان چند آنالیت دارند. با این حال استفاده از این پروتئین‌ها روز به روز در حال گسترش می‌باشد از این رو بررسی و مطالعه در مورد این پروتئین‌ها هائز اهمیت است.

منابع

[1] F. H. J. A. Y. S. OSAMU SHIMOMURA, “Extraction, Purification and Properties of Aequorin, a Bioluminescent Protein from the Luminous Hydromedusan, Aequorea.” a Bioluminescen. Cellular Physiology, pp. 223–239, 1962.

[2] M. R. Aghamaali et al., “Cloning, sequencing, expression and structural investigation of mnemiopsin from mnemiopsis leidyi: An attempt toward understanding Ca 2+- regulated photoproteins,” Protein Journal, vol. 30, no. 8. pp. 566–574, 2011, doi: 10.1007/s10930-011-9363-8.

[3] H. H. Seliger, “Properties of Mnemiopsin and Berovin, Calcium-ctivated Photoproteins from the Ctenophores,” vol. 13, no. 7, 1973.

[4] M. Bonora et al., “Subcellular calcium measurements in mammalian cells using jellyfish photoprotein aequorin-based probes,” Nat. Protoc., vol. 8, no. 11, pp. 2105–2118, 2013, doi: 10.1038/nprot.2013.127.

[5] M. Adamczyk, J. A. Moore, and K. Shreder, “Quenching of biotinylated aequorin bioluminescence by dye-labeled avidin conjugates: Application to homogeneous bioluminescence resonance energy transfer assays,” Org. Lett., vol. 3, no. 12, pp. 1797–1799, 2001, doi: 10.1021/ol015843p.

[6] A. Y. Gorokhovatsky et al., “Homogeneous assay for biotin based on Aequorea victoria bioluminescence resonance energy transfer system,” Anal. Biochem., vol. 313, no. 1, pp. 68–75, 2003, doi: 10.1016/S0003-2697(02)00514-6.

[7] J. P. Waud et al., “Measurement of proteases using chemiluminescence-resonance-energy-transfer chimaeras between green fluorescent protein and aequorin.,” Biochem. J., vol. 357, pp. 687–697, 2001, doi: 10.1042/0264-6021:3570687.

[8] C. R. Keese, “Monitoring fibroblast behavior in tissue culture with an applied electric field,” vol. 81, no. June, pp. 3761–3764, 1984.

[9] T. H. Rider, D. J. Blanchard, L. T. Bortolin, and A. M. Young, “A B Cell – Based Sensor for Rapid,” vol. 213, no. 2003, 2014, doi: 10.1126/science.1084920.

[10] P. Zamani, R. H. Sajedi, S. Hosseinkhani, and M. Zeinoddini, “Biosensors and Bioelectronics A luminescent hybridoma-based biosensor for rapid detection of V . cholerae upon induction of calcium signaling pathway,” Biosens. Bioelectron., vol. 79, pp. 213–219, 2016, doi: 10.1016/j.bios.2015.12.018.

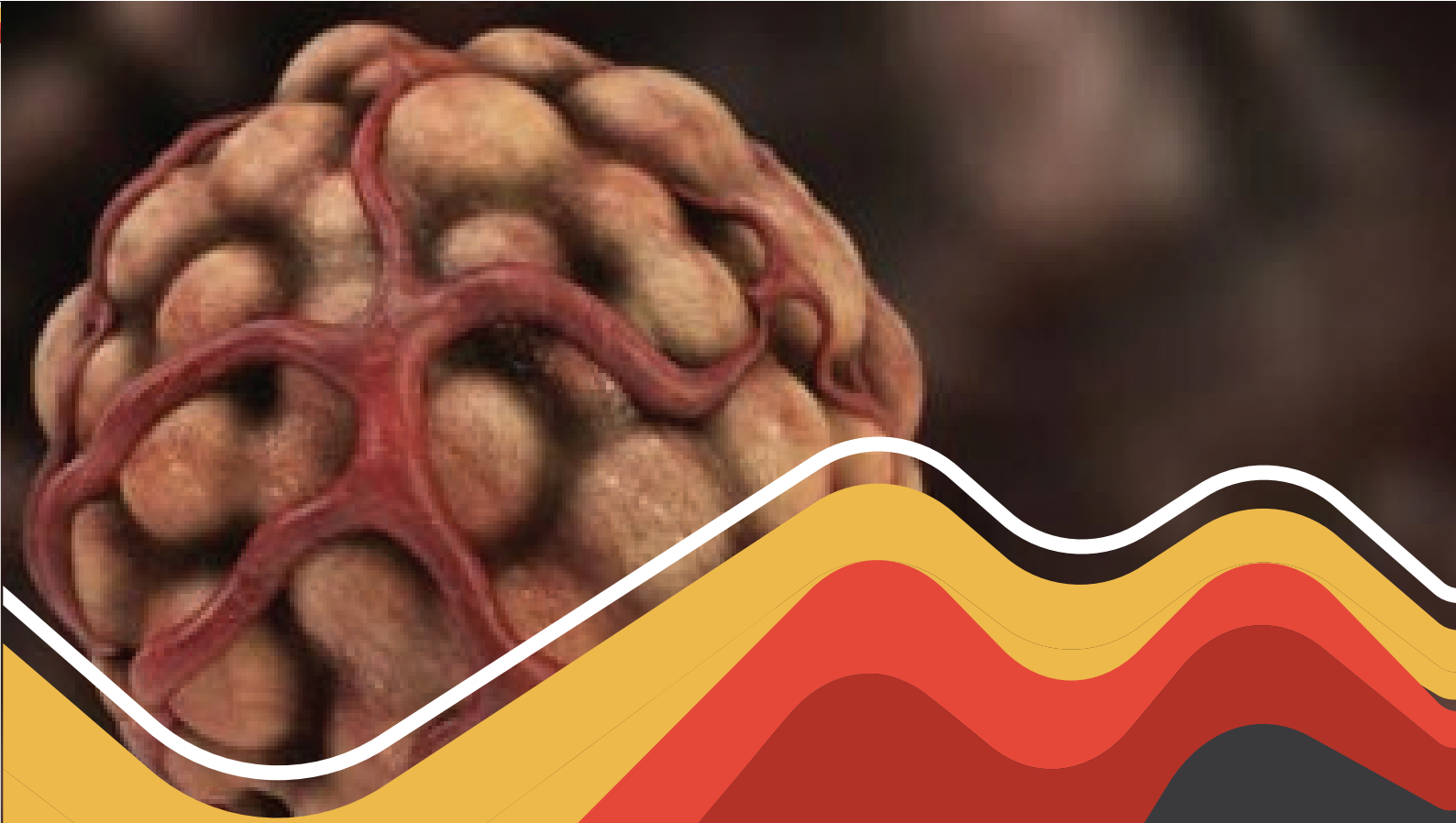
[11] O. Shimomura, “Luminescence of aequorin is triggered by the binding of two calcium ions.,” Biochemical and biophysical research communications, vol. 211, no. 2. pp. 359–63, 1995, doi: 10.1006/bbrc.1995.1821.

[12] D. F. Scott, “Development of Luminescent Sensing Systems With Clinical Applications,” Development, vol. 1, pp. 1–2011, 2011.

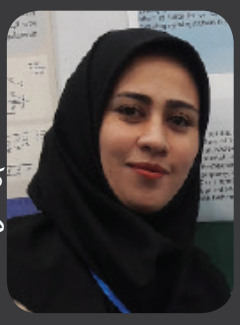
[13] Y. Ohmiya and T. Hirano, “Shining the light: the mechanism of the bioluminescence reaction of calcium-binding photoproteins.,” Chemistry & biology, vol. 3, no. 5. pp. 337–347, 1996, doi: 10.1271/kagakutoseibutsu1962.35.422.

[14] E. Le Poul, S. Hisada, Y. Mizuguchi, V. J. Dupriez, E. Burgeon, and M. Detheux, “Adaptation of Aequorin Functional Assay to High Throughput Screening,” J. Biomol. Screen., vol. 7, no. 1, pp. 57–65, 2002, doi: 10.1177/108705710200700108.

[15] L. Doleman, L. Davies, L. Rowe, E. A. Moschou, S. Deo, and S. Daunert, “Bioluminescence DNA hybridization assay for Plasmodium falciparum based on the photoprotein aequorin,” Anal. Chem., vol. 79, no. 11, pp. 4149–4153, 2007, doi: 10.1021/ac0702847.



ساخت رگ با استفاده از تکنیک مهندسی بافت



زهرا السادات نقیب زاده

کارشناسی ارشد زیست سلولی و مولکولی

دانشگاه رازی کرمانشاه

چکیده

تقاضای روزافزونی برای پیوندهای عروق مهندسی بافت شده (TEBV)[1] با اثر بخشی طولانی مدت برای جایگزینی یا کنار گذاشتن عروق آسیب دیده در بیماری‌های مختلف عروقی وجود دارد. عروق مهندسی بافت شده ایده‌ال باید زیست سازگار، خون سازگار و مقاوم در برابر اتساع آنوریسم بوده و نیز به راحتی قابل کاشت در بدن باشند حوزه مهندسی بافت عروق امکان طراحی و ساخت داربست‌های طبیعی سلول زدایی شده را فراهم می‌کند. موفقیت و پیشرفت در این عرصه مستلزم انتخاب یک داربست مناسب به عنوان میانجی سیگنال‌های بیوشیمیایی و بیوفیزیکی است. ماتریکس خارج سلولی (ECM)[2] به عنوان یک داربست می‌تواند برای مورفوژنز بافتی، تکثیر سلولی، مهاجرت، تمایز بافتی و حفظ این تمایز عمل کند . به منظور بهبود و افزایش طول عمر بیماران و ارتقا سلامت جامعه، محققان با توجه به اصول مهندسی بافت سعی در ایجاد رگ‌های خونی دارند. ایجاد رگ‌های زیست سازگار با ابعاد مناسب به منظور جایگزینی با عروق آسیب دیده هدف اصلی مهندسی بافت عروق است. در این مطالعه به بررسی مفهوم مهندسی بافت، داربست‌های طبیعی سلول‌زدایی شده، ساخت عروق و منابع سلولی مورد نیاز پرداخته شده است.

۱- مقدمه

بیماری های عروقی[3] از جمله بیماری عروق کرونر[4]، بیماری شریان کاروتید[5] و بیماری عروق محیطی[6] یکی از دلایل اصلی بیماری و مرگ و میر در سراسر جهان است. عروق خونی تقریبا در پاتوفیزیولوژی بیماری همه ارگان‌ها شرکت دارند، در نتیجه داشتن درک اساسی بیولوژی عروق خونی و بیماری آن، پایه‌ای برای درک عملکرد طبیعی همه ارگان‌های بدن و همینطور بسیاری از بیماری‌هاست. پیوند بافت خودی[7] یا بافت های عروق مصنوعی[8] به منظور جایگزینی عروق بیمار در درمان این بیماری استفاده می شود. با این حال برخی از بیماران که بافت پیوندی خودی مناسب ندارند یا نمی توانند بافت های پیوندی مصنوعی را با توجه به اندازه کوچک رگ های هدف دریافت کنند، دچار مشکل می شوند[۱].

با توجه به این محدودیت‌ها طی دو دهه گذشته عروق خونی مهندسی شده به طور قابل توجهی پیشرفت کرده است. TEBV به میزان زیادی با جنبه‌های بیومکانیکی شریان سالم مطابقت داشته و قادر به پاسخگویی به رشد، بازسازی و واکنش عروق می‌باشد[۲].

مهندسی بافت مولد یک حوزه مطالعاتی جدید است که در آن اصول مهندسی و بیولوژی را جهت اصلاح بافت زنده به کار می‌گیرد و موجب تجدید، ترمیم و حفظ عمل بافت می‌شود. داربست، سلول و فاکتورهای رشد سه رکن اصلی در مهندسی بافت هستند. مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی (ECM) مانند فیبرونکتین، لامینین و رسپتورهای گلیکوپروتئینی سطح سلولی آنها در مهاجرت و تمایز سلولی نقش دارند، در واقع اجزای ماتریکس خارج سلولی زیر بنای مهندسی بافت را تشکیل می‌دهند و با توجه به ویژگی‌های ECM، استفاده از داربست‌های طبیعی حاصل از سلول زدایی بافت‌های موجودات زنده مفید می‌باشد.

سلول زدایی فرایندی است که طی آن تمامی سلول‌های یک اندام یا بافت از آن جدا می‌شوند، به طوری که فقط شبکه خارج سلولی و چهارچوب مابین سلول‌ها به صورت دست نخورده باقی می‌ماند. سلول زدایی از بافت‌ها و ارگان‌ها جهت استفاده از ماتریکس خارج سلولی برای ایجاد داربست‌های زیستی به طور موفقیت آمیزی در مهندسی بافت و پزشکی ترمیمی انجام شده است. علاوه بر داربست، انتخاب منبع سلولی مناسب نیز نقش مهمی در مطالعه ی رفتار سلول ها در هنگام برهم کنش با داربست دارد. در حقیقت تصور بر این است که اگر سلول های تخصص یافته انسان آسیب ببینند نمی توان آن ها را با سلول های سالم جایگزین کرد. این در حالی است که، با استفاده از سلول های بنیادی می توان سلول های تخصص یافته سالم تهیه نمود و این سلول ها را جایگزین سلول های آسیب دیده کرد. گزارشات اخیر اطلاعات جدید و معتبری در مورد جمعیت سلول های بنیادی موجود در برخی بافت های بالغ ویژه نشان می دهد[۳]. در این مطالعه به بررسی داربست‌های طبیعی سلول زدایی شده و چالش‌های مربوط به آن پرداخته شده است.

۲- مفهوم مهندسی بافت

مهندسی بافت یکی از علوم جدیدی است که در سال‌های اخیر در درمان ضایعات بافتی و اندامی و حتی جایگزینی کامل یک اندام، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. مهندسی بافت مولد یک حوزه مطالعاتی جدید می‌باشد و به عنوان یک رشته میان رشته‌ای تعریف شده است. طبق تعریف لنگر و وکنتی (۱۹۹۳) در مهندسی بافت اصول مهندسی و بیولوژی برای جایگزینی های بیولوژیکی به کار برده می‌شود و موجب تجدید، ترمیم و حفظ عملکرد بافت می‌شود. پروفسور لنگر و دکتر وکنتی برای نخستین بار، داربستی پلیمری به شکل گوش انسان ساختند و سلول های غضروف (کندروسیت) را روی آن کشت دادند و سپس آن را به یک موش آزمایشگاهی پیوند زدند. این پیوند کاملاً موفقیت آمیز بود به گونه ای که گوش پیوندی به خوبی با بافت اطراف خود یکپارچه شد و هیچ اثری از پس زدن آن مشاهده نشد. به

1- Tissue-engineered blood vessels (TEBV)
2- extracellular matrix (ECM)
3- Vascular disease
4- Coronary artery disease
5- Carotid artery disease
6- Peripheral vascular disease
7- Autologous
8- Synthetic vascular grafts

شکل ۱. موش گوش پشت

این ترتیب موشی که گوش انسان را به پشت داشت (شکل ۱)، به نمادی از مهندسی بافت تبدیل گردید. داربست، سلول و فاکتورهای رشد سه رکن اصلی در مهندسی بافت می‌باشند[٤].

۳- سلول‌زدایی و ایجاد داربست طبیعی

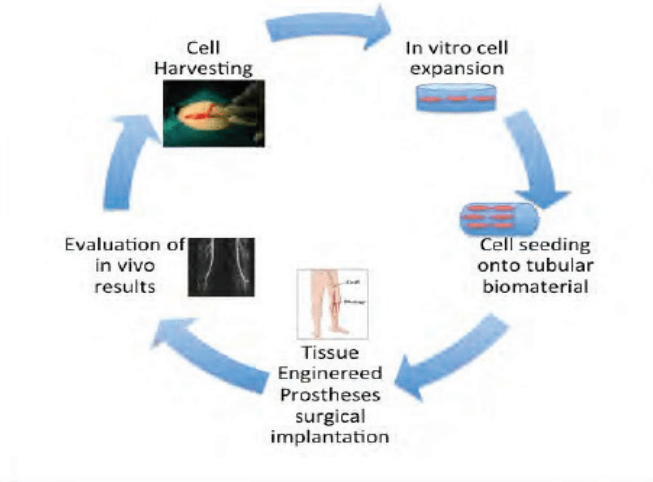
بافت‌های طبیعی پتانسیل بالایی به عنوان جایگزین‌های عروقی دارند. استفاده از بافت‌های طبیعی انسان و حیوانات مختلف در تحقیقات زیادی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. نتایج نشان دهنده این موضوع می‌باشد که مواد زیستی طبیعی معمولا نیازمند یک تیمار فیزیکی یا شیمیایی بوده تا آن‌ها را از تجزیه زیستی محافظت کند، ایمنی زایی آنها را کاهش داده و همچنین موجب استرلیزه بافت شود. به این منظور روش‌های مختلفی مورد بررسی قرار گرفته‌اند تا در نهایت روشی کاربردی که در عین حفظ یکپارچگی مکانیکی بافت و حفظ ماهیت طبیعی آن، اهداف مورد نظر را نیز برآورده کند، یافت شود. در میان روش‌های مختلف سلول زدایی روشی است که به اهداف مورد نظر نزدیکتر می‌باشد. با استفاده از این روش پاسخ ایمنی کاهش یافته و همچنین موادی با ماهیت زیستی طبیعی ایجاد می‌شوند که برای کشت سلول و کاربردهای مهندسی بافت مناسب می‌باشند. مواد زیستی طبیعی امتیازات مکانیکی، شیمیایی و زیستی فراوانی نسبت به مواد مصنوعی دارند و به همین دلیل دارای پتانسیل چشمگیری به منظور کاربرد در درمان به روش مهندسی بافت می‌باشند. روش‌های مختلفی از قبیل تیمار با درجنت‌ها، هضم آنزیمی و روش‌های صوتی برای حذف سلول‌ها از بافت استفاده می‌شوند. عدم حذف کامل سلول‌ها از بافت می‌تواند باعث وقوع مشکلاتی شود، به عنوان مثال باقیمانده محتویات سلول‌ها و موادی از قبیل فسفولیپیدها، باعث کلسیفیه شدن بافت می‌شوند، زیرا این مواد می‌توانند با کریستال‌های کلسیمی پیوند دهند. همچنین باقیمانده سلولی موجب ایجاد پاسخ ایمنی می‌شود.به طور کلی می‌توان گفت پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی از جمله موادی هستند که می‌توانند به عنوان یک داربست با ترکیب زیستی طبیعی و ساختار سه بعدی به صورت وسیعی در مهندسی بافت مورد استفاده قرار گیرند. این داربست‌ها می‌توانند شبکه چند منظوره جهت ایجاد محیط زیستی خاص به منظور به دست آوردن ویژگی‌های بافتی و سلولی تحت شرایط فیزیولوژیکی ایجاد نمایند. علاوه بر این پاسخ‌های ایمنی را تحریک نکرده، برای سلول‌ها سمی نیستند و خاصیت هموئستازی بالایی دارند[٥].

٤- نقش مهندسی بافت در ساخت عروق خونی

عروق خونی تقریبا در پاتولوژی بیماری همه ارگان‌ها شرکت دارند، در نتیجه درک اساسی بیولوژی عروق خونی و بیماری آن پایه‌ای برای درک عملکرد طبیعی همه ارگان‌های بدن و همینطور بسیاری از بیماری‌هاست[٦]. بیماری های عروقی از جمله بیماری عروق کرونر، بیماری شریان کاروتید و بیماری عروق محیطی- یکی از دلایل اصلی مرگ ومیر در سراسر جهان است. سالانه حدود ٦٠٠٠٠٠ رگ پیوندی جایگزین عروق آسیب دیده می‌شوند [٧]. به طور معمول، دو نوع پیوند عروقی به طور گسترده در

جراحی عروق به کار می‌روند: پیوند اتولوگ و پیوند مصنوعی[۸]. پیوندهای عروقی اتولوگ استاندارد طلایی رایج برای پیوند را دارا می‌باشند اما همه بیماران رگ‌های اتولوگ کافی یا سالم برای پیوند عروقی را ندارند و برداشت عروق باعث افزایش زمان جراحی می‌شود و ممکن است باعث عوارضی در جایگاه دهنده شود خصوصاً در بیماران مسن. انتخاب دوم پیوندهای مصنوعی مانند پلی‌تترا فلورواتیلن[۹] یا پلی اتیلن ترفتالات[۱۰] است [۹] که با موفقیت نسبی برای برخی از کاربردهای نیاز به عروق با قطر بزرگ (بزرگ‌تر از ٦ میلی‌متر) استفاده می‌شوند ولی برای پیوند عروق با قطر کوچک (کمتر از ٦ میلی‌متر) پیوندهای مصنوعی موفقیت آمیز نیستند همچنین پتانسیل رشد محدود و عدم تجزیه پذیری غیرمستقیم یک مشکل مازاد است مخصوصاً در بیماران با سن کم (کودکان) که نیاز به پیوند پویا دارند [۹-۱۱]. بنابراین نیاز روز افزون برای جایگزینی عروق توسط پیوندهای اتولوگ یا گزینه‌های مصنوعی کاملاً برآورده نمی‌شود[۸].با توجه به مشکلات گفته شده جایگزینی رگ‌های خونی مهندسی شده بافت، یک راه حل ایده‌آل برای این مشکل بالینی است توسعه رگ خونی مهندسی شده بافت طی دو دهه گذشته پیشرفت چشمگیری داشته است. در مفهوم، TEBV با جنبه‌های بیومکانیکی شریان سالم مطابقت دارد و قادر به پاسخگویی به رشد، بازسازی و واکنش عروق می‌باشد [۱۲]. بافت سلول زدایی شده به صورت آلوژنیک[۱۱] و زنوژنیک[۱۲] می‌تواند به عنوان داربست طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. عموما سلول‌زدایی بافت‌ها توسط ترکیبی از مواد شوینده، مهار کننده‌های آنزیمی و بافرها انجام می‌شود. بافت سلول‌زدایی شده حاوی ساختاری منظم با خواص مکانیکی مناسب و همچنین کلاژن و الاستین صدمه ندیده اما فاقد اجزای سلولی و DNA است. مزایای بافت سلول‌زدایی شده طبیعی بودن ماتریکس خارج سلولی و زیست سازگاری می‌باشد[۱۳-۱۵]. به دلیل نیاز روز افزون به جایگزین‌های عروقی، سال‌هاست که محققان بر روی ساخت رگ‌های مناسب به منظور جایگزینی با رگ‌های آسیب دیده متمرکز شده‌اند.

۵- پروسه مهندسی بافت در ساخت عروق



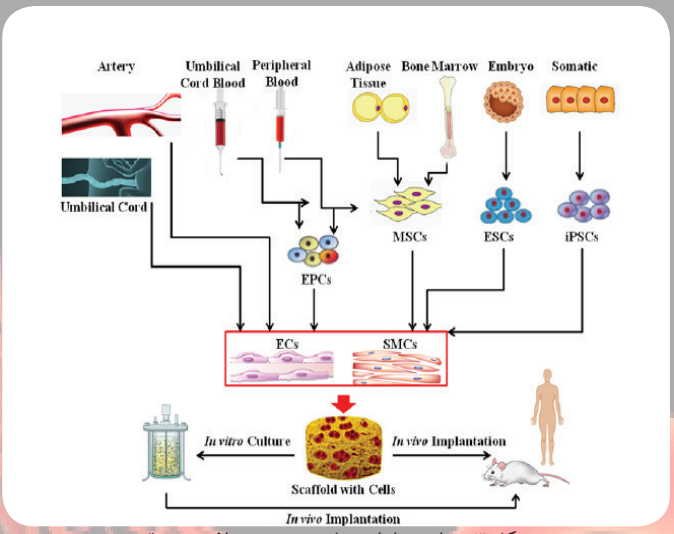
شکل ۲. پروسه مهندسی بافت در ساخت عروق

برای تهیه داربست طبیعی و ایجاد رگ‌های زیست سازگار با ابعاد مناسب به منظور جایگزینی با رگ‌های آسیب دیده بیماران مبتلا به بیماری‌های عروق، رگ‌های به دست آمده از جسد انسان یا حاصل از جراحی‌های عروق به عنوان بافت منبع تهیه داربست انتخاب می‌شوند و پروتکل‌های لازم جهت سلول زدایی بافت انجام می‌شود سلول‌های موجود در داربست آماده حذف گردیده و کلاژن و الاستین و بقیه اجزای ماتریکس خارج سلولی به منظور حفظ ماهیت زیستی طبیعی داربست حفظ خواهند شد. پس از آنکه مطالعات بافت شناسی کارایی روش سلول‌زدایی به کار رفته را در حذف اجزا سلولی و حفظ ساختار ماتریکس خارج سلولی تایید کردند، تغییرات سطحی مورد نظر انجام شده و سپس سلول‌های مربوط به بافت هدف به تعداد کافی روی آن کشت داده می‌شوند. کشت سلول در یک سرم بیولوژیکی (محیط کشت) که حاوی مواد مغذی لازم برای رشد و حیات سلول است انجام می‌گیرد. حضور فاکتورهای رشد در محیط کشت برای دریافت یک پاسخ مناسب از سلول‌ها و کمک به رفتار بهتر آن‌ها ضروری است. پس از گذشت زمان کافی، سلول‌ها در تمام فضای داربست جاسازی شده و یک سازه سه بعدی محتوی سلول به دست می‌آید که آماده کاشت در بدن می‌باشد. این ساختار داربست - سلول توسط جراح در ناحیه‌ای از بدن که دچار ضایعه شده است کاشته شده و فضای آسیب دیده را پر می‌کند. با رگزایی و نفوذ مویرگ‌های اطراف به داخل داربست، مواد غذایی و اکسیژن به سلول‌ها رسانده می‌شود و مواد زائد حاصل از متابولیسم آن‌ها دفع می‌شود و به این ترتیب با گذشت زمان سلول‌ها شروع به سنتز ECM طبیعی خود و ساخت بافت جدید می کنند و داربست نیز همزمان با تشکیل بافت جدید به مرور زمان تخریب می شود، تا اینکه با شکل گیری کامل بافت، به کلی از بین می رود. در نهایت بافت جدید با بافت طبیعی مجاور خود در هم آمیخته شده و کاملاً یکپارچه می‌گردد (شکل ۲).

٦- منابع سلولی برای مهندسی بافت عروقی

انواع مختلفی از سلول‌هایی که در حال حاضر برای مهندسی بافت عروق مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل: سلول‌های اندوتلیال[۱۳]، سلول‌های پیش ساز اندوتلیال[۱۴]، سلول‌های عضله صاف عروقی[۱۵]، سلول‌های پری‌سیت[۱۶] و سلول‌های بنیادی می‌باشند که از منابع مختلفی استخراج شده و نقش مهمی را در رشد و نگهداری عروق دارا می‌باشند(شکل۳)[۱٦].

9- Polytetrafluoroethylene (PTFE)
10- Polyethylene terephthalate (PETE, Dacron)
11- Allogeneic
12- Xenogenic
13- Epithelial cells (EC)
14- Endothelial progenitor cell (EPC)
15- Vascular smooth muscle cells (VSMCs)
16- Pericyte cells



شکل ۳. منابع سلولی برای مهندسی بافت عروق

٦- نتیجه‌گیری و چشم انداز

امروزه هدف اصلی مهندسی بافت عروق، بازسازی مجدد و ترمیم بافت عروقی آسیب دیده است. ایجاد بافت عروقی با ویژگی‌های مطلوب و مناسب جهت پیوند در بدن بیماران عروقی از موارد مهم در حوزه مهندسی پزشکی به شمار می‌آید. تلاش‌های زیادی برای جایگزینی عروق آسیب دیده انجام شده است و انتظار می‌رود عروق جایگزین شده ویژگی‌های عروق طبیعی را دارا باشند و برای این منظور از روش‌های و مواد مختلفی استفاده شده است.

که استفاده از داربست‌های سلول زدایی شده یکی از راه‌های مطمئن‌تر برای رسیدن به مطلوب مورد نظر می‌باشد. با توجه به حدود نیم قرن کار در مورد مهندسی بافت عروق همچنان بهترین مواد و روش‌ها برای ساخت عروق مشخص نشده است و تحقیقات در این حوزه همچنان ادامه دارد برای رسیدن به موفقیت در این تکنولوژی پیچیده با کاربرد کلینیکی و مهندسی بافت مستلزم مشارکت زیست شناسان، پزشکان و مهندسان در یک تلاش هماهنگ است. به طور خلاصه می‌توان گفت که هدف نهایی مهندسی بافت عروق ایجاد پیوندهای عروقی عملکردی و بافت‌های واسکولاریزه می‌باشد که دارای معماری متناسب با بافت‌ها یا اندام‌های هدف است این مهم زمانی قابل تحقق است که درک عمیق‌تری از زیست‌شناسی اساسی، شامل فعل و انفعالات سلول و مواد، داشته باشیم. با نگاهی به پیشرفت‌های فعلی در این زمینه آینده بسیار امیدوار کننده به نظر می‌رسد.

منابع

[1] Zdrahala RJ. Small caliber vascular grafts. Part I: state of the art. Journal of biomaterials applications. 1996 Apr;10(4):309-29.

[2] Kumar VA, Brewster LP, Caves JM, Chaikof EL. Tissue engineering of blood vessels: functional requirements, progress, and future challenges. Cardiovascular engineering and technology. 2011 Sep 1;2(3):137-48.

[3] Simsa R, Padma AM, Heher P, Hellström M, Teuschl A, Jenndahl L, Bergh N, Fogelstrand P. Systematic in vitro comparison of decellularization protocols for blood vessels. PloS one. 2018 Dec 17;13(12):e0209269.

[4] Caddeo S, Boffito M, Sartori S. Tissue engineering approaches in the design of healthy and pathological in vitro tissue models. Frontiers in bioengineering and biotechnology. 2017 Jul 26;5:40

[5] Hazwani A, Sha'Ban M, Azhim A. Characterization and in vivo study of decellularized aortic scfolds using closed sonication system. Organogenesis. 2019 Oct 2;15(4):12036.

[6] Smink DS. Schwartz›s principles of surgery. Annals of Surgery. 2015 May 1;261(5):1026.

[7] Ku DN, Allen RC. Vascular grafts. The biomedical engineering handbook. 1995:1871-8.

[8] Simsa R, Padma AM, Heher P, Hellström M, TeuschlA, Jenndahl L, Bergh N, Fogelstrand P. Systematic in vitro comparison of decellularization protocols for blood vessels. PloS one. 2018;13(12).

[9] Rambøl MH, Hisdal J, Sundhagen JO, Brinchmann JE, Rosales A. Recellularization of decellularized venous grafts using peripheral blood: a critical evaluation. EBioMedicine. 2018 Jun 1;32:215-22.

[10] Avci-Adali M, Perle N, Ziemer G, Wendel HP. Current concepts and new developments for autologous in vivo endothelialisation of biomaterials for intravascular applications. Eur Cell Mater. 2011 Feb 11;21:157-76.

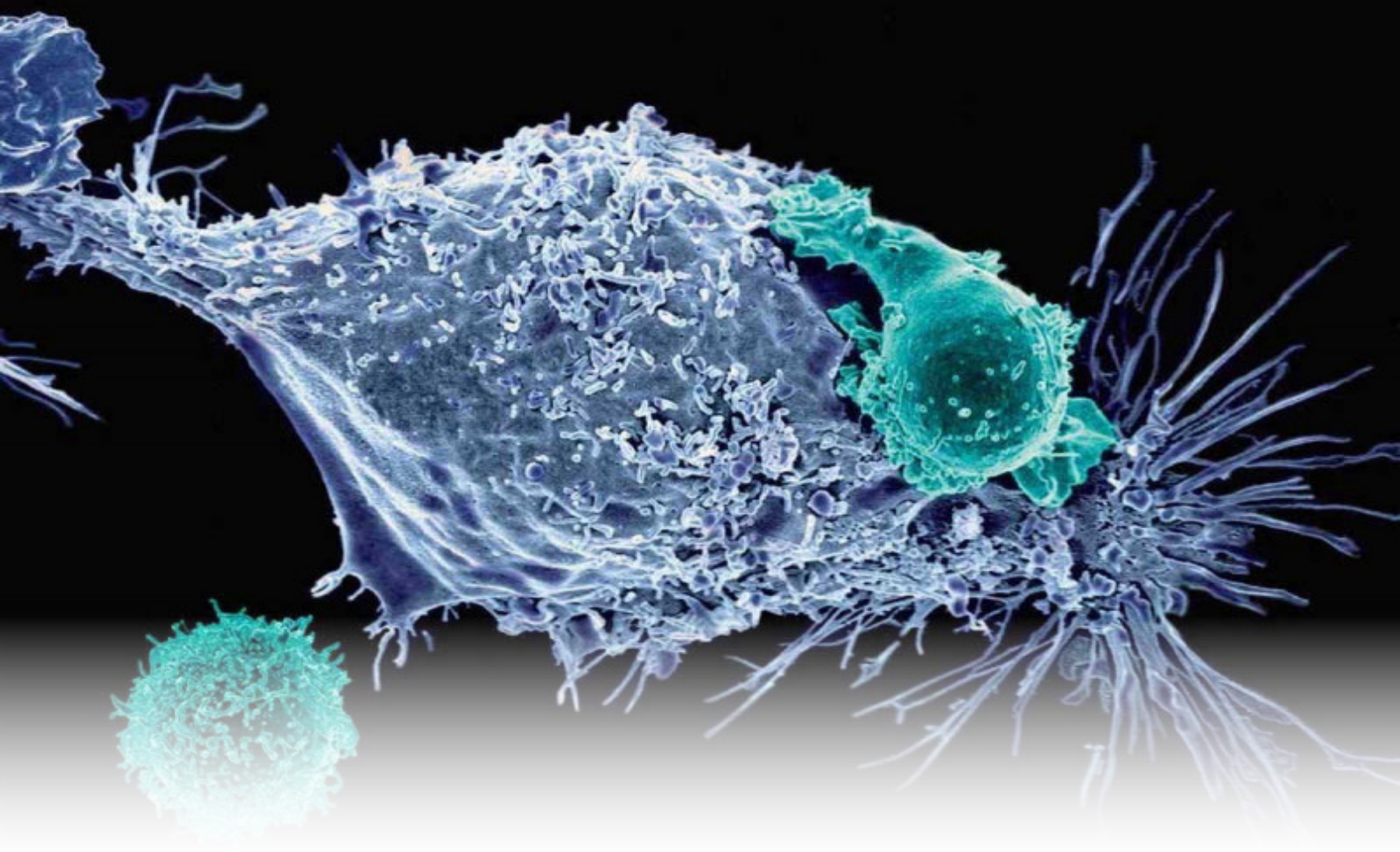
[11] Ravi S, Chaikof EL. Biomaterials for vascular tissue engineering. Regenerative medicine. 2010 Jan;5(1):107-20.

[12] Kumar VA, Brewster LP, Caves JM, Chaikof EL. Tissue engineering of blood vessels: functional requirements, progress, and future challenges. Cardiovascular engineering and technology. 2011 Sep 1;2(3):137-48.

[13] Hibino N, McGillicuddy E, Matsumura G, Ichihara Y, Naito Y, Breuer C, Shinoka T. Late-term results of tissue-engineered vascular grafts in humans. The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. 2010 Feb 1;139(2):431-6.

[14] Dahl SL, Blum JL, Niklason LE. Bioengineered vascular grafts: can we make them off-the-shelf?. Trends in cardiovascular medicine. 2011 Apr 1;21(3):83-9.

[15] Tara S, Rocco KA, Hibino N, Sugiura T, Kurobe H, Breuer CK, Shinoka T. Vess

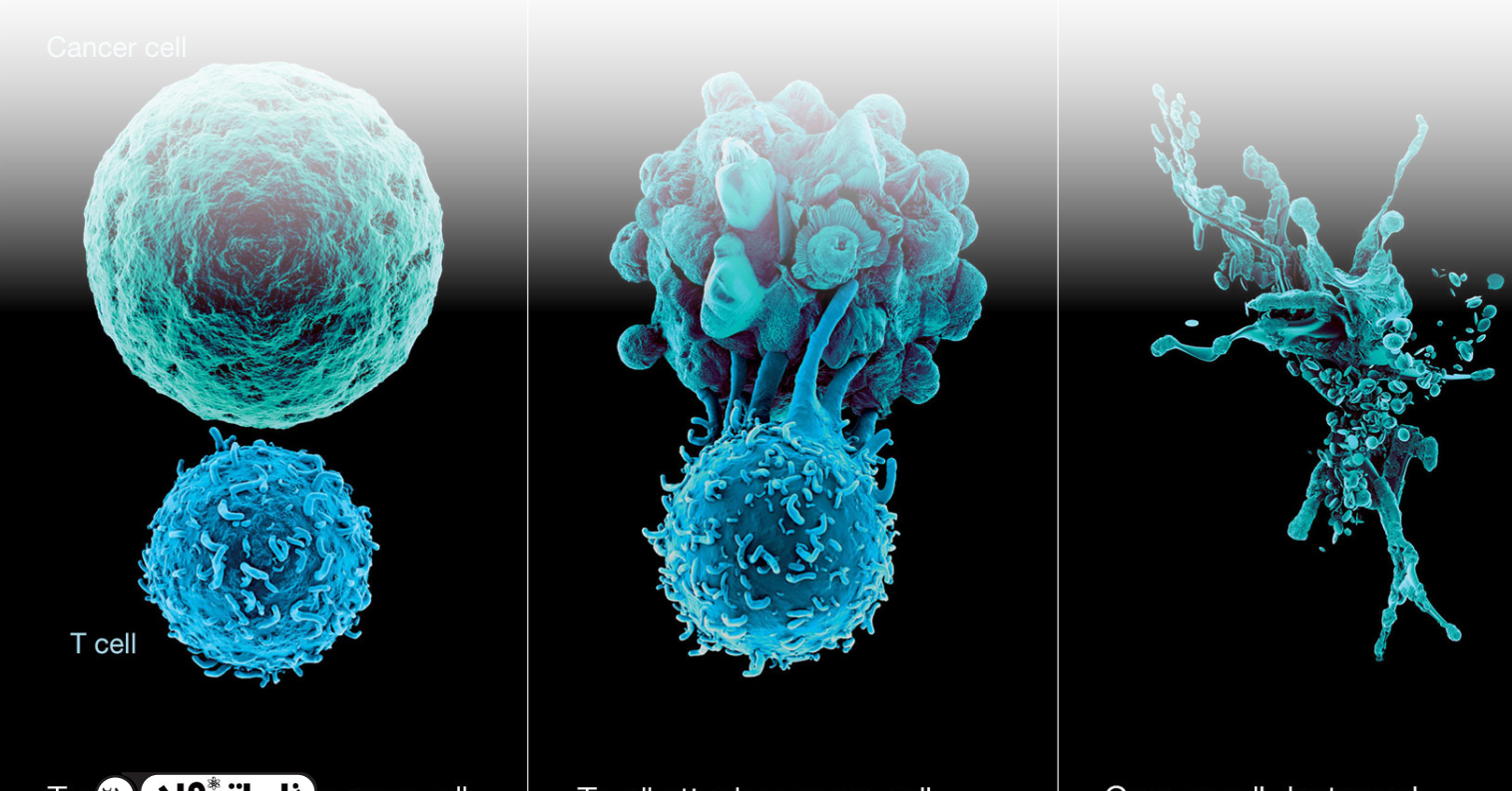


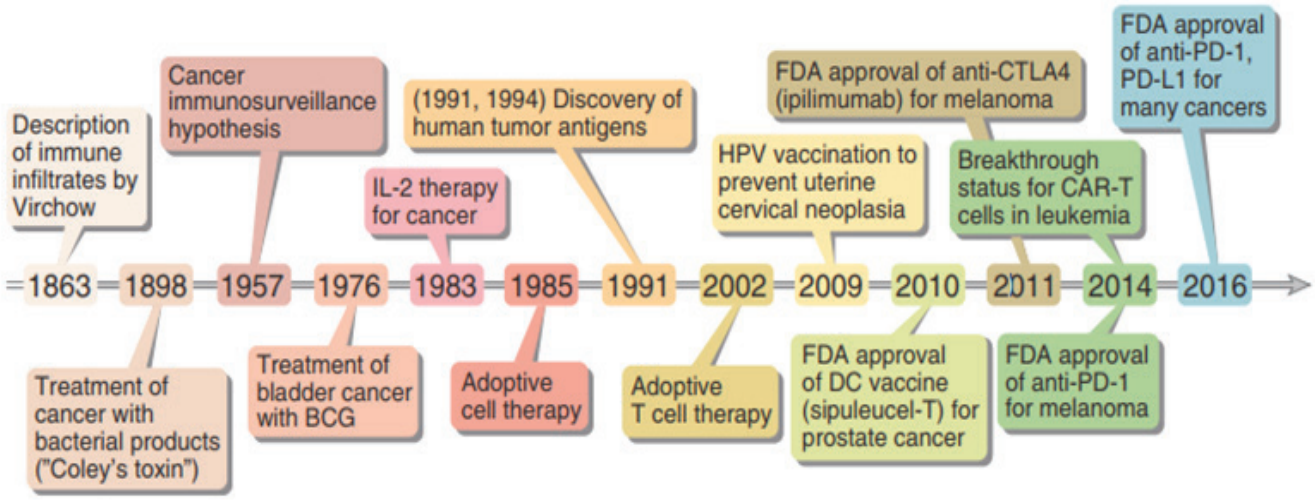
روش‌های ایمونوتراپی سرطان از گذشته تا به امروز

حمیدرضا اخباریون

کارشناسی ارشد بیوشیمی

دانشگاه تربیت‌مدرس





شکل ۱. انواع روش های پژهشی ایمونوتراپی سرطان تایید شده از سال ۱۸۶۳ تا کنون

۱- مقدمه

امروزه یکی از مهم ترین چالش های علوم پزشکی سرطان می‌باشد به طوری که این بیماری، دومین عامل مرگ ومیر پس از بیماری‌های قلبی -عروقی در جهان می‌باشد. روش‌های درمانی متعددی جهت درمان این بیماری به وجود آمده که از آن‌ها می‌توان به شیمی درمانی، رادیوتراپی، هورمون درمان، پیوند سلول‌های بنیادی و در نهایت ایمونوتراپی اشاره کرد که پژوهش‌های بسیاری بر روی این روش‌ها انجام شده است [۱, ۲].

با در نظر گرفتن عوارض بسیار راه‌های دیگر درمانی سرطان، که در صدر آن ها شیمی درمانی قرار داشت و همچنین این فرضیه که ایمونوتراپی با فعالسازی سیستم ایمنی شخص عوارضی برای شخص ندارد، استفاده از این روش در سال‌های گذشته در پژوهش‌ها بسیار مورد بررسی قرار گرفت به طوری که امروزه از ایمونوتراپی به عنوان یکی از راه‌های اصلی درمان سرطان یاد می‌کنند[۹]. در این مقاله به بررسی مهم‌ترین روش‌های ایمونوتراپی از گذشته تاکنون می‌پردازیم.

۲- معرفی ایمونوتراپی

ایده درمان سرطان به وسیله سیستم ایمنی که به اختصار ایمونوتراپی سرطان نامیده می شود به سال ۱۹۵۰ برمی‌گردد. زمانی که دکتر مک فارلن برنت با بیان فرضیه‌ای تحت عنوان (عملکرد فیزیولوژیک سیستم ایمنی این است که کلون‌های تغییر شکل یافته را قبل از آنکه رشد کرده شناسایی نموده، نابود کند و پس از شکل گیری تومورها آنها را از بین ببرد) زمینه ساز شکل گیری پژوهش‌های متعددی جهت فعال‌سازی سیستم ایمنی جهت از بین بردن سلول‌های سرطانی شد[۳].

این نظریه بعدها به نظریه ویرایش ایمنی[1] که نگرشی اختصاصی‌تر به موضوع است، پیوند خورده است. ویرایش ایمنی بیانگر تعامل متقابل تومور و سیستم ایمنی است به سه مرحله تقسیم می‌شود:

۱) حذف تومور؛ ۲) تعادل بین فعالیت تومور و سیستم ایمنی ۳) فرار تومور[٤].

در سال ۱۸۹۸ ویلیام کولی و همکاران[۵, ٦] از باکتریهای زنده به عنوان محرک سیستم ایمنی جهت درمان سرطان استفاده کردند. فرضیه آنها این بود که تزریق باکتری زنده (باکتری استرپتوکوکوس پیوژنز) به محل تومور، باعث کاهش اندازه و رشد توده تومور می شود. آنها مطالعات خود را نخست از سرطان استخوان آغاز کردند و نزدیک به ٤٠ سال درباره اثر عفونت باکتریایی بر درمان سرطان پژوهش کردند. در ابتدا روش آن ها مورد قبول دانشمندان قرار نگرفت. اما بعدها با پیشرفت علم و کشف نقش تحریک کنندگی سیستم ایمنی در حذف سلول های سرطانی به روشی که آنها در درمان سرطان به کار برده بودند، ایمونوتراپی سرطان گفته شد و همینطور ویلیام کولی را بنیان گذار این علم نامیدند[۷, ۸].

موفقیت‌های درمانی اخیر، مانند ایمنوتراپی نقاط کنترل[2] که استفاده از آنتی بادی‌های بلاک کننده آنتی‌ژن‌های CTLA-4[3] و PD-1[4] می‌باشد (نوبل سال ۲۰۱۸ را به خود اختصاص داد) و استفاده از گیرنده‌های آنتی‌ژنی کایمریک (CAR)[5] بر سطح سلول‌های T، همگی نشئت گرفته از تلاش‌هایی است که سیستم ایمنی برای حذف سلول‌های توموری انجام می‌دهد. در شکل ۱ انواع روش‌های ایمونوتراپی سرطان از گذشته تا به حال را مشاهده می‌کنید که در ادامه به توضیح بیشتر در مورد آن‌ها می‌پردازیم.

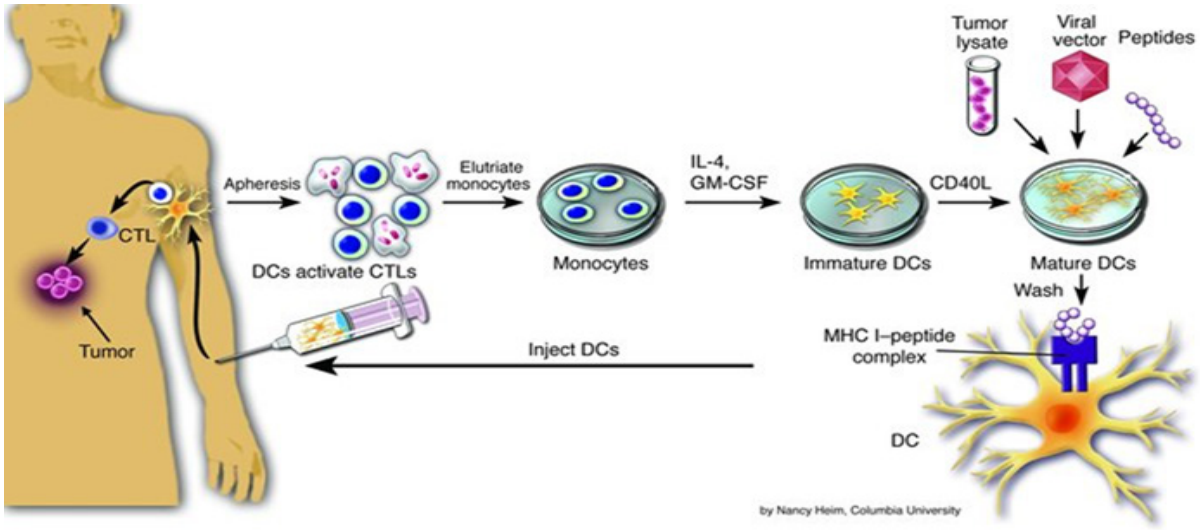
1- Immunoediting

2- Check Points

3- cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4)

4-programmed cell death protein 1 (PD-1)

5- Chimeric antigen receptors (CARs)



شکل۲. استفاده از واکسیناسیون جهت فعالسازی سلول های دندریتیک فرد مبتلا به سرطان

۳- واکسیناسون با آنتی ژن‌های توموری

این روش که یکی از موثرترین روش‌های درمانی در سال‌های گذشته بود ابتدا با ایده ایجاد ایمنی در برابر انواع سرطان‌ها مانند واکسن‌های علیه ویروس‌ها شکل گرفت ولی در نهایت به این نتیجه ختم شد که این واکسن برخلاف واکسن‌های ویروسی باید پس از ابتلا شخص به سرطان تزریق شود.

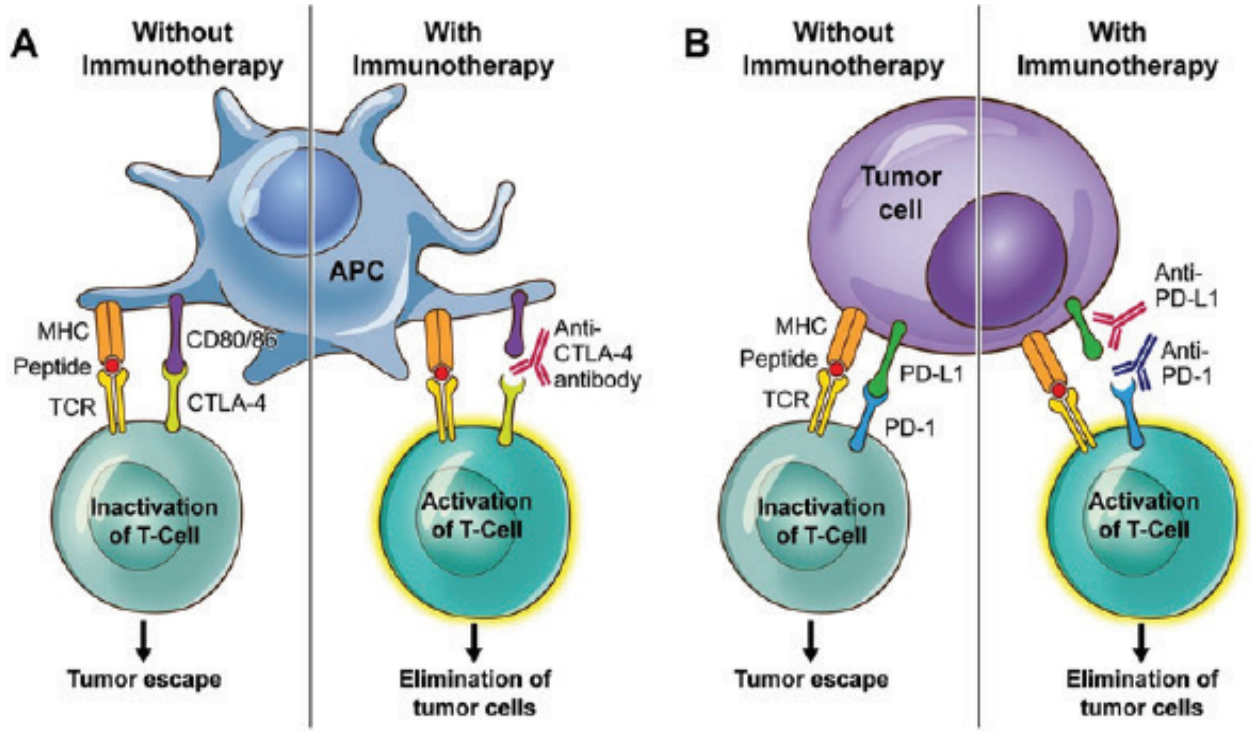
این مدل از درمان از ۳ نوع واکسن تشکیل شده که شامل: ۱) پپتیدهای آنتی ژنی توموری ۲) واکسن‌های DNA و ۳) وکتورهای ویروسی می باشند.

مورد اول با بررسی و کشف آنتی‌ژن‌های مختص به تومور در سال ۱۹۹۱ شکل گرفت به طوری که با استخراج سلول‌های توموری مخصوص از شخص بیمار و از بین بردن خود سلول و باقی ماندن آنتی‌ژن‌های آن، این واکسن به فرد تزریق می‌شد و نتایج نسبتاً خوبی هم گرفته شد[۱۲, ۱۳]. روش دیگری که در این مورد بررسی شد، استخراج سلول‌های دندریتیک فرد مبتلا به سرطان، و فعال‌سازی آن‌ها با این آنتی ژن‌ها و یا وکتورهای ویروسی و سپس تزریق این سلول‌های فعال شده به بدن بیمار بود که شکل ۲ این مطالعه را نشان می‌دهد. این دارو در سال ۲۰۱۰ مورد تایید سازمان غذا و داروی آمریکا جهت درمان سرطان پروستات قرار گرفت[۱۴]. واکسن‌های DNA سال‌ها مورد پژوهش قرار گرفته و نتایج نسبتاً خوبی هم داشته است ولی بدلیل عوارض موجود، هنوز در مرحله پژوهش‌های حیوانی و کارآزمایی‌های بالینی باقی مانده است.

ایده روش سوم در این مدل، با کشف عامل ایجاد کننده سرطان

جدول۱. بررسی انواع روش های واکسیناسیون جهت درمان سرطان

نوع واکسن	محتویات واکسن	مدل های حیوانی	کارآزمایی بالینی
واکسن توموری کشته شده	سلول‌های توموری کشته شده+ادجوانت سلول‌های توموری تجزیه شده+ادجوانت	ملانوما، سرطان کولون و سایر سارکوماها	ملانوما، سرطان کولون ملانوما
آنتی ژن‌های خالص شده تومور	آنتی ژن‌های ملانوما پروتئین‌های شوک حرارتی	ملانوما گوناگون	ملانوما، سرطان کلیه و سارکوما
واکسن‌های بر پایه سلول دندریتیک	سلول‌های دندریتیک همراه با آنتی ژن‌های توموری سلول‌های دندریتیک که ژن‌های کدکننده آنتی ژن توموری به آن‌ها انتقال یافته است.	ملانوما، لنفوم سلول B، سارکوم ملانوم و سرطان کولون	کارسینومای پروستات (تایید شده)، ملانوما لنفوم و سایر کارسینوما ها
واکسن‌های تقویت شده با سایتوکاین و مولکول‌های کمک محرک	سلول‌های توموری که سایتوکاین BV به آن‌ها انتقال یافته است. APC's که ژن های سایتوکاین همراه آنتی ژن‌های توموری به آن‌ها انتقال یافته است.	سرطان کلیه، سارکوما، لوکمی سلول B و سرطان ریه	ملانوما، سارکوما و سرطان کلیه
واکسن‌های DNA	ایمنی زایی با پلاسمید کدکننده آنتی‌ژن‌های توموری	ملانوما	ملانوما
وکتورهای ویروسی	آدنوویروس، واکسن‌های کدکننده آنتی ژن توموری+سایتوکاین	ملانوما، سایتوکاین	ملانوما، کارسینوم پروستات



شکل۳. نحوه درمان سلول های توموری به روش Immune checkpoint

دهانه رحم یعنی ویروس HPV ، شکل گرفت به طوری که در سال ۲۰۰۹ با ایجاد واکسن ویروسی بر ضد این ویروس، از شکل‌گیری این بیماری جلوگیری می‌شود. این روش تنها روش واکسیناسیون مورد استفاده جهت پیشگیری، قبل از ابتلای فرد به سرطان است[۱۵]. جدول۱ به بیان این روش‌ها و بیماری‌هایی که این روش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند، می‌پردازد.

٤- CAR Tcell

روش مورد تایید دیگری که امروزه بسیار رواج گرفته و پژوهش‌های زیادی در مورد آن صورت گرفته سلول های T کایمریک می‌باشند، که چندین مورد جهت درمان انواع سرطان‌ها مورد تایید قرار گرفته‌اند که در مقاله گذشته به طور مفصل مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

٥- درمان به روش Immune checkpoint

جدید ترین روش درمانی بر پایه ایمونوتراپی می باشند که در این چند سال بر روی آن بسیار کار شده است.

در این روش از آنتی بادی ها جهت سدکردن CTLA-4 و PD-1 برای درمان بیماران مبتلا به سرطان استفاده می‌شود. این روش پیشرفتی اساسی در سال‌های گذشته در زمینه ایمونوتراپی سرطان بوده است[۳].

CTLA-4 در سال ۱۹۸۷ توسط پیر گلدشتاین کشف شد[۱٦]. مدت‌ها بعد چندین گروه به طور مستقل از یکدیگر ثابت کردند که، CTLA-4 به عنوان گیرنده مهاری، هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در موش‌های ناک اوت شده عمل می‌کند و موجب کاهش فعالیت سیستم ایمنی و آپوپتوز در لنفوسیت‌های Tمی‌شود[۱۷, ۱۸].

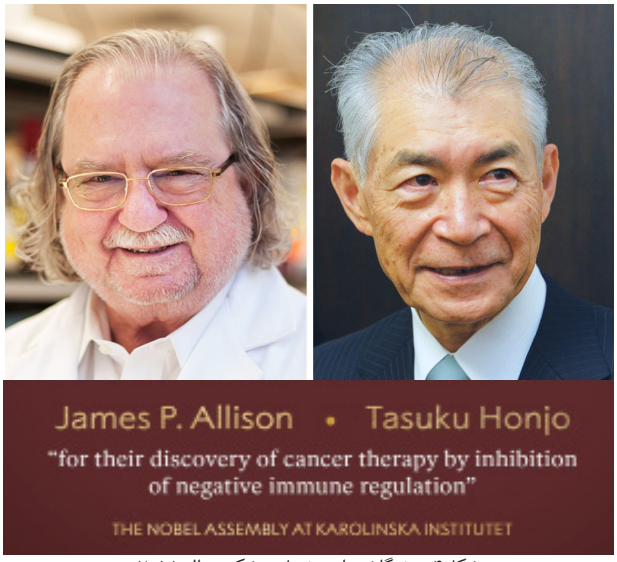
CTLA-4 نقش خود را با واسطه دو سازوکار انجام می‌دهد. نخست اندوسیتوز و تخریب لیگاندهای محرک و دوم تحویل سیگنال‌های مهاری که تکثیر سلول‌های T و ترشح IL-2 را متوقف می‌کند و بدین ترتیب از طریق عدم پاسخ‌دهی، موجب تحمل سلول های T می‌شود.

اکتشافات صورت گرفته باعث شد که در سال ۱۹۹٦، آلیسون که روی نمونه های اسپرم کار می‌کرد، نشان دهد که سد کردن CTLA-4 می‌تواند تومورها را در بدن موش از بین ببرد. این یافته زمینه ای برای توسعة بالینی آنتی بادی هایی فراهم کرد که به شکل هدفمند CTLA-4 را هدف قرار می‌دهند. در سال ۲۰۱۱ اداره غذا و داروی آمریکا استفاده از آنتی بادی ضد ایپیلیموماب (CTLA-4) برای درمان ملانوما را تایید کرد. این رویکرد، آغاز دوره ای جدید برای ایمونوتراپی سرطان بود.

راهکارهای ترکیبی با پرتودرمانی، شیمی درمانی و سدکردن همزمان PD-1 ، اثربخشی درمان anti CTLA-4 را افزایش می دهد[۱۹, ۲۰].

رشد بالینی سد کننده PD-1 وابسته به اکتشافات بعدی بود. PD-1 اولین بار توسط تاسوکو هونجو در سال ۱۹۹۲ کلون شد. تقریبا ده سال بعد لیگاند PD-1 یا PDL-1 توسط دو گروه پژوهشی مستقل از هم به رهبری لیپینگ چن و گوردون فریمن یافت شد. چن و همکاران نشان دادند که در بسیاری از سرطان های انسانی بیان لیگاند های PD-1 افزایش می یابد و سدکردن PD-1 یا PDL-1 با استفاده از آنتی بادی ها می تواند موجب پسرفت تومور در موش شود.

این اکتشافات راه موفقیت در درمان توسط آنتی بادی های سد کننده PD-1 در تومورهای جامد پیشرفته را هموار ساخت. به طوری که در سال ۲۰۱۸ دو دانشمند کاشف این روش درمانی



شکل۴. برندگان جایزه نوبل پزشکی سال ۲۰۱۸

موفق به دریافت جایزه نوبل شدند که این خود اهمیت این روش درمانی را نشان می دهد[۲۱, ۲۲].

در حال حاضر این آنتی بادی ها در مرحله کارآزمایی بالینی بر روی انواع سرطان مختلف برای گرفتن تاییدیه سازمان غذا و دارو می باشند.

منابع

[1] Notghi, P., et al., Tumor Immunotherapy, History and Achievements.
[2] Young, I.D., Emery›s elements of medical genetics. 1998: Churchill Livingstone.
[3] Yang, Y., Cancer immunotherapy: harnessing the immune system to battle cancer. The Journal of clinical investigation, 2015. 125(9): p. 3335-3337.
[4] Schreiber, R.D., L.J. Old, and M.J. Smyth, Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. Science, 2011. 331(6024): p. 1565-1570.
[5] McCarthy, E.F., The toxins of William B. Coley and the treatment of bone and soft-tissue sarcomas. The Iowa orthopaedic journal, 2006. 26: p. 154.
[6] Cann, S.H., J. Van Netten, and C. Van Netten, Dr William Coley and tumour regression: a place in history or in the future. Postgraduate medical journal, 2003. 79(938): p. 672-680.
[7] Parish, C.R., Cancer immunotherapy: the past, the present and the future. Immunology and cell biology, 2003. 81(2): p. 106-113.
[8] NOORI, D.M.R., R.N. RAHIMI, and S. KAVOOSI, IMMUNOTHERAPY USINGENGINEERED T-CELLS (CARS): A SIGNIFICANTEVOLUTION IN MODERN MEDICAL BIOTECHNOLOGY. 2018.
[9] Abbas, A.K., A.H. Lichtman, and S. Pillai, Cellular and molecular immunology. 1994: Elsevier Health Sciences.
[10] M Candeias, S. and U. S Gaipl, The immune system in cancer prevention, development and therapy. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents), 2016. 16(1): p. 101-107.
[11] Grivennikov, S.I., F.R. Greten, and M. Karin, Immunity, inflammation, and cancer. Cell, 2010. 140(6): p. 883-899.
[12] Dong, H., et al., Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. Nature medicine, 2002. 8(8): p. 793-800.
[13] Sakr, W., et al., High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20-69: an autopsy study of 249 cases. In Vivo (Athens, Greece), 1994. 8(3): p. 439-443.
[14] Cerutti, P. and P. Amstad, Inflammation and oxidative stress in carcinogenesis. Eicosanoids and Other Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Radiation Injury. 1993, Springer, New York.
[15] Reza Noori Daloii, M. and H. Fazilaty Mina Tabrizi, Cancer metastasis, genetic and microenvironmental factors of distant tissue: a review article. Tehran University Medical Journal, 2013. 70(11).
[16] Brunet, J.-F., et al., A new member of the immunoglobulin superfamily—CTLA-4. Nature, 1987. 328(6127): p. 267-270.
[17] Walunas, T.L., et al., CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. Immunity, 1994. 1(5): p. 405-413.
[18] Waterhouse, P., et al., Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctla-4. Science, 1995. 270(5238): p. 985-988.
[19] Leach, D.R., M.F. Krummel, and J.P. Allison, Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. Science, 1996. 271(5256): p. 1734-1736.
[20] Buchbinder, E. and F.S. Hodi, Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 and immune checkpoint blockade. The Journal of clinical investigation, 2015. 125(9): p. 3377-3383.
[21] Ishida, Y., et al., Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. The EMBO journal, 1992. 11(11): p. 3887-3895.
[22] Freeman, G.J., et al., Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. The Journal of experimental medicine, 2000. 192(7): p. 1027-1034.

تاثیر یک دوره کاهش بار تمرین به همراه مصرف مکمل کراتین بر پاسخ‌های هورمونی بازیکنان فوتبال

ابراهیم فلاح[1]، امین ابراهیمیان[1]

[1]دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش

دانشگاه آزاد اسلامي واحد اسلامشهر

چکیده

زمینه و هدف پژوهش: هدف از تحقیق حاضر، بررسي تاثیر یک دوره کاهش بار تمرین به همراه مصرف مکمل کراتین بر پاسخ‌های هورمونی بازیکنان فوتبال بود.

روش‌شناسی: بدین منظور ۱۸ نفر از بازیکنان یکی از تیم‌های فوتبال لیگ برتر استان تهران (میانگین ۱/۲۶±۱۸/۷۷ سن سال، توده بدنی ۶/۹۹±۶۴/۰۷ کیلو گرم و قد ۵/۷۷±۱۷۴/۵۰ سانتی متر) که در دوره آماده‌سازی ویژه بودند به صورت هدفمند انتخاب شدند. در انتهای این دوره، و ابتدای دوره ۱۰ روزه کاهش بار تمرین سطوح خونی تستوسترون، کورتیزول و نسبت تستوسترون به کورتیزول ناشتا اندازه گیری شد، سپس آزمودنی‌ها به صورت تصادفی در دو گروه همگن تقسیم شدند. گروه تجربی اول (n=۹) برنامه کاهش بار به همراه مصرف روزانه ۱۰ گرم مکمل کراتین و گروه تجربی دوم (n=۹) تنها برنامه کاهش بار تمرین را به مدت ۱۰ روز انجام دادند و سپس پس آزمون انجام شد. برای بررسی اختلاف میانگین‌ها در پیش آزمون و پس آزمون هر گروه از آزمون t همبسته و به منظور مقایسه اختلاف میانگین‌های پیش آزمون و پس آزمون بین دو گروه از آزمون t مستقل استفاده شد.

نتایج پژوهش: کاهش معنادار میزان هورمون کورتیزول در هر دو گروه مشاهده شد؛ در حالی که تغییرات معناداری در میزان هورمون تستوسترون و نسبت تستوسترون به کورتیزول(T/C) مشاهده نشد، همچنین تغییرات معناداری بین دو گروه کاهش بار و ترکیب کاهش بار و مصرف مکمل کراتین در میزان هورمون تستوسترون، کورتیزول و T/Cمشاهده نشد.

نتیجه گیری: بنابرین، به نظر می‌رسد دوره کاهش بار تمرین در بازیکنان فوتبال می‌تواند آثار نسبتاً مطلوبی بر شاخص هورمون آنابولیک-کاتابولیک داشته باشد هرچند که مصرف مکمل کراتین در این دوره کاهش بار نمی‌تواند در اندازه این تغییرات تاثیر معناداری داشته باشد.

۱- مقدمه

تلاش ورزشکاران، مربیان و متخصصین علوم ورزشی همواره در جهت شناسایی عوامل تسهیل کننده و محدود کننده‌ی اجراهای ورزشی بوده است[۱۷،۲۱]. بازیکنان فوتبال مسافتي حدود ۱۰ کیلومتر را با ۷۰ تا ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی حداکثر انجام می‌دهند؛ همچنین ۱۴۰۰ تغییر در شدت فعالیت دارند. فعالیت طولانی مدتی با این شدت وابسته به گلیکوژن و سوبستراهای متابولیکی است. در یک مسابقه تکیه به هر کدام از سیستم‌های انرژی تغییر می‌کند. بدست آوردن تعادل مطلوب تمرینی مشکل است و وابسته به دانش ویژه در باره متابولیسم و تغییرات فیزیولوژیک ورزشکاران آن رشته ورزشی است[۱۷،۲۷]. میزان تستوسترون و کورتیزول پلاسما نشان دهنده واکنش‌های آنابولیکی و کاتابولیکی بافت‌ها است. همچنین نسبت تستوسترون به کورتیزول را به عنوان شاخص فشار تمرین بکار می برند[۸،۱۴].

افزایش برخی از شاخص‌های هورمونی در طی فعالیت‌های ویژه فوتبال یکی از سازگاری‌های تمرینی می‌باشد؛ همچنین فراخستگی[1] یا بیش تمرینی[2] نیز سازگاری‌های جبرانی مشابهی را نشان می‌دهند[۶،۱۱،۲۴]. ۱۰-۳۰ درصد از بازیکنان حرفه‌ای در انتهای فصل مسابقات دچار سندرم بیش تمرینی می‌شوند که مهم‌ترین پاسخ‌های آن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال(HPA) می‌باشد[۱۱]. از طرفی دوره استراحتی در انتهای فصل مسابقات در تمامی رشته‌های ورزشی متداول است، تا از پروتئولیز و کاهش عملکرد شاخص‌های فیزیولوژیک(هورمونی، سیستم ایمنی و...) ناشی از بیش تمرینی جلوگیری شود[۱۷]. کاهش بار تمرین[3] روشی برای رفع خستگی ایجاد شده بوسیله تمرینات طولانی مدت دوره آماده سازی، بدون کاهش سازگاری های تمرین است. کاهش تمرین نیازمند یک برنامه دقیق است که اغلب مترادف با به حداکثر رساندن عملکرد به کار می‌رود. یک کاهش تمرین مناسب نیازمند دانش عمیقی در مورد عملکرد ورزشی شامل فیزیولوژی، روانشناسی، تغذیه و جنبه‌های تکنیکی است[۱،۲۱]. یکی از عناصر کلیدی آماده سازی جسمانی ورزشکاران دوره کاهش تدریجی بار تمرین در هفته‌های قبل از شروع مسابقات است. به طور کلی، دوره کاهش تدریجی بار تمرین به عنوان دوره‌ای که چند روز تا هفته طول کشیده تعریف می‌شود که در آن حجم تمرین به تدریج کاهش می‌یابد در حالی‌که بخش دیگر تمرین یعنی شدت نسبتاً حفظ می‌شود. به هرحال، ترکیب حجم و شدت اعمال شده در دوره کاهش بار تمرین به نوع ورزش و سازگاریهای مورد نظر برای یک رقابت موفقیت آمیز ورزشی بستگی دارد[۱،۲۱].

بخش عمده پژوهش‌ها در مورد کاهش بار تمرین در متون علمی در ورزش‌ها و مسابقات انفرادی (عمدتا استقامتی شامل دویدن، شنا، دوچرخه سواری، قایقرانی و سه گانه) بوده است[۴،۱۶،۱۹،۲۰]. در حالی که، اطلاعات اندکی درمورد تاثیر کاهش بار تمرین در رشته های تیمی از جمله فوتبال وجود دارد[۱۱،۱۷].به هر حال، به نظر می‌رسد بازیکنان حرفه‌ای فوتبال که در رقابت‌های باشگاهی مداوم و تورنمنت‌های بین المللی شرکت می کنند، فرصت کمی برای کاهش تدریجی بار تمرین داشته و احتمال دارد در رقابت‌های مهم که عملکرد آن‌ها وابسته به ترکیبی از عوامل جسمانی، فیزیولوژیکی، روانی، تاکتیکی و تکنیکی است دچار اختلال شود[۱،۱۱،۱۷]. بنابراین، زمینه مطالعاتی کاهش بار تمرین در ورزش‌های تیمی به طور حتم نیاز به تحقیقات علمی بیشتری دارد. از سوی دیگر، تعداد زیادی از ورزشکاران از مکمل‌های غذایی نیروزا برای بهبود کیفیت و کمیت تمرینات و در واقع حفظ عملکرد خود در شرایط رقابتی استفاده می‌کنند. این احتمال وجود دارد که مواد مغذی

1- Overreaching
2- Overtraining
3- Tapering

اضافی بتواند هنگام تمرینات شدید برای ورزشکاران ضروری باشد[۲،۱۵،۲۹]. در واقع، در شرایط ویژه، مواد کمکی نیروزا می‌تواند آثار مثبتی بر عملکرد ورزشی، ترکیب بدنی و قدرت داشته باشد[۲،۳،۹،۱۳،۲۵]. با توجه به نیازهای متعدد فوتبال از جمله سرعت‌های شدید مکرر و پرش‌ها که بیشتر اوقات با دوره‌های کوتاه برگشت به حالت اولیه و در طول ۹۰ دقیقه انجام می‌شوند[۱،۱۷،۲۷]، بازیکنان فوتبال می‌توانند از مصرف مکمل‌های غذایی نیروزا از جمله کراتین بهره مند شوند[۱۷]. مصرف مکمل کراتین باعث افزایش مقدار فسفو کراتین عضله در حالت استراحت می شود که می تواند به عنوان انتقال دهنده فوری فسفات برای بازسازی ATP در طول فعالیت موثر باشد. افزایش کراتین در ورزشکاران باعث دسترسی به بار تمرینی بالاتر شده، خستگی تمرین را کاهش داده و عملکرد را بهبود بخشد[۲،۳،۲۳،۲۹]. یک دوره بارگیری کوتاه مدت مکمل کراتین (۵ تا ۷ روز) کراتین تام عضله را ۲۰ تا ۵۰ درصد افزایش می‌دهد[۹]. همچنین کراتین می تواند سنتز یا کاهش تجزیه پروتئین ها را افزایش دهد[۱۳]. عملکرد هماهنگ متابولیکی میان مکمل های غذایی نظیر کراتین و عوامل فیزیولوژیکی می تواند نقش مهمی در تقویت واکنش های هورمونی و بهبود اجرای ورزشی داشته باشد[۲۳،۲۸]. هرچند مطالعات اندکی در زمینه اثر مکمل کراتین بر تغییرات واکنش های هورمون های آنابولیک انجام گرفته شده است که نتایج آن‌ها با یکدیگر همسو نمی باشد[۲،۲۳،۲۴،۲۸]. با توجه به نیاز های جسمانی فوتبال و با توجه به آثار مفید مشترک در مورد کاهش بار تمرین و مصرف کوتاه مدت مکمل کراتین بر سازگاری‌های هورمونی در جهت بهبود عملکرد ورزشی، این موضوع جای بررسی دارد که آیا بازیکنان فوتبال که استفاده از هر دوی این استراتژی ها می توانند بر عملکرد شاخص هورمون آنابولیک-کاتابولیک و تعادل مثبت این هورمون‌ها موثر باشد یا خیر. از طرفی احتمالاً استفاده از مکمل ها و ملاحظات تغذیه ای می تواند تاثیر مثبتی طی دوره های کاهش بار تمرین بر تعادل هورمون های آنابولیکي-کاتابولیکي داشته باشد که نیاز به پژوهش های وسیع تر می باشد[۱۵،۲۹]. لذا با توجه به اهمیت و جایگاه ورزش فوتبال، اهمیت نقش کاهش بارتمرین بهمراه ملاحظات تغذیه ای بر شاخص های فیزیولوژیک و عملکردی ورزشکاران، نقش هورمون های آنابولیکي-کاتابولیکي بویژه تستوسترون و کورتیزول در تغییرات روحی-عملکردی ورزشکاران، هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر یک دوره کاهش بار تمرین به همراه مصرف مکمل کراتین بر پاسخ های هورمونی بازیکنان فوتبال مي باشد.

۲- روش‌شناسی

آزمودني‌هاي اين تحقيق ۱۸ نفر از بازیکنان فوتبال لیگ برتر استان تهران (میانگین سن ۱/۲۶±۱۸/۷۷سال، وزن ۶/۹۹ ±۶۴/۰۷ کیلوگرم و قد ۵/۷۷±۱۷۴/۵۰سانتی متر) بودند که به صورت نمونه گیری هدفمند انتخاب و به صورت همگن در دو گروه تجربي (گروه کاهش بار و مصرف مکمل کراتین و گروه کاهش بار تمرین به تنهایی) قرار گرفتند.

۲-۱- روش جمع آوری اطلاعات

ابتدا ۱۸ نفر از بازیکنان فوتبال شاغل در لیگ برترتهران که در فصل آماده سازی ویژه به سر می برند به صورت هدفمند انتخاب شدند. قبل از شروع کار، آزمودنی های تحقیق از کلیه مراحل اجرای تحقیق و فواید و عواقب احتمالی موجود در تحقیق آگاه شدند و رضایت نامه کتبی از آنها گرفته شد.

دوره کاهش بار در پایان دوره آماده سازی ٤ هفته ای این بازیکنان انجام شد. در این دوره محقق با هماهنگی که با مربیان تیم به عمل آورده بود حجم و شدت تمرینات جسمانی، تکنینکی و تاکتیکی بازیکنان تقریبا به طور یکسان در نظر گرفته شده بود، با این حال ، با توجه به محدودیت هایی که در کنترل حجم و شدت ورزشکاران رشته های تیمی وجود داشت احتمال افزایش اندک در شدت یا حجم برخی بازیکنان وجود داشت. بعد از اتمام دوره آماده سازی ویژه که ٤ هفته به طول انجامید. به منظور اندازه گيري متغيرهاي وابسته، از آزمودني ها ٢٤ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی در پیش آزمون و پس آزمون پس از یک دوره ۸تا۱۲ ساعتي عدم مصرف هرگونه مواد غذايي (بصورت ناشتا) خون گيري به عمل آمد. در هرمرحله ٥ سي‌سي خون از آزمودني ها گرفته شد و بلافاصله براي انجام عمليات آزمايشگاهي به آزمايشگاه تخصصي منتقل شدند. میزان تستوسترون و کورتیزول پیش و پس از دوره کاهش بار بوسیله کیت های مخصوص به روش آنزیماتیک (ELASA) اندازه گیری شدند. آزمودنی ها با آرایش تصادفی به دو گروه تجربی تقسیم شدند. گروه تجربي یک (n =۹) ، گروه کاهش بار تمرین همراه با مصرف مکمل کراتین بودند که روزانه ۱۰گرم مکمل کراتین در ۲ نوبت از روز (۱۰) به مدت ۱۰ روز مصرف کردند. گروه تجربی دوم فقط برنامه کاهش بار تمرین را انجام دادند. پس از۱۰ روز پس آزمون تکرار و کلیه اندازه گیری‌ها مطابق پیش آزمون انجام و ثبت شد. آزمودنی ها هنگام مکمل سازی رژیم غذایی عادی خودشان را حفظ کردند و در طی دوره تحقیق فقط مجاز بودند که در تمرینات تیم که در طول پژوهش انجام شد شرکت نمایند و آنها خواسته شد از انجام هرگونه فعالیت دیگر با شدت بیشتر از فعالیت روزمره زندگی خودداری کنند.

۲-۳- طرح کاهش بار تمرین

برنامه کاهش بار تمرین که در پایان دوره آماده سازی ویژه و قبل از شروع مسابقات اعمال شد عبارت بود از کاهش تواتر تمرینات از ٥ جلسه به ٤ جلسه در هفته ،کاهش حجم تمرین از ۹۰ دقیقه به ٦۰ دقیقه در هرجلسه همراه با حفظ شدت تمرینات.

مقدار تغییرات بار تمرین بر اساس شاخص توصیه شده اعمال کاهش بار در ورزشکاران تیمی در نظر گرفته شد [۱].تمرینات عادی قبل از کاهش بار تمرین عبارت بودند از ۱۵ دقیقه گرم کردن ، ۱۰ دقیقه حرکات تکنیکی فردی با توپ ، ۲۰ دقیقه

تمرینات تاکتیکی گروهی با شدت زیاد، ۱۵ دقیقه تمرینات سرعتی و پلایومتریک و ۲۰ دقیقه بازی فوتبال و در نهایت سرد کردن بدن در پایان جلسه تمرین به مدت ۱۰ دقیقه بود. در دوره کاهش بار، تمرین شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن، ۱۰ دقیقه تمرینات تاکتیکی گروهی با شدت زیاد،۱۰دقیقه تمرینات سرعتی و پلایومتریک، ۲۰ دقیقه بازی فوتبال و سرد کردن بدن به مدت ۱۰ دقیقه بود.

۲-٤- روش آماری

برای بررسی اختلاف میانگین‌ها در پیش آزمون و پس آزمون در هر گروه از آزمون t همبسته و به منظور مقایسه اختلاف میانگین‌های پیش آزمون و پس آزمون فاکتورهای مورد نظر در بین دو گروه از آزمون t مستقل استفاده شد. برای ارزیابی طبیعی بودن توزیع داده‌ها آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد.

۳- نتایج تحقیق

نتایج این پژوهش نشان دهنده کاهش معنادار در میزان هورمون کورتیزول پس آزمون نسبت به پیش آزمون در گروه‌های کاهش بار و گروه ترکیبی کاهش بار و مصرف مکمل کراتین بود (بترتیب p=۰/۰۲، p=۰/۰٤)؛ در حالی که تغییرات معناداری در میزان هورمون تستوسترون و نسبت تستوسترون به کورتیزول(T/C) مشاهده نشد (بترتیب p=۰/۳، p=۰/۰۷، p=۰/۰۹، p=۰/٦، p=۰/۷).

همچنین تغییرات معناداری بین دو گروه کاهش بار و ترکیب کاهش بار و مصرف مکمل کراتین در میزان هورمون تستوسترون، کورتیزول و T/Cبدست نیامد)(ترتیب p=۰/٦۲، p=۰/۱۵، p=۰/۷).

٤- بحث و نتیجه‌گیری

هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر مصرف مکمل کراتین در دوره کاهش بار تمرین هورمون‌های آنابولیکی و کاتابولیکی بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد کاهش بار تمرین منجر به کاهش غلظت کورتیزول سرمی می‌گردد و تاثیری بر سطوح تستوسترون ندارد. مصرف کردن کراتین نیز تاثیری بر هورمون‌های کورتیزول، تستوسترون و نسبت آن‌ها ندارد.

لذا انجام دوره کاهش بار به سبب آسودگی و برداشتن بار تمرین[1] تاثیری مثبتی بر کاهش استرس وارد شده بر بدن دارد. کاهش بار تمرین روشی برای رفع خستگی ایجاد شده بوسیله تمرینات طولانی مدت دوره آماده سازی، بدون کاهش سازگاری‌های تمرین است. به طور کلی، دوره کاهش تدریجی بار تمرین به عنوان دوره‌ای که چند روز تا هفته طول کشیده تعریف می‌شود که در آن حجم تمرین به تدریج کاهش می‌یابد در حالی‌که بخش دیگر تمرین یعنی شدت نسبتاً حفظ می‌شود. به هر حال، ترکیب حجم و شدت اعمال شده در دوره کاهش بار تمرین به نوع ورزش و سازگاری‌های مورد نظر برای یک رقابت موفقیت آمیز ورزشی بستگی دارد[۱،۲۱]. مطالعات نشان داده‌اند که کاهش بار تمرین از ۷ تا ۲۱روز باعث بهبود عملکرد می‌شود. از جمله عواملی که در این مورد نقش دارند شامل عوامل هماتولوژیکی، بیوشیمیایی و هورمونی، سیستم ایمنی و عوامل روحی-روانی نام برد [۵،۱۰،۱٦،۱۹،۲۳]. نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده کاهش معنادار بترتیب ۲۱ و ۱۱ درصدی در میزان هورمون کورتیزول خون ناشتایی پس آزمون نسبت به پیش آزمون در گروه‌های کاهش بار و گروه ترکیبی ۲۱ و ۱۱ درصدی در میزان هورمون کورتیزول خون ناشتایی پس آزمون نسبت به پیش آزمون در گروه‌های کاهش بار و گروه ترکیبی کاهش بار و مصرف مکمل کراتین بود؛ در حالی که افزایش بترتیب ۱۰ و ۸ درصدی در میزان هورمون تستوسترون مشاهده شد هر چند که تغییرات تستوسترون از لحاظ آماری معنادار نبود ولی قابل ملاحظه می‌باشد. تفاوت‌های بین گروهی تقریباً مشابه می‌باشد. دریسندرفر و همکاران (۲۰۰۲)، استینیکر و همکاران (۲۰۰۰)، موجیکا و همکاران (۲۰۰۲) و کاستیل و همکاران (۱۹۹۱) افزایش معنادار یا افزایش اندک(غیر معنادار) در میزان تستوسترون خون بدست آوردند[۵،۷،۲۰،۲٦]؛ در حالی که ایزکویردو و همکاران (۲۰۰۷)، کوتس و همکاران (۲۰۰۷) و موجیکا و همکاران(۲۰۰۰) تغییرات معناداری را گزارش نکردند[٦،۱٤،۱۹].

بونیفازی و همکاران (۲۰۰۰)، کاستیل و همکاران (۱۹۹۱) و کوتس و همکاران (۲۰۰۷) کاهش در میزان کورتیزول را گزارش کردند[٤،۵،٦]؛ در

جدول ۱ مشخصات پیکر سنجی آزمودنی‌ها (میانگین و انحراف استاندارد).

گروه	متغیر شاخص آماری	آزمودنی ها (تعداد)	سن (سال)	قد (سانتیمتر)	وزن (کیلوگرم)
کاهش بار تمرین+مکمل کراتین	میانگین	۹	۱۸/۱۱	۱۷۵/۶۶	۶۴/۴۱
	انحراف معیار	-	/۳۳	۶/۴۱	۶/۵۱
کاهش بار تمرین	میانگین	۹	۱۹/۴۴	۱۷۳/۳۳	۶۳/۷
	انحراف معیار	-	۱/۵۰	۵/۱۵	۷/۸۳

1- Tapering

حالی که پژوهش‌های موجیکا و همکاران (۲۰۰۰،۲۰۰۲) و ایزکویردو و همکاران (۲۰۰۷) تغییرات معناداری را بدست نیاوردند[۱۴،۱۹،۲۰]. میزان تستوسترون و کورتیزول پلاسما نشان دهنده واکنش‌های آنابولیکی و کاتابولیکی بافت‌ها است[۱۸]. بیشتر پژوهش‌های موازی با افزایش تستوسترون بهبود موثرتری را بدست آوردند[۵،۶،۲۱]. کاستیل و همکاران (۱۹۹۱) کاهش کورتیزول استراحتی به میزان ۳۰-۲۳ درصد و افزایش غلظت تستوسترون به میزان حدود ۲۲ درصد طی دوره‌های کاهش بارتمرین در مسابقات شنا را موازی با بهبود ۳/۲ درصدی عملکرد مشاهده کردند[۵]، همچنین دریسندرفر و همکاران (۲۰۰۲) افزایش ۵/۳ درصدی تستوسترون سرمی و کاهش ٤/٦ درصدی کورتیزول ادراری دوچرخه سواران را طی ۱۰ روز کاهش بار تمرین بهمراه بهبود ۱/۲ درصدی عملکرد را گزارش کردند[۷].

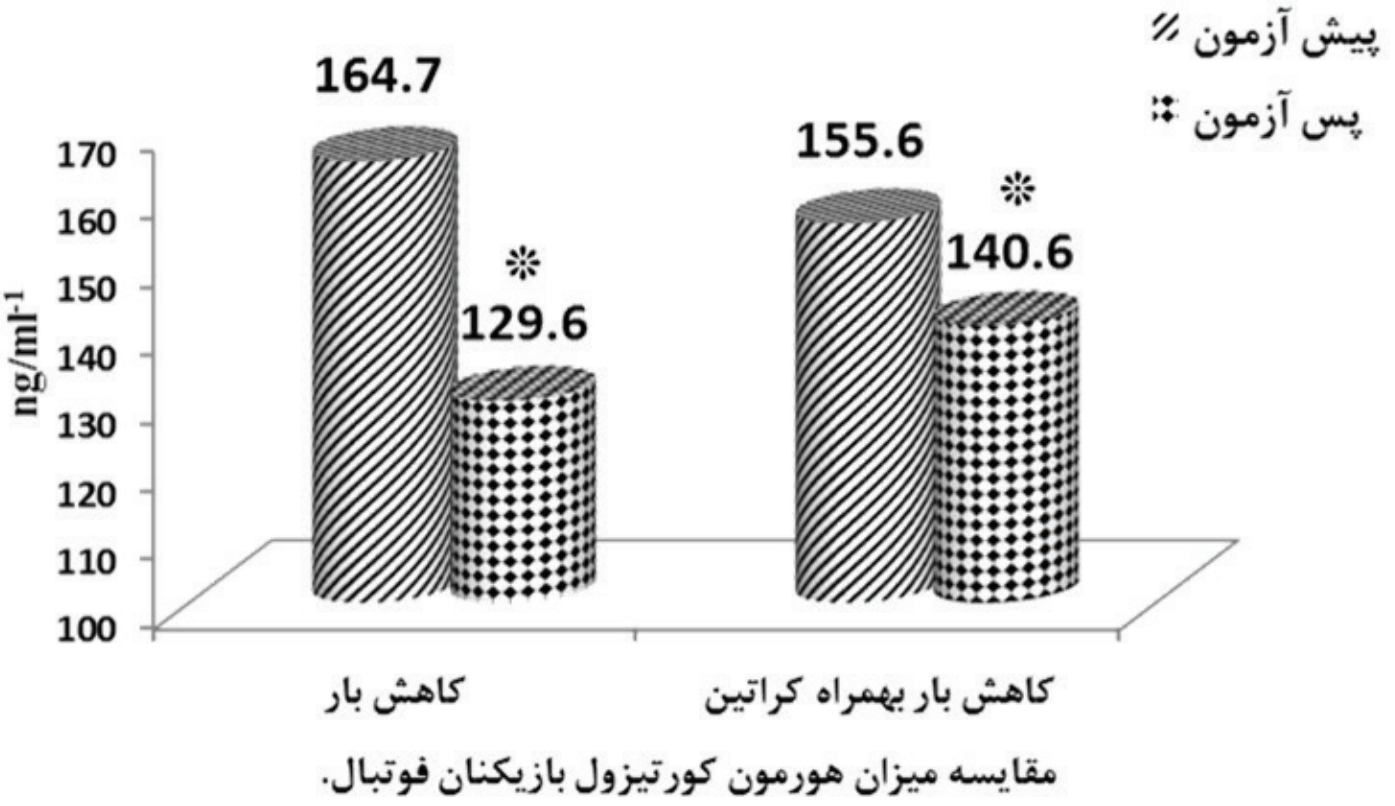
مکانیزم‌های افزایش تستوسترون بعد از یک دوره کاهش بار می‌تواند از طریق ارتباط افزایشی غده هیپوفیز و پاسخ فرایندهای زمانی شدت تمرین، اثرات مثبت تحریکی فعالیت آندورژنیک-آنابولیک در طی توالی‌های کاهش بار که بوسیله کاهش سطوح استرس فیزیولوژیک مشخص می شود، باشد[۱۶،۲۱].

هورت باگی و همکاران (۱۹۹۳) افزایش معنادار در میزان تستوسترون و نسبت تستوسترون به کورتیزول بهمراه کاهش در میزان کورتیزول را طی ۱٤روز کاهش بار گزارش کردند و پیشنهاد کردند که یک دوره کوتاه مدت کاهش بار و بی تمرینی می‌تواند نشان دهنده تحریک افزایشی در بافت‌های بازسازی شده باشد و این تغییرت هورمونی بازتابی از وضعیت بافت عضله یا پاسخ‌های برون‌ده عملکردی پیش از خون‌گیری باشد که وابسته به تحریک شدت و حجم تمرینات می‌باشد[۱۲]؛ درحالی‌که ایزکویردو و همکاران(۲۰۰۷) تغییرات معناداری در میزان هورمون‌های ذکر شده طی یک دوره ٤ هفته ای کاهش بار و بی تمرینی بدست نیاورند[۱٤].

از طرفی موجیکا و همکاران(۲۰۰۰) طی یک دوره ٦ روزه کاهش بار تغییرات معناداری را در میزان تستوسترون، کورتیزول و نسبت تستوسترون به کورتیزول (T/C) و عملکرد طی مسابقات دونده های ۸۰۰ متر بدست نیاوردند؛ در حالی که در پژوهشی دیگر در سال ۲۰۰۲ بر روی همین گروه افزایش در میزان تستوسترون را به موازات بهبود عملکرد را گزارش کردند[۱۹،۲۰].

بر این اساس پیشنهاد شده است که در تمرینات با شدت پایین و بلندمدت از تحریک فرایندهای آنابولیکی توسط تستوسترون ممانعت شده است؛ درحالی که در تمرینات شدید تناوبی این تحریک فرایندهای آنابولیکی تسهیل می‌شود[۲۱].

مصرف مکمل کراتین باعث افزایش مقدار فسفوکراتین عضله در حالت استراحت می‌شود که می‌تواند به عنوان انتقال دهنده فوری فسفات برای بازسازی ATP در طول فعالیت موثر باشد. همچنین، افزایش کراتین آزاد عضله در حالت استراحت می‌تواند بازسازی در طول وبعد از فعالیت را افزایش داده و همچنین انتقال انرژی را از میتوکندری به جایگاه‌هایی که ATP مصرف می شوند را تسهیل کند. از طرف دیگر، افزایش نقش تامپونی



مقایسه میزان هورمون کورتیزول بازیکنان فوتبال.

برای یون هیدروژن که در نتیجه‌ی آن از اسیدیته شدن سلول‌های عضلانی جلوگیری می‌کند، هم برای بازیکنان فوتبال مهم است. افزایش کراتین در ورزشکاران باعث دسترسی به بار تمرینی بالاتر شده، خستگی تمرین را کاهش داده و موجب هایپرتروفی عضله می شود که ممکن است عملکرد را بهبود بخشد[۲،۳،۲۱،۲۳،۲۵]. کراتین می تواند سنتز یا کاهش تجزیه پروتئین ها را افزایش دهد. بر این اساس احتمالاً می‌تواند در اثربخشی موثرتر دوره کاهش بار پس از فصل مسابقات یا یک دوره تمرینات با شدت یا حجم تمرینی بالا نقش داشته باشد[۱۳،۲۹].

عملکرد هماهنگ متابولیکی میان مکمل‌های غذایی نظیر کراتین و عوامل فیزیولوژیکی می‌تواند نقش مهمی در تقویت واکنش‌های هورمونی و بهبود اجرای ورزشی داشته باشد[۲۴،۲۹].

مطالعات اندکی در زمینه اثر مکمل کراتین بر تغییرات واکنش‌های هورمون‌های آنابولیک انجام گرفته شده است که نتایج آن‌ها با یکدیگر همسو نمی‌باشد[۲،۲۴،۲۸].

هرچند که در این پژوهش مصرف کوتاه مدت مکمل کراتین نتوانسته است تغییرات معناداری در دوره ۱۰ روزه کاهش بار بر عملکرد این هورمون‌ها داشته باشد. بطور کلی می‌توان نتیجه گرفت که مدل تمرینی (شدت، حجم و الگو تمرین) و دوره زمانی کاهش بار می‌تواند نقش موثرتری نسبت به مکمل‌های غذایی داشته باشد. هر چند این موضوع نیاز به بررسی‌های بیشتر و دقیق‌تری می‌باشد.

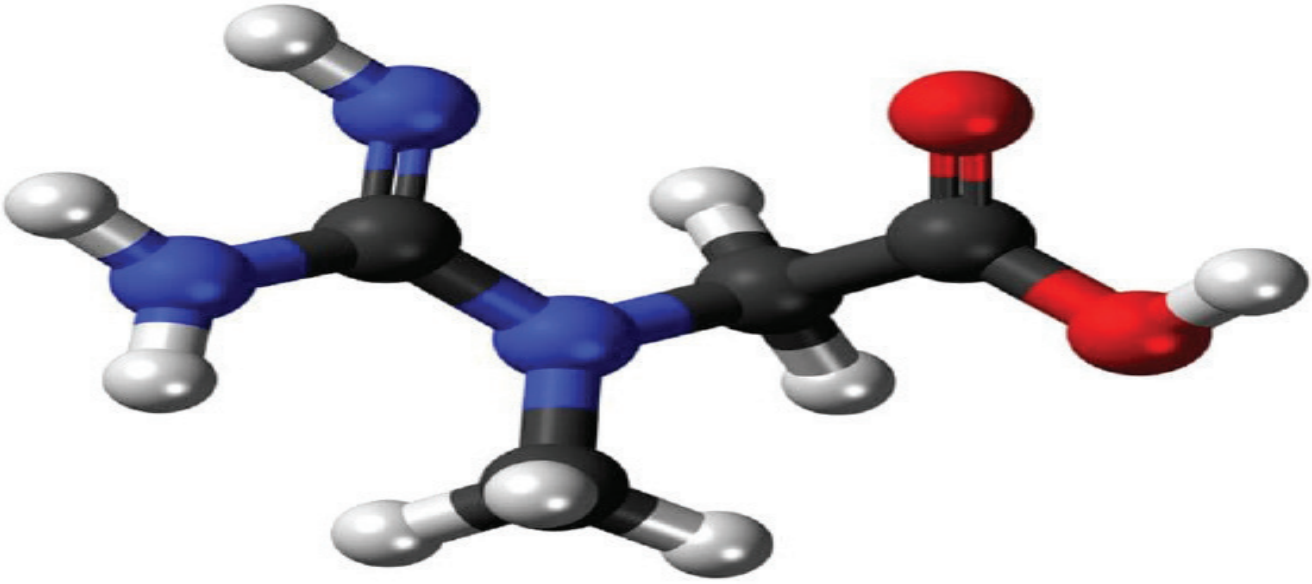
پژوهشگران از نسبت تستوسترون به کورتیزول(T/C) بعنوان یک شاخص مهم استرس تمرین استفاده کرده‌اند[۱۸،۲۱]. در پژوهش حاضر افزایش بترتیب ۲۶ و ۴۰ درصدی در نسبت تستوسترون به کورتیزول (T/C) خون ناشتایی پس آزمون نسبت به پیش آزمون در گروه‌های کاهش بار و گروه ترکیبی کاهش بار و مصرف مکمل کراتین بود؛ هر چند این تغییرات از لحاظ آماری معنادار نبود، ولی قابل ملاحظه می‌باشد؛ در حالی تفاوت‌های بین گروهی تقریباً مشابه می‌باشد.

کوتس و همکاران (۲۰۰۷) و دریسندرفر و همکاران (۲۰۰۲) افزایش معنادار در نسبت تستوسترون به کورتیزول بدست آوردند[۶،۷]: درحالی‌که ایزکویردو و همکاران (۲۰۰۷) و موجیکا و همکاران (۲۰۰۰،۲۰۰۲) تغییرات معناداری را گزارش نکردند[۱۴،۱۹،۲۰].

بیشتر پژوهش‌ها از نسبت تستوسترون و کورتیزول (T/C) در بررسي آسيب‌هاي عضلاني و تعادل آنابوليكي-كاتابوليكي استفاده كردند[۶،۱۱،۱۸،۲۴]. مارتینز و همکاران (۲۰۱۰) طي بررسي ميزان كورتيزول، تستوسترون و T/C بازيكنان نخبه بسكتبال در فصل رقابت تعادل آنابوليكي-كاتابوليكي مطلوبي را گزارش كردند و استفاده از نسبت تغييرات كورتيزول، تستوسترون و T/C در جلوگيري از ايجاد استرس و كنترل دوره‌هاي بازگشت به حالت اوليه را در طول فصل رقابت مفيد دانستند[۱۸].

جدول ۲ مقایسه تغییرات درون گروهی(آزمون t زوجی) تستوسترون، کورتیزول و T/C خون بازیکنان فوتبال

گروه	متغیر		میانگین(ng/ml^{-1})	انحراف معیار	درجه آزادی	مقدار t	مقدار p
تستوسترون	کاهش بار تمرین+مکمل کراتین	پیش آزمون	۸/۰۱	۳/۱۵	۸	۲/۰۴	۰/۰۷
		پس آزمون	۸/۸۸	۲/۷۴			
	کاهش بار تمرین	پیش آزمون	۶/۲۸	۲/۸۷	۸	۱/۰۶	۰/۳
		پس آزمون	۶/۸۳	۳/۵۷			
کورتیزول	کاهش بار تمرین+مکمل کراتین	پیش آزمون	۱۵۵/۶	۲۵/۷۴	۸	-۲/۳۲	۰/۰۴
		پس آزمون	۱۴۰/۶	۲۶/۶۶			
	کاهش بار تمرین	پیش آزمون	۱۶۴/۷	۴۴/۶۶	۸	-۲/۸۵	۰/۰۲
		پس آزمون	۱۲۹/۶	۳۵/۷۴			
T/C	کاهش بار تمرین+مکمل کراتین	پیش آزمون	۰/۰۵۱	۰/۰۱	۸	۲/۱۸	۰/۰۶
		پس آزمون	۰/۰۶۴	۰/۰۲			



۵- نتیجه‌گیری

بنابراین، به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد کاهش بار تمرین در ورزشکاران رشته‌های تیمی مانند فوتبال که دارای یک دوره آماده‌سازی نسبتاً کوتاه وشدید هستند می‌تواند آثار نسبتاً مطلوبی بر شاخص‌های آنابولیکی و تعادل آنابولیک-کاتابولیک داشته باشد هرچند که مصرف مکمل کراتین در این دوره کاهش بار نمی‌تواند در اندازه این تغییرات موثر باشد.

منابع

[۱] بومپا تئودور. اصول و زمانبندی تمرینات ورزشی. چاپ اول. مترجمان محمدرضا کردی ، محمد فرامرزی. تهران. انتشارات سمت.۱۳۸۷.

[۲] رحيمي رحمان، فرجي حسن، شيخ الاسلامي وطني داريوش. تأثير مصرف كوتاه مدت مكمل كراتين بر واكنشهاي هورموني در ورزش مقاومتي. مجله علوم تغذيه و صنايع غذايي ايران. ۱۳۸۹. ۳: ٤٦- ۳۹.

[۳] قراخانلو رضا، آقا علی نژاد حمید، خازنی علی، نیکویی روح ا...، رضائیان جعفر. تاثیر مصرف کوتاه مدت ۲۰ و ۳۰ گرم مکمل کراتین منوهیدرات بر اجراهای بی هوازی و لاکتات خون کشتی گیران. المپیک.۱۳۸۸. ۳۸: ۴۲-۲۷.

[4] Bonifazi M, Sardella F, Luppo C. Preparatory versus main competitions: differences in performances, lactate responses and pre-competition plasma cortisol concentrations in elite male swimmers. European Journal of Applied Physiology 2000; 82: 368-73.

[5] Costill DL, Thomas R, Robergs RA, Pascoe D, Lambert C, Barr S, Fink WJ. Adaptations to swimming training: influence of training volume. Medicine and Science in Sports and Exercise 1991; 23(3):371-7.

[6] Coutts AJ, Reaburn P, Piva TJ, Rowsell GJ. Monitoring for overreaching in Rugby league players. European Journal of Applied Physiology 2007; 99(3):313-24.

[7] Dressendorfer RH, Petersen SR, Lovshin SE, Hannon JL, Lee SF, Bell GJ. Performance enhancement with maintenance of resting immune status after intensified cycle training. Clinical Journal of Sport Medicine 2002; 12(5):301-7.

[8] Elloumi M, Maso F, Michaux O, Robert A, Lac G. Behaviour of saliva cortisol [C], testosterone [T] and the T/C ratio during a rugby match and during the post-competition recovery days. European Journal of Applied Physiology 2003; 90(1-2):23-8.

[9] Eckerson JM, Byll AA, Moore AG. Effecy of thirty days of creatine supplementation with phosphate salts on anaerobic working capacity and body weight in men. Journal of Strength and Conditioning Research 2008 ; 22:826-832.

[10] Flynn MG, Pizza FX, Boone JB, Andres FF, Michaud TA, Rodriguez JR. Indices of training stress during competitive running and swimming seasons. International Journal of Sports Medicine 1994; 15(1):21-6.

[11] Handziski Z, Maleska V, Petrovska S, Nikolik S, Mickoska E, Dalip M, Kostova E. The changes of ACTH, cortisol, testosterone and testosterone/cortisol ratio in professional soccer players during a competition half-season. Bratisl Lek Listy 2006;107(6-7):259-63.

[12] Hortobágyi T, Houmard JA, Stevenson JR, Fraser DD, Johns RA, Israel RG. The effects of detraining on power athletes. Medicine and Science in Sports and Exercise 1993; 25(8):929-35.

[13] Hoffman JR, Stout JR, Falvo MJ, Kang J, Ratamess NA. Effect of low-dose, short-duration creatine supplementation on anaerobic exercise performance. Journal of Strength and Conditioning Research 2005; 19(2):260-4.

[14] Izquierdo M, Ibañez J, González-Badillo JJ, Ratamess NA, Kraemer WJ, Häkkinen K, Bonnabau H, Granados C, French DN, Gorostiaga EM. Detraining and tapering effects on hormonal responses and strength performance. J Strength Cond Res 2007; 21(3):768-75.

[15] Margaritis I, Palazzetti S, Rousseau AS, Richard MJ, Favier A. Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. Journal of the American College of Nutrition 2003; 22: 147-56.

[16] Mäestu J, Jürimäe J, Jürimäe T. Hormonal reactions during heavy training stress and following tapering in highly trained male rowers. Hormone and Metabolic Research 2003 Feb;35(2):109-13.

[17] Manchado M, Sampaio-Jorge F, Dias N, Knifis FW. Effect of oral creatine supplementation in soccer players metabolism. International Journal of Sport Science 2008; 10(4): 44-58.

[18] Martínez AC, Seco Calvo J, Tur Marí JA, Abecia Inchaurregui LC, Orella EE, Biescas AP. Testosterone and cortisol changes in professional basketball players through a season competition. Journal of Strength and Conditioning Research 2010;24(4):1102-8.

[19] Mujika I, Goya A, Padilla S, Grijalba A, Gorostiaga E, Ibañez J. Physiological responses to a 6-d taper in middle-distance runners: influence of training intensity and volume. Medicine and Science in Sports and Exercise 2000 ;32(2):511-7.

[20] Mujika I, Goya A, Ruiz E, Grijalba A, Santisteban J, Padilla S. Physiological and performance responses to a 6-day taper in middle-distance runners: influence of training frequency. International Journal Sports Medicine 2002;23(5):367-73

[21] Mujika I. Tapering and Peaking for optimal performance. 1th edition. Human Kinetics 2009. 35-67.

22 Neary JP, Martin TP, Quinney HA. Effects of taper on endurance cycling capacity and single muscle fiber properties. Medicine and Science in Sports and Exercise 2003;35(11):1875-81.

23] Rawson ES, Persky AM. Mechanisms of muscular adaptations to creatine supplementation International. Sport Medicine Journal 2007; 8(2):43-53.

[24] Santhiago V, Da Silva AS, Papoti M, Gobatto CA. Effects of 14-week swimming training program on the psychological, hormonal, and physiological parameters of elite women athletes. Journal of Strength and Conditioning Research 2011; 25(3):825-32.

[25] Sheikholeslami D, Gaeini AA. The effect of creatine monohydrate on GH, testosterone and cortisol. Harekat 2006; 26: 127-138 [in Persian].

[26] Steinacker JM, Lormes W, Kellmann M, Liu Y, Reissnecker S, Opitz A, Baller B, Günther K, Petersen KG, Kallus KW, Lehmann M, Altenburg D. Training of junior rowers before world championships: Effects on perff formance, mood state and selected hormonal and metabolic responses. The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness 2000; 40(4):327-35.

[27] Stolen T, Chamari K, Wisloff J. Physology of soccer, An Update. Sports Medicine 2005; 35(6): 501-536.

[28] Volek JS, Boetes M, Bush JA, Putukian M, Sebastianelli WJ, Kraemer WJ. Response of Testosterone and Cortisol Concentrations to High-Intensity Resistance Exercise Following Creatine Supplementation. Journal of Strength and Conditioning Research 1997; 11(3):182-187.

[29] Volek JS, Ratamess NA, Rubin MR, Gómez AL, French DN, McGuigan MM, Scheett TP, Sharman MJ, Häkkinen K, Kraemer WJ. The effects of creatine supplementation on muscular performance and body composition responses to short-term resistance training overreaching. European Journal of Applied Physiology 2004;91(5-6):628-37.

پارامترهای ترمودینامیکی موثر در انعطاف‌پذیری مولکول‌های اسید نوکلئیک در محیط آب و آب-الکل

جلیل پرچکانی
دانشجوی دکتری بیوفیزیک
دانشگاه تربیت مدرس

۱- مقدمه

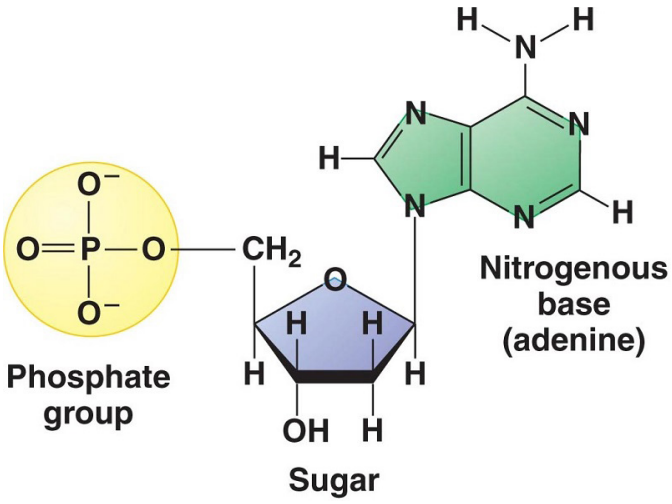
ابتـدا کمـی در مـورد خـود مولکول‌هـای ریبونوکلئیک‌اسـید و دئوکسـی ریبونوکلئیک‌اسید توضیح دهیم. در سال ۱۹۴۸ لینوس پاولینگ کشـف کـرد کـه بسـیاری از مولکول‌هـای پروتئینـی بـه شـکل یـک مارپیچ هسـتند و کم‌وبیـش شـکلی هماننـد فنر دارنـد. در سـال ۱۹۵۰ نیز اروین چارگف نشـان داد کـه اگرچـه آرایـش بازهـای موجـود در سـاختار DNA بسـیار گوناگـون اسـت، ولـی همـواره نسـبت باز آدنیـن و باز تیمیـن موجـود در آن بـا هـم برابـر اسـت و همیـن طـور نسـبت باز سـیتوزین با باز گوانیـن. ایـن دو یافتـه نقـش مهمـی را در آشـکار شـدن سـاختار مولکـول DNAداشـتند. در دهـه ۱۹۵۰ همچنـان رقابـت بـرای یافـتن سـاختار DNAادامـه داشـت. در دانشـگاه کمبریج فرانسـیس کریک و جیمـز واتسـون بر پایـه کارهـای پاولینـگ کوشـش داشـتند تـا بـا ارائـه مدل‌هـای فیزیکـی سـاختارهای احتمالـی ممکـن بـرای DNA را محـدود کننـد، تـا سرانجـام بـه سـاختار درسـت دسـت یابنـد. گـروه دیگـری دربرگیرنده موریـس ویلکینز و رزالیـن فرانکلین نیـز در کالـج کینـگ لندن هم‌زمـان سرگرم مطالعه DNA بـود؛ که درنهایت ایـن دو گـروه به‌صـورت جداگانـه بـه سـاختار DNA پـی بردنـد. رزالیـن الیـس فرانکلیـن جـوان پـس از سال‌ها تـلاش در راه علـم زیست‌شناسـی بـه علـت قـرار گرفـتن به‌طـور مسـتقیم در معـرض اشـعه x و کریسـتالوگرافی مبتـلا بـه سرطـان شـد و سرانجـام در سـال ۱۹۵۸ در ۱۶ آوریـل در چلسـی بعـد از دو سـال دسـت‌وپنجه نـرم کـردن بـا سرطـان و در سـن ۳۸ سـالگی درگذشـت. ۴ سـال بعـد از مـرگ فرانکلیـن واتسـون، کریـک و موریـس ویلکینز جایـزه نوبـل فیزیولـوژی و پزشـکی را از آن خـود کردنـد.

۲- مولکول DNA

در یـک سـلول فقـط و فقط از الگویی متشـکل از تنها چهار بخش مختلـف بـه نام نوکلئوتیدها سـاخته شـده اسـت. مجموعـه‌ای از بلوک‌هـا را تصـور کنیـد کـه تنهـا دارای چهـار شـکل سـازنده‌ی مختلـف هسـتند؛ یـا می‌توانیـم زبـان الفبایـی را تصـور کنیـم کـه تنهـا از چهـار حـرف تشکیل‌شـده باشـد. مولکـول DNA درواقـع به‌صـورت یک‌رشـته‌ی طولانـی از ایـن بلوک‌هـا یـا حـروف اسـت. هـر نوکلئوتیـد شـامل نوعـی قنـد (بـه نام دئوکسـی‌ریبوز) اسـت کـه در یک‌طـرف محـدود بـه یک گـروه فسـفات و در سـوی دیگـر نیـز محـدود بـه یک بـاز نیتروژنی اسـت. هـر نوکلئوتیـد از قسـمت‌های روبـه‌رو تشـکیل شـده اسـت: یـک مولکـول اسـید فسـفریک، یـک مولکـول قنـد پنـج کربنـی و یـک مولکـول بـاز نیـتروژن‌دار. در شـکل ۱ می‌توانیـد نحـوه‌ی چیدمـان سـاده‌ی بخش‌هـای موجـود در نوکلئوتیـد را مشـاهده کنیـد.

۱-۱- انواع ساختار DNA

مولکـول DNA در محیط *in vivo* بـه سـه فرم A، B و Z وجـود دارد. مولکول DNA می‌توانـد به‌صـورت راسـت‌گرد و چپ‌گـرد باشـد. فرم‌های A و B راسـت‌گرد و فرم Z چپ‌گـرد اسـت، همچنیـن در هـر دور کامـل مارپیـچ DNA، بـه ترتیـب ۱۰، ۱۱



شکل ۱. ساختار یک مولکول نوکلئوتید و اجزای تشکیل‌دهنده‌ی آن [۳]

و ۱۲ جفـت بـاز در فرم‌هـای A و B و Z وجـود دارنـد. ضمنـاً توپولـوژی شـیار اصلـی در فـرم A، عمیـق و پهـن، در فـرم B، عمیـق و باریـک و در فـرم Z، مسـطح اسـت و توپولـوژی شـیار فرعـی در فـرم A، باریـک و کم‌عمـق، در فـرم B، گسـترده و کم‌عمـق و در فـرم Z، عمیـق و باریـک می‌باشـد. نوع Z اصـولاً گفتـه می‌شـود کـه مطالعـه‌اش مشـکل اسـت چـون تنهـا تحـت شرایـط خـاص و در توالـی خـاص شـکل می‌گیـرد. مارپیچ‌هـای سـه‌تایی داخـل مولکولـی می‌توانـد بـا تخریـب مارپیـچ دو رشـته‌ای DNA در نواحـی دارای توالـی پلـی پوریـن در تکرارهـای آینـه‌ای تشـکیل شـود. یـک تکـرار آینـه‌ای توالـی مثـل AGGGGA اسـت کـه وقتـی از هـر طـرف خوانـده شـود توالـی بـازی یکسـانی دارد. تاخوردگـی مجـدد سـبب ایجـاد یـک ناحیـه سـه رشـته‌ای و یـک حلقـه تک‌رشـته‌ای در سـاختار می‌شـود کـه H-DNA نـام دارد. ویژگی‌هـای هـر سـه سـاختار در جـدول ۱ آورده شـده اسـت.

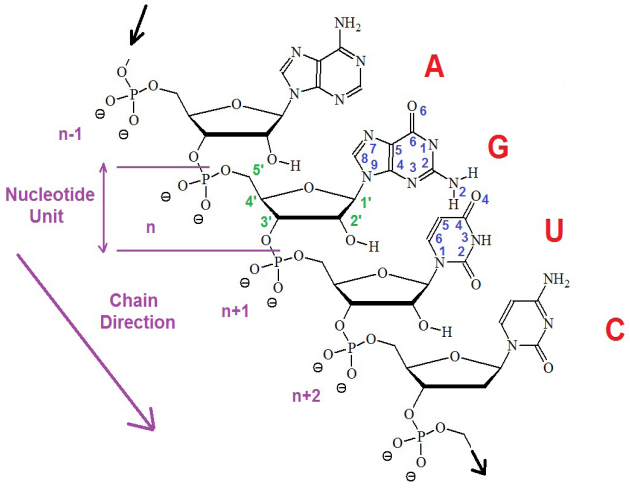
۲- مولکول RNA

مولکـول RNA اطلاعـات را از DNA به سیتوپلاسـم حمل می‌کنـد. بـه ایـن نوع RNAای کـه اطلاعـات را از DNA بـه ریبوزوم‌ها حمـل می‌کنـد، RNA پیک یـا پیامبر(mRNA) می‌گوینـد. نوعـی دیگـر RNA ناقـل (tRNA) اسـت کـه اسـیدهای آمینـه را به ریبوزوم منتقـل می‌کنـد تا ریبـوزوم، اسـیدهای آمینـه را بـر اسـاس اطلاعـات موجـود در mRNA کنـار یکدیگـر ردیـف کنـد. نـوع دیگـر، RNA ریبوزومـی (rRNA) اسـت کـه در سـاختار ریبوزوم‌ها شرکت دارد. هر نوکلئوتیـد در RNA دارای یـک قند ریبـوز بـا کربن‌هـای شماره‌گذاری‌شـده از ۱ تـا ۵ اسـت. یکـی از بازهـای آدنیـن، گوانیـن، سـیتوزین، یـا اوراسـیل بـه کربـن شـماره ۱ پیونـد می‌خـورد. بـه آدنیـن و گوانیـن، خانـوادهٔ پورین‌هـا (دو حلقه‌ای‌هـا) گفتـه می‌شـود و بـه سـیتوزین و اوراسـیل، خانـوادهٔ پیریمیدین‌هـا (تک‌حلقه‌ای‌هـا) گفتـه می‌شـود. گروه‌هـای فسـفات دارای یک‌بـار منفـی هسـتند کـه بـا پیونـد بـه آرانای، آن را یـک مولکـول باردار می‌سـازند. بازهـا ممکـن اسـت پیوندهـای هیدروژنـی میـان سـیتوزین بـا گوانیـن، آدنیـن بـا اوراسـیل و گوانیـن بـا اوراسـیل را تشـکیل دهنـد.

جدول ۱. شکل‌های مختلف مارپیچ DNA

شکل مارپیچ DNA	حالت A	حالت B	حالت Z
نسبت کلی	کوتاه و پهن	بزرگ و باریک	طویل و باریک
ارتفاع جفت باز	۳/۲ آنگستروم	۲۳/۳ آنگستروم	۸/۳ آنگستروم
قطر مارپیچ	۵/۲۵ آنگستروم	۷/۲۳ آنگستروم	٤/۱۸ آنگستروم
جهت چرخش	راست‌گرد	راست‌گرد	چپ‌گرد
خمیدگی باز نسبت به محور مارپیچ	+ ۱۹	- ۲/۱	- ۹
متوسط چرخش پروانه‌ای جفت باز	+ ۱۸	+ ۱٦	حدود ۰
موقعیت محور مارپیچ	شیار بزرگ	از میان جفت بازها	شیار کوچک
اندازه‌ی شیار بزرگ	بسیار باریک با عمق زیاد	پهن و عمق متوسط	پهن‌شده به روی سطح مارپیچ
اندازه‌ی شیار کوچک	بسیار پهن ولی کم‌عمق	باریک و عمق متوسط	بسیار باریک و خیلی عمیق
صورت‌بندی پیوند گلیکوزیدی	آنتی	آنتی	آنتی در C و سین در G
جفت باز در هر دور مارپیچ	۱۱	۱۰	۱۲

به هر حال برهمکنش‌های دیگری هم امکان‌پذیر می‌باشد، برای نمونه، پیوند یک گروه از بازهای آدنینی به همدیگر در یک برآمدگی یا تترالوپ GNRA که یک جفت باز گوانین-آدنینی دارد. ویژگی ساختاری مهم RNA که آن را از DNA جدا می‌سازد، داشتن یک گروه هیدروکسیل در کربن شمارهٔ ۲ قند ریبوز است. بودن این گروه به این می‌انجامد که در شکل هندسی زنجیرهٔ مارپیچی آن با DNA تفاوت پیدا کند. دومین نتیجه پیامد داشتن این گروه هیدروکسیل در کربن ۲، در نواحی انعطاف‌پذیری شکلی (تطبیقی) از یک مولکول RNA است (که در تشکیل یک مارپیچ دوتایی درگیر نیست)، RNA تنها با چهار باز توصیف می‌شود که عبارت‌اند از آدنین، سیتوزین، گوانین و اوراسیل، در RNA ریبوزومی، بسیاری از اصلاحات پس از رونویسی، در نواحی بسیار عملکردی اتفاق می‌افتد، ازجمله مرکز پپتیدیل ترانسفراز و زیر واحد رابط که نشان‌دهندهٔ این است که آن‌ها برای عملکرد عادی، مهم هستند. شکل عملکردی مولکول‌های تک‌رشته‌ای RNA، کاملاً مانند پروتئین‌ها، به یک ساختار سوم ویژه‌ای نیاز دارد. چارچوب (داربست) این ساختار توسط عناصر ساختاری دوم تولید می‌شود که همان پیوندهای هیدروژنی درون‌مولکولی هستند. این ساختار دوم به پدید آمدن چندین نمایهٔ قابل‌شناسایی مانند حلقه‌های سنجاق سری، شکم خوردگی‌ها و حلقه‌های درونی می‌انجامد. ازآنجایی‌که RNA باردار است،

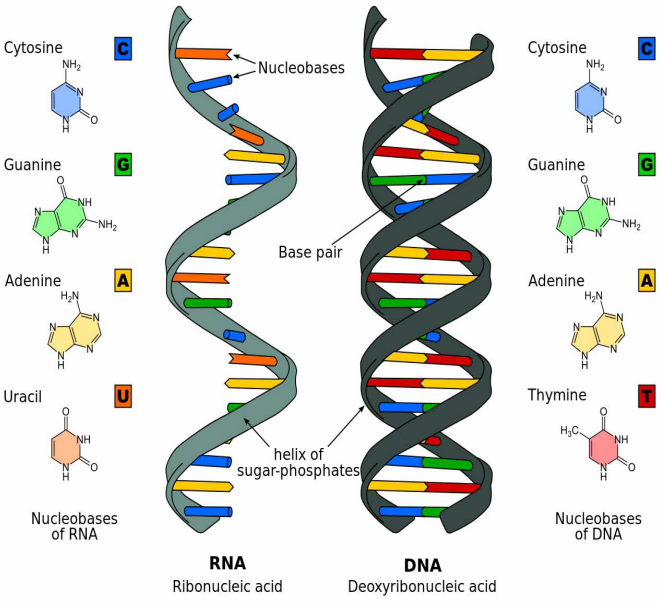


شکل ۲. ساختار ۴ نوع نوکلئوتید در ساختمان مولکول RNA [۵]

یون‌های فلزی ازجمله Mg^{2+} برای پایدارسازی بسیاری از ساختارهای دوم و سوم موردنیاز هستند.

۳- تفاوت RNA با DNA

ساختار شیمیایی RNA به ساختار شیمیایی DNA بسیار شبیه است، با دو تفاوت؛ یکی این‌که RNA دارای قند ریبوز است درحالی‌که DNA دارای قند کمی متفاوت‌تر به نام دئوکسی‌ریبوز است (گونه‌ای از ریبوز که یک اتم اکسیژن در آن کم است) و دوم این‌که RNA دارای باز یوراسیل است درحالی‌که به‌جای آن DNA دارای تیمین است. یوراسیل و تیمین، خواص جفت شدن بازی مشابهی دارند. برخلافDNA بیشتر مولکول‌های RNA تک‌رشته‌ای هستند. مولکول‌های تک‌رشته‌ای RNA ساختارهای سه‌بعدی بسیار پیچیده‌ای را دارند، زیرا آن‌ها مانند DNA دارای زنجیره دو رشته‌ای نیستند. البته RNA دو رشته‌ای هم در برخی از سلول‌ها وجود دارد. RNA درون یاخته‌های زنده توسط RNA-پلی‌مرازها ساخته می‌شود. RNA-پلی‌مرازها در رونویسی از روی یک الگوی

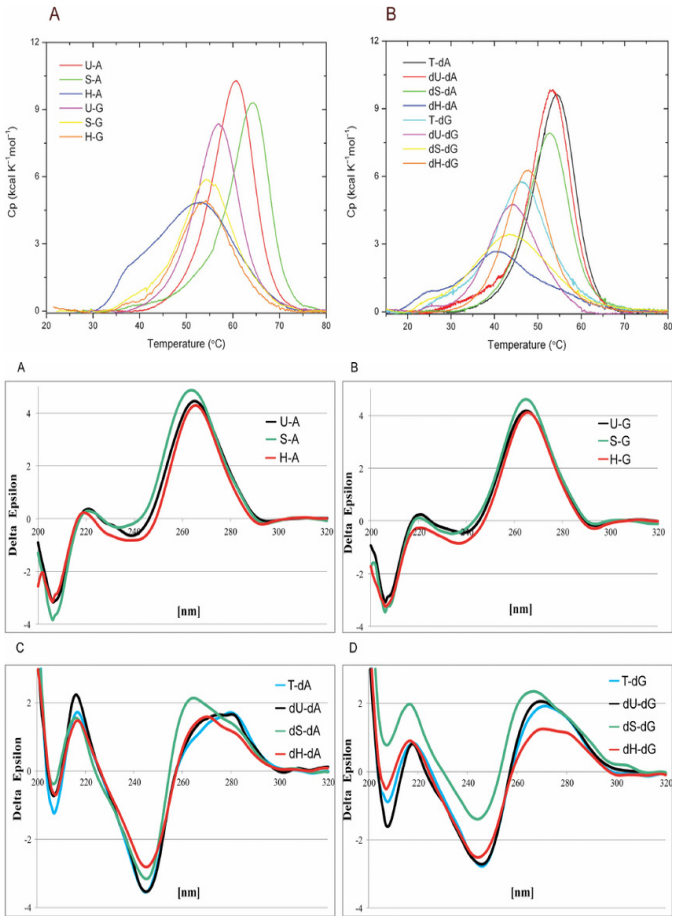


شکل ۳. ساختار فضایی مولکول‌های RNA و DNA و بازهای تشکیل‌دهنده‌ی آن‌ها [۷]

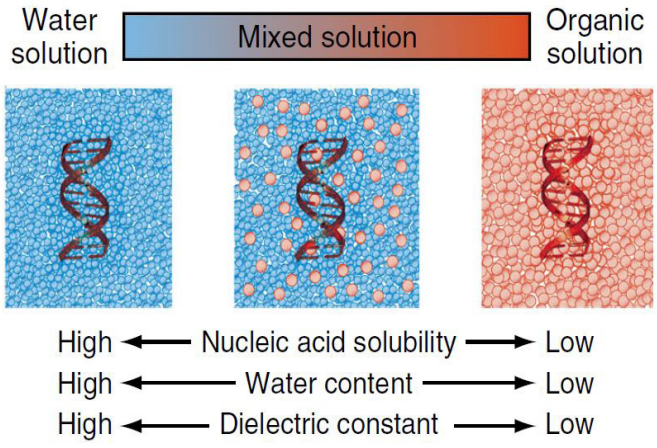
RNAیا DNA به یک‌رشته RNA تازه کارایی دارند.

RNA و DNA هر دو اسید نوکلئیک هستند، اما در سه چیز تفاوت دارند؛ نخست این‌که برخلاف DNA که دو رشته‌ای است، RNA یک مولکول تک‌رشته‌ای است و زنجیره بسیار کوتاه‌تری از نوکلئوتیدها را دارد. دوم اینکه درحالی‌که DNA دارای قند دئوکسی‌ریبوز می‌باشد، RNA دارای ریبوز است. سوم این‌که برخلاف DNA در RNA، باز تکمیل‌کننده آدنین، تیمین نیست بلکه اوراسیل می‌باشد که شکل متیله نشده‌ای از تیمین می‌باشد. بیشتر RNA های کارا از دیدگاه زیستی که شامل RNA کوچک هسته‌ای، RNA ریبوزومی و RNA جابجایی هستند. بسیاری معتقدند که RNA، باوجود ضعف‌های ساختاری آن، در وهله‌ی اول از این روند پیچیده به وجود آمده است. تا جایی که بسیاری از دانشمندان پیشنهاد داده‌اند که آن را باید اولین مولکول خود همانندساز روی زمین به شمار آوریم. RNA و DNA چون با یکدیگر تفاوت ساختاری و فضایی دارند در پارامترهای ترمودینامیکی ازجمله ظرفیت گرمایی و انرژی با همدیگر تفاوت دارند. شکل ۴ تفاوت‌های ظرفیت گرمایی انواع ساختارهای RNA و DNA دورشته‌ای را نشان می‌دهد. همچنین نشان می‌دهد که این مولکول‌ها دارای طول‌موج‌های جذب متفاوتی هستند.

انعطاف‌پذیری ساختاری اسیدهای نوکلئیک در بسیاری از فرآیندهای حیاتی زندگی نقش کلیدی ایفا می کند، مانند تکثیر و بیان ژن، رونویسی ژن، ترجمه پروتئین و تنظیم ژن.



شکل ۴. تفاوت ظرفیت گرمایی انواع ساختارهای RNA و DNA دورشته‌ای [۹]



شکل ۵. ساختار DNA دو رشته‌ای در سه محیط آبی، محیط آلی و محیط مخلوط آبی-آلی [۱۱]

DNA و RNA رفتار متفاوتی در محیط آبی و در محیط آب-الکل دارند؛ که یکی از پارامترهای کلیدی در تعیین رفتار کنفورماسیونی مولکول‌های موردنظر، ثابت دی‌الکتریک است.

۴- انعطاف‌پذیری ssDNA و ssRNA

زنجیره‌ی SS یک بخش ساختاری و عملکردی اساسی اسیدهای نوکلئیک است. برای مثال ساختارهای RNA عموماً از انواع مختلف حلقه‌ها (loops) و همچنین زنجیره‌های SS تشکیل‌شده است. انعطاف‌پذیری زنجیره‌ای SS نقش مؤثر در تعاملات آن با دیگر ماکرو مولکول‌ها، مانند پروتئین‌ها دارد. به‌طورکلی، تحت شرایط فیزیولوژیکی، زنجیره اسید نوکلئیک SS متشکل از توالی‌ها نسبتاً انعطاف‌پذیر عمومی است و می‌توانند به‌طور تقریبی با استفاده از زنجیرهای آزاد با سایر ماکرو مولکول‌ها میانکنش دهد.

عوامل مختلفی بر روی انعطاف‌پذیری زنجیره SS اسیدهای نوکلئیک تأثیر دارد؛ که شامل عوامل زیر است:

۱- اثر توالی (Sequence effect)

آزمایش‌های مختلف نشان داده‌اند که ساختار و انعطاف‌پذیری SS DNA / RNA به‌شدت به تعاملات درون زنجیره‌ای، مانند جفت شدن بازها (base-pairing) و جمع شدگی بازها (base stacking) بستگی دارد که بسیار با توالی اسید نوکلئیک ارتباط دارد. آزمایش‌های قبلی نشان داده است که پلی (dT) بسیار انعطاف‌پذیرتر از پلی (dC)، پلی (dG) و پلی (dA) است. درواقع، پلی (dT) به‌عنوان پلی الکترولیتی آزاد عمل می‌کند.

۲- اثر نمک و طول زنجیره‌ای (Effects of salt and chain length)

یون‌های موجود در محلول می‌توانند به SS DNA / RNA متصل شوند که می‌تواند انعطاف‌پذیری اسید نوکلئیک را با خنثی کردن بارهای منفی روی فسفات‌ها، افزایش دهند. آزمایش‌های متعدد نشان داده‌اند که RNA با افزایش غلظت

یون‌ها، ازجمله Na^{+}، انعطاف‌پذیرتر می‌شود. Mg^{2+} در توالی‌های طولانی‌تر کارآمدتر است و قوی‌تر عمل می‌کند و باعث افزایش انعطاف‌پذیری در توالی‌های طولانی‌تر SS DNA / RNA می‌شود.

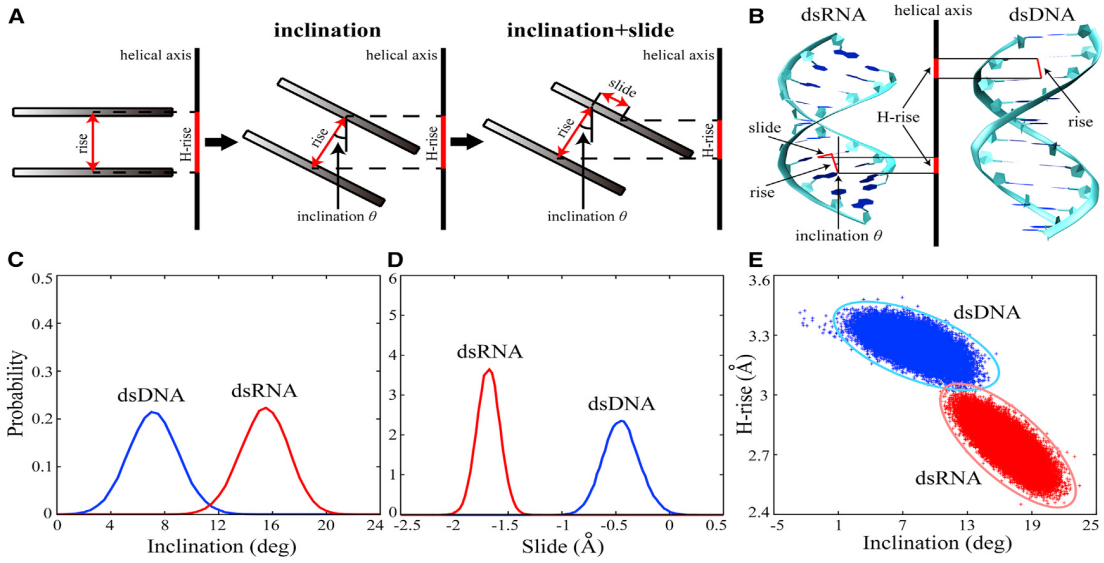
۵- انعطاف‌پذیری RNA و DAN دو رشته‌ای در محیط آبکی

زیست‌شناس‌های تجربی بر این باورند که یکی از معماهای مربوط به سفتی DNA را کشف کرده‌اند: چه مقدار از سفتی مولکول DNA به نیروهای الکتروستاتیک و چه مقدار از آن به ساختار فیزیکی مولکول مربوط است. DNA دو رشته‌ای یکی از سفت‌ترین مولکول‌های طبیعی است. انعطاف‌پذیری این مولکول همواره مورد سؤال زیست‌شناسان بوده است، زیرا این ساختار بسیار بلند باید پیچ‌خورده و فشرده شود تا درون‌هسته سلول جای بگیرد. گارگین پاپویان از دانشگاه کالیفرنیای شمالی می‌گوید: «فشرده‌سازی DNA در حوزه‌هایی همچون ویروس‌شناسی که در آن DNA باید درون پوسته ویروس جای بگیرد و یا ژن‌درمانی که مستلزم یافتن راه‌هایی برای بسته‌بندی و رسانش DNA است، از اهمیت بالایی برخوردار است». دو عامل مهم مسئول سفتی مولکول DNA هستند. ازنظر مکانیکی جفت‌باز سازنده مولکول DNA چنان به هم فشرده‌شده هستند که موجب ایجاد سفتی در ساختار این مولکول می‌شوند. از طرف دیگر، مولکول DNA به دلیل وجود گروه‌های فسفات، دارای بار منفی در سرتاسر خود می‌باشد. نیروی دافعه الکتروستاتیک که میان این بخش‌های دارای بار منفی وجود دارد، از تا خوردن مولکول و نزدیک شدن بخش‌های مختلف آن به یکدیگر جلوگیری می‌کند. میزان نقش هر یک از این دو عامل در سفتی مولکول DNA همواره موردبحث بوده است. پژوهشگران در آزمایش‌های خود مشاهده کردند که مولکول DNA خنثی‌شده بسیار انعطاف‌پذیرتر از مولکول باردار است. پاپویان می‌گوید این مطالعات ما نشان می‌دهند که نقش نیروهای الکتروستاتیکی و نیروهای غیر الکتروستاتیکی در سفتی DNA کم‌وبیش یکسان است.

انعطاف‌پذیری RNA و DAN دو رشته‌ای dsRNA و dsDNA برای عملکرد بیولوژیکی آن‌ها بسیار مهم است. آزمایش‌های اخیر نشان داده‌اند که انعطاف‌پذیری dsRNA و dsDNA در جنبه‌های کشش و کشش زاویه‌ای متفاوت است. اگرچه مطالعات مختلفی برای درک انعطاف‌پذیری dsRNA و dsDNA انجام‌شده است، هنوز درک عمیق از تفاوت‌های متمایز در انعطاف‌پذیری آن‌ها وجود ندارد. بااین‌حال مطالعات تئوری و تجربی انجام‌شده ازجمله روش DSC نشان می‌دهد که مولکول dsDNA منعطف‌تر از مولکول dsRNA در محیط آبکی است و مولکول dsRNA دارای حالت rigid است. در دئوکسی‌ریبوز موجود در DNA هیچ گروه هیدروکسیلی به حلقه پنتوزی در جایگاه ۲ پیوند ندارد. این گروه‌های هیدروکسیلی موجود در RNA، پایداری RNA را کمتر از پایداری DNA می‌کند؛ زیرا داشتن گروه هیدروکسیل، ریبوز را برای واکنش آبکافت آماده‌تر می‌سازد. RNA و DNA ظاهراً ازنظر ساختار کاملاً مشترک و مشابه هستند و شاید RNA همانند یک طرف نردبان DNA به نظر می‌رسد؛ اما نکته‌ی مهم این است که RNA شکننده‌تر و دارای قابلیت انعطاف کمتری نسبت به DNA است و به‌احتمال‌زیاد به همین دلیل است که DNA درنهایت قادر به شکل دادن ژن‌های ما شده است. برای به دست آوردن میزان پارامترهای الاستیکی مایکروسکوپی یا انعطاف‌پذیری RNA و DNA می‌توان از این فرمول استفاده کرد که با جایگزینی پارامترهای موجود در معادله، مشخص می‌شود که DNA بسیار منعطف‌تر از RNA است.

$$K = k_B T L_0 V^{-1};$$
$$= k_B T L_0 \begin{pmatrix} \langle \Delta L^2 \rangle & \langle \Delta L \times \Delta \Phi \rangle \\ \langle \Delta L \times \Delta \Phi \rangle & \langle \Delta \Phi^2 \rangle \end{pmatrix}^{-1}$$

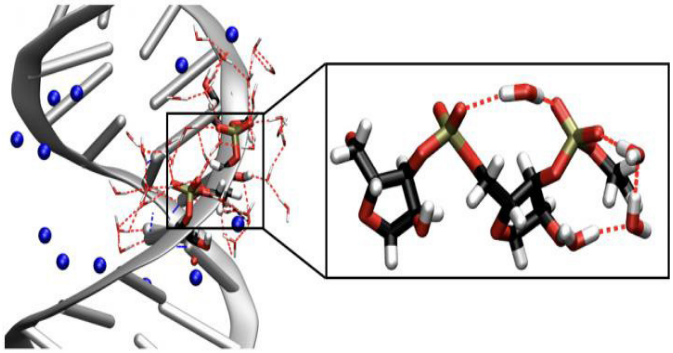
یکی از تفاوت‌های dsRNA و dsDNA در بحث انعطاف‌پذیری، تفاوت آن‌ها در مقادیر H-rise است. همان‌طور که شکل ۶ و قسمت‌های A و B نشان می‌دهند مقادیر H-rise برای مولکول‌های dsRNA و dsDNA متفاوت است.



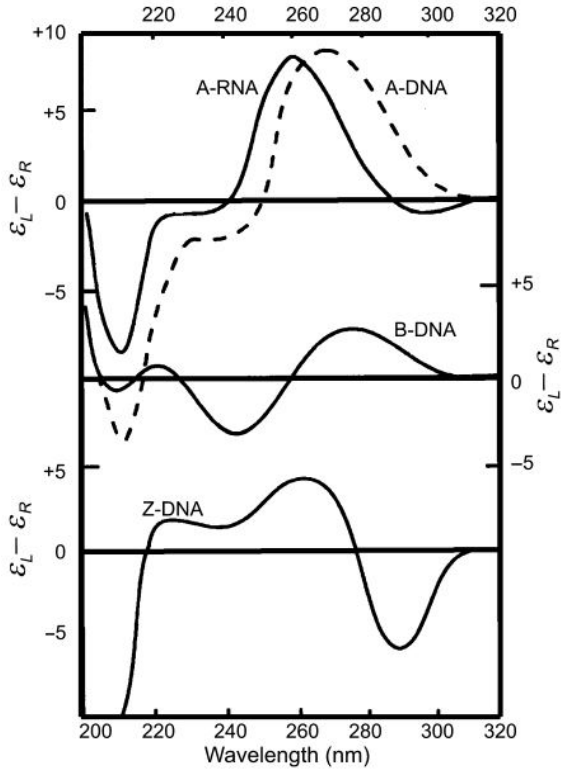
شکل ۶. تفاوت مقادیر H.rise برای مولکول‌های dsRNA و dsDNA [۱۳]

ریبونوکلئیک‌اسید (RNA) یک عنصر اساسی سلول‌های بیولوژیک است. درحالی‌که دزوکسی ریبونوکلئیک‌اسید (DNA) به‌عنوان حامل اطلاعات ژنتیکی عمل می‌کند. RNA عملکرد بیوشیمیایی بسیار پیچیده‌ای دارد؛ که شامل انتقال اطلاعات در قالب mRNA، عملکرد کاتالیزوری RNA در ریبوزوم‌ها و رمزگذاری اطلاعات ژنتیکی در ویروس‌ها است. RNA شامل یک ستون تشکیل‌شده از گروه‌های فسفات و قند است. چنین دنباله‌ای می‌تواند به‌عنوان یک‌رشته و یا دو رشته وجود داشته باشد. هر دو فرم تک‌رشته‌ای و دو رشته‌ای RNA در پوسته آب جاسازی‌شده و گروه‌های فسفات و قند آن‌ها نقاط اتصال متمایز برای مولکول‌های آب هستند. تعاملات RNA و آب و نقش آن‌ها برای تشکیل ساختارهای سه‌بعدی RNA به‌اندازه کافی قابل درک نیست و همچنان نیاز به آزمایش‌های زیادی دارد. لازم به ذکر است که در محیط آبی DNA انعطاف‌پذیری بیشتری از RNA دارد چون مولکول‌های RNA با مولکول‌های آب پیوند هیدروژنی می‌دهد و این عامل باعث می‌شود که RNA ساختار rigid تری داشته باشد. شکل ۷ به‌صورت شماتیک میانکنش هیدروژنی بین مولکول‌های آب و مولکول RNA را نشان می‌دهد.

نوکلئوتیدها بلوک‌های تشکیل‌دهنده‌ی ساختمان مولکول‌های غیرمتقارن اسیدهای نوکلئیک (DNA/RAN) هستند. قندهای موجود در ساختار اسیدهای نوکلئیک دارای عدم تقارن ذاتی هستند. علاوه بر این ساختمان بازهای موجود در ساختار اسیدهای نوکلئیک بسیار مهم است. درواقع میزان دورنگ نمایی دورانی (CD) اسیدهای نوکلئیک به‌شدت به هندسه‌ی انباشتگی بازها (stacking geometry) بستگی دارد. به‌طوری‌که میزان دورنگ نمایی دورانی دی نوکلئونید فسفات به ازای هر آدنوزین ۱۰ برابر بیشتر از میزان دورنگ نمایی دورانی آدنوزین است. میزان دورنگ نمایی برای مولکول‌های A-DNA، A-RNA B-DNA و ZDNA در شکل ۸ و در محدوده‌ی طول‌موجی ۲۰۰ تا ۳۲۰ نانومتر آورده شده است؛ که در شکل به‌خوبی مشخص است که هرکدام از ساختارهای مذکور نقاط بیشینه و کمینه مربوط به خود را دارند. در مقایسه‌ی انعطاف‌پذیری DNA ی دورشته‌ای (A-DNA) و RNA ی دورشته‌ای (A-RNA) در نمودار مشخص است که میزان Ellipticity برای DNAی دورشته‌ای بیشتر است و درنتیجه این مولکول نسبت به RNAی دورشته-



شکل ۷. میانکنش هیدروژنی مولکول‌های آب با مولکول RNA [۱۵]



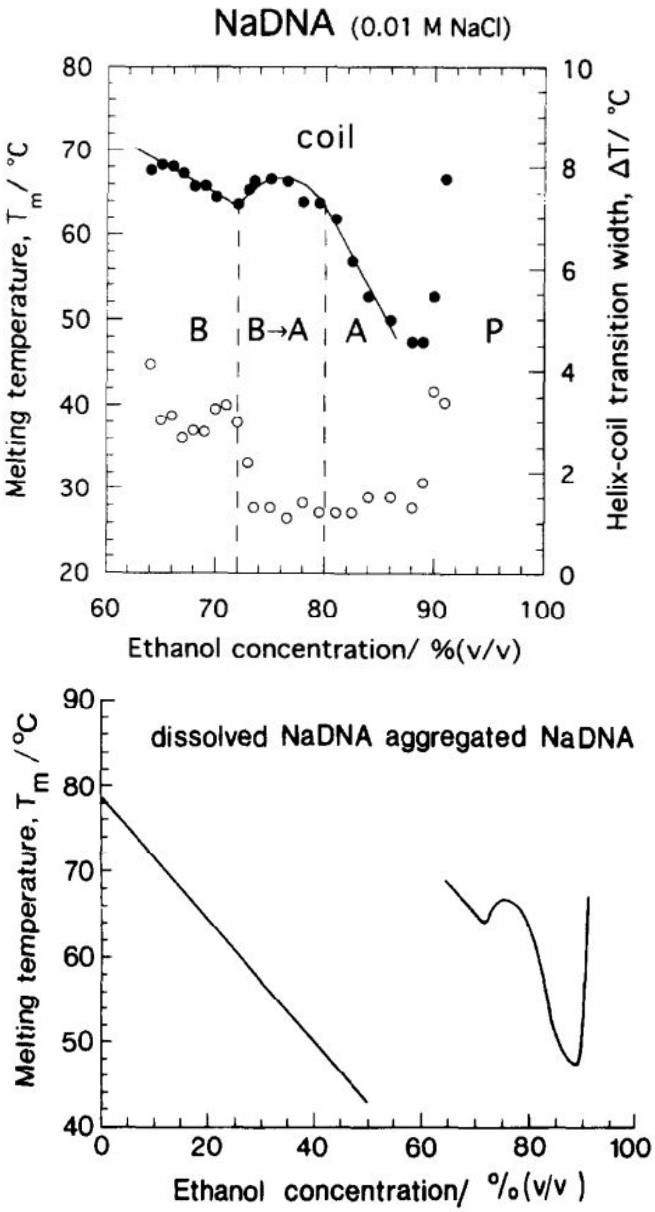
شکل ۸. میزان elipticity برای DNA و RNA دورشته‌ای [۱۶]

ای انعطاف‌پذیری بیشتری دارد.

مولکول‌های آب همیشه ترجیح‌شان این است که با همدیگر پیوند هیدروژنی دهند. لذا وقتی مولکول‌های DNA و RNA وارد محیط آبی می‌شوند مولکول‌های آب تمایل با میانکش با آن‌ها ندارند. بااین‌حال وجود عامل هیدروکسیل در ساختار قند ریبوز در مولکول RNA باعث می‌شود که RNA با مولکول‌های آب پیوند هیدروژنی دهد. لذا در محیط آبکی مولکول DNA منعطف‌تر از مولکول DNA است.

۶- انعطاف‌پذیری RNA و DAN دو رشته‌ای در محیط آب-الکل (پنجاه-پنجاه)

در محیط آبی وقتی غلظت آب کاهش می‌یابد و مثلاً به ۷۵درصد می‌رسد B-DNA تبدیل به A-DNA می‌شود. در محیط اتانول خالص و غلظتی که اتانول ۸۵درصد است فرم A-DNA تثبیت می‌شود؛ که علت تثبیت A-DNA توسط اتانول به علت هیدراتاسیون در شیار کوچک backbone مولکول DNA و حضور پیوندهای بین حلقه‌ای و همچنین هیدراتاسیون گسترده در سراسر شیار بزرگ است. اتانول دارای دی‌الکتریک بالاتر از آب است و بنابراین آب را از اسید نوکلئیک جدا می‌کند و اسید نوکلئیک آب را از دست می‌دهد. علاوه بر این اگر محلول ما دارای یون‌های با بار مثبت باشد یون‌های مثبت می‌توانند به بارهای منفی اسیدهای نوکلئیک بچسبند و تولید انواع فرم‌های نمک را کنند. نکته‌ای که مهم است این است که اگر اتانولی وجود نداشته باشد که مولکول‌های آب را از یون‌های منفی اسیدهای نوکلئیک جدا کند، بارهای مثبت امکان دسترسی به گروه‌های فسفات در DNA را ندارد، زیرا آن‌ها توسط مولکول‌های آب احاطه‌شده‌اند. پس با این

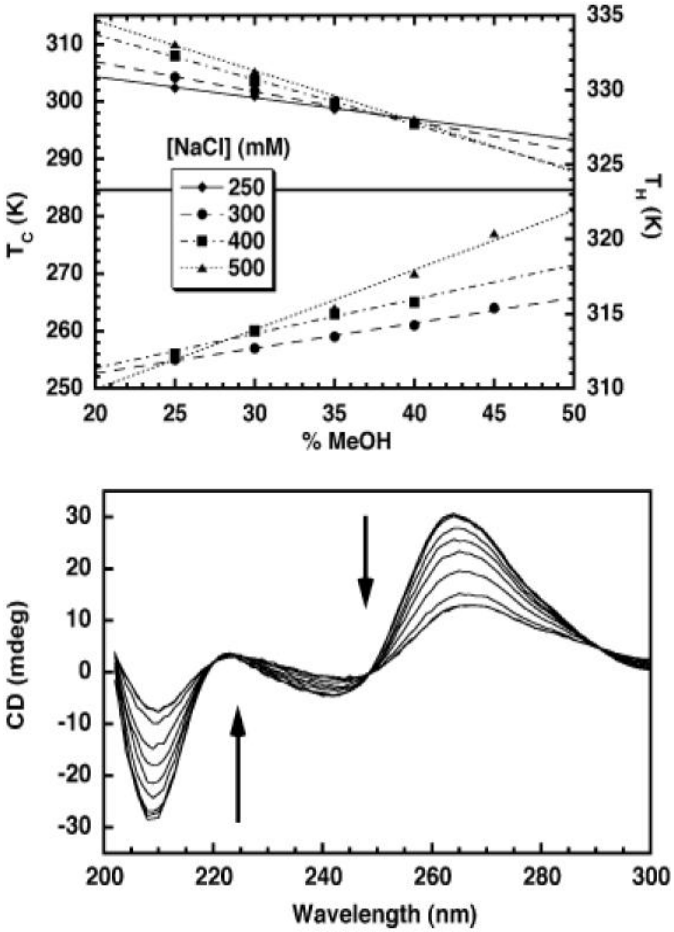


شکل ۹. دناتوره شدن ساختار DNA با افزایش غلظت الکل محیط آبی[۱۸]

توضیحات واردکردن مولکول‌های RNA و DAN دو رشته‌ای به محیط دارای الکل (که می‌تواند ۵۰درصد هم باشد) باعث می‌شود که ساختار دو رشته‌ای RNA و DAN ازهم‌گسیخته شود و این مولکول‌ها ساختار دوم خود را از دست خواهند داد. همان اتفاقی که در محیط آزمایشگاه رخ می‌دهد و اضافه کردن الکل ساختار RNA و DAN را از هم می‌پاشد. پس به‌طورکلی واردکردن RNA و DAN دو رشته‌ای به محیط دارای الکل باعث می‌شود که این ساختارها ساختار منظم و فشرده خود را از دست دهند و منعطف‌تر شوند. به‌طورکلی می‌توان گفت که افزوده شدن میزان الکل به محیط پیرامون مولکول DNA موجب دناتوره شدن مولکول DNA می‌شود و درنتیجه میزان T_m مولکول DNA کاهش می‌یابد.

در رابطه با مولکول RNA نیز افزایش میزان غلظت الکل (متانول یا اتانول) در حلال، باعث دناتوره شدن و از دست رفتن ساختار آن می‌شود و مولکول انعطاف‌پذیری خود را از دست می‌دهد. شکل ۱۰ به‌خوبی نشان می‌دهد که مولکول RNA با افزایش غلظت متانول انعطاف‌پذیری خود را از دست می‌دهد.

اما اینکه در محیط آب-الکل (پنجاه‌پنجاه) انعطاف‌پذیری RNA بیشتر یا DNA؟ پاسخ این سؤال در این مفهوم است که RNA چون دارای گروه هیدروکسیل در قند ریبوز خود است با مولکول‌های الکل (متانول یا اتانول) موجود در محلول میانکنش هیدروژنی برقرار می‌کند و همین عامل باعث می‌شود که در این محیط مولکول RNA دیرتر از مولکول DNA دناتوره شود. در واقع در محیط الکل ۵۰درصد RNA از این نظر انعطاف‌پذیری بیشتری دارد که دیرتر از مولکول DNA دناتوره می‌شود؛ که دلیل این امر پیوند هیدروژنی عامل هیدروکسیل مولکول RNA با مولکول‌های آب است.



شکل ۱۰. کاهش انعطاف‌پذیری مولکول RNA با افزایش غلظت متانول [۲۱]

منابع

[1] Pjpers TFJ, Mathot VBF, Goderis B, et al. High-speed calorimetry for the study of the kinetics of (de)vitrification, crystallization, and melting of macromolecules.

[2] Macromolecules 2002;35:3601– Gray AP. Thermochim Acta 1970;1:563.

[3] https://jalalisah.iut.ac.ir/

[4] Lab of the Government Chemist (LGC), Queens Road, Teddington, Middlesex. TW11 0LY (www.lgc.co.uk).

[5] https://www.pinterest.com/pin/506655026809583518/

[6] Donovan JW. Phase transitions of the starch-water system. Biopolymers 1979;18(2):263–275.

[7] https://en.wikipedia.org/wiki/Nucleic_acid.

[8] Wunderlich B. Reversible crystallization and the rigid-amorphous phase in semicrystalline macromolecules. Prog Polym Sci 2003;28(3):383–450.

[9] MoynihanCT,Macedo PB,Montrose CJ, et al.Thermodynamic and transport properties of liquids near the glass transition temperature. Structural relaxation in vitreous materials. Ann New York Acad Sci 1976;279:15–35.

[10] Gordon M, Taylor JS. Ideal copolymers and the second-order transitions of synthetic rubbers. I. Noncrystalline copolymers. J Appl Chem 1952;2:493–500.

[11] The structural stability and catalytic activity of DNA and RNA oligonucleotides in the presence of organic solvents. Shu-ichi Nakano.

[12] Ellis TS, Karasz FE, ten Brinke G. The influence of thermal properties on the glass transition temperature in styrene/divinylbenzene network-diluent systems. J Appl PolymSci 1983;28(1):23–32.

[13] Understanding the Relative Flexibility of RNA and DNA Duplexes: Stretching and Twist-Stretch Coupling. Lei Bao.

[14] Reading M, Luget A, Wilson R. Modulated differential scanning calorimetry. Thermochim Acta 1994;238(1–2):295–307.

[15] Reading M, Hourston DJ. Modulated Temperature Differential Scanning Calorimetry: Theoretical and Practical Applications in Polymer Characterisation. Berlin: Springer, 2006.

[16] Schawe JEK, Hoehne GWH. The analysis of temperature modulated DSC measurements by means of the linear response theory. Thermochim Acta 1996;287(2):213–223.

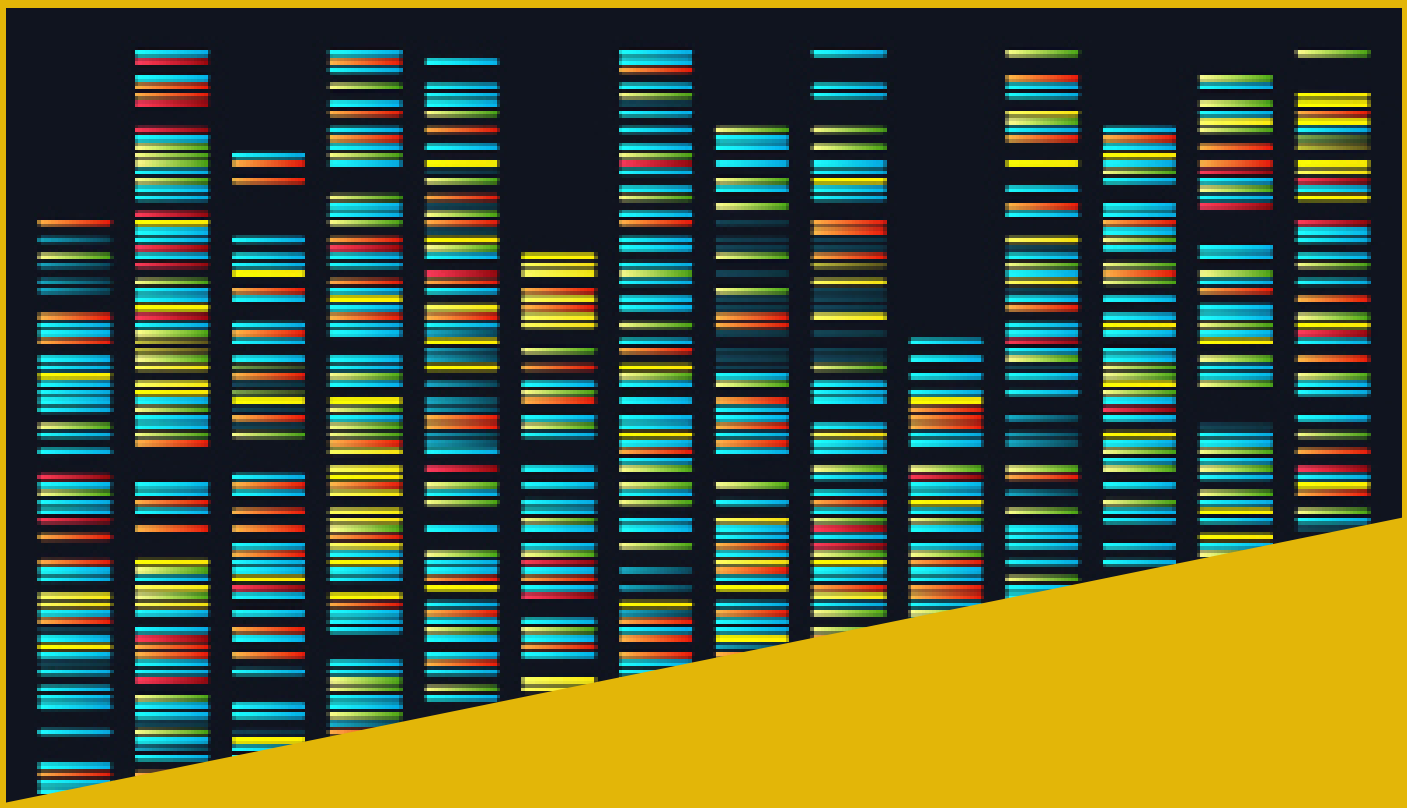
[17] Schawe JEK.Modulated temperature DSC measurements: the influence of the experimental conditions. Thermochim Acta 1996;271:127–140.

[18] Cassel B. A stepwise specific heat technique for dynamic DSC. Am Lab 2000;32(1):23–26.

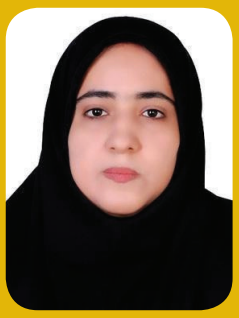
[19] Merzlyakov M, Schick C. Step response analysis in DSC – a fast way to generate heat capacity spectra. Thermochim Acta 2001;380(1):5–12.

[20] Degamber B, Winter D, Tetlow J, Teagle M, Fernando GF. 'Simultaneous thermal (DSC) spectral (FTIR) and physical (TMA)'. J Meas Sci Technol 2004;15(9):L5–L10.

[21] Ledru J, Imrie CT,Hutchinson JM,H¨ohneGWH.High pressure differential scanning calorimetry.



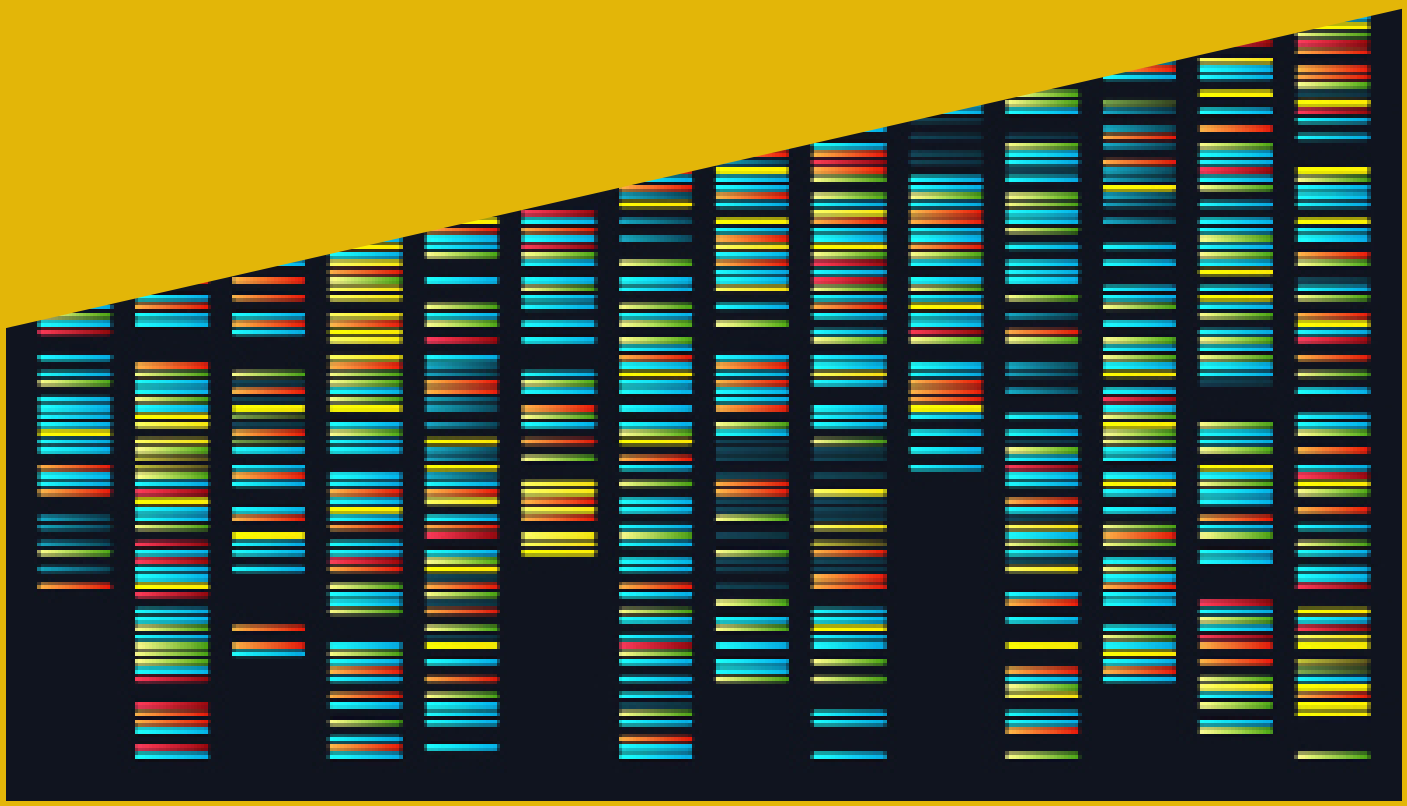
ساختار سه‌بعدی ژنوم



سپیده عیسی زایی

کارشناسی ارشد ژنتیک

دانشگاه سیستان و بلوچستان



۱- مقدمه

در یوکاریوت‌ها، ژنوم به صورت یک مولکول خطی وجود ندارد بلکه در داخل هسته طی سلسله مراتبی سازمان‌دهی می‌شود. سازمان پیچیده ژنوم متشکل از واحدهای ساختاری متعددی ازجمله قلمروهای کروموزومی، محفظه‌ها و حوزه‌های مرتبط از لحاظ توپولوژیکی است که اغلب توسط پروتئین‌های معماری مانند CTCF و کوهسین و حلقه‌های کروماتین تشکیل می‌شوند. فرآیندهای بیولوژیکی مانند تکثیر DNA، رونویسی، تقسیم سلولی میتوز و میوز که برای تمایز سلولی و رشد ارگانیسم بسیار مهم است، توسط سازمان سه‌بعدی کروماتین تعدیل می‌شوند، به عبارت دیگر ساختار پیچیده ژنوم سه‌بعدی، نقش مهمی در حفظ ثبات ژنوم، سازمان‌دهی و پویایی ژن و همچنین در تنظیم بیان ژن در جهت درک مکانیسم‌های مولکولی و بیماری‌ها دارد[۱].

۲- شکل‌گیری فیبر کروماتین

درک چگونگی سازمان‌دهی کروماتین در هسته، اینکه چگونه این معماری سه‌بعدی بر تنظیم ژن تأثیر می‌گذارد، نحوه تصمیم‌گیری در مورد سرنوشت سلول و تکامل، سؤالات اساسی در زیست‌شناسی سلول است. با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در این زمینه، دانش کنونی در مورد مکانیسم‌های اساسی ساختار سه بعدی کروماتین و چگونگی ایجاد، تنظیم مجدد و حفظ پایداری ساختار آن به میزان چشمگیری محدود است[۲].

در سلول‌های پستانداران، DNA باید درون‌هسته طی یک سری سلسله‌مراتب سازمان‌دهی شود تا فیبرهای کروماتین تشکیل گردد و ساختار سه‌بعدی ژنوم بتواند نقش خود را در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی ایفا کند.

کروماتین به DNA پیچیده شده در اطراف هیستون‌ها و سایر پروتئین‌های اتصال‌دهنده DNA برای تشکیل الیاف ضخیم ۱۰ نانومتری اشاره دارد. کروماتین در فضای سه‌بعدی هسته سازمان‌دهی شده و به‌طور مؤثر ژنوم را بسته‌بندی می‌کند و درعین‌حال امکان بیان مناسب و تکثیر مواد ژنتیکی را فراهم می‌آورد. درون کروماتین به دلیل وجود جفت مکان‌هایی که تعامل بسیار قوی در بین آن‌ها نسبت به هر مکان دیگر وجود دارد، دارای تعامل در فاصله‌های بسیار زیاد از هم هستند و این تعامل می‌تواند درون و در سراسر حوزه‌های توپولوژیکی کروماتین گسترده شده باشد. درواقع کروماتین عملکردهای بیولوژیکی و فعالیت‌های رونویسی را از طریق تعامل مسافت‌های طولانی و تعامل بین حلقه‌ها و اینهنسر-پروموتر حفظ می‌کند[۳].

۳- پیشرفت در مطالعه ساختار کروماتین

در طی دو دهه گذشته، به‌طور فزاینده‌ای تاشدگی DNA درون کروماتین به عنوان امری مهم معرفی‌شده است، چندین مطالعه، اهمیت و تأثیر فوق‌العاده زیاد موقعیت فضایی ژنوم در عملکردهای ضروری بیولوژیکی مانند رونویسی، تکثیر، ترمیم DNA و تفکیک کروموزوم را نشان دادند. بنابراین، چگونگی تاخوردگی کروماتین در هسته هنوز هم بحث مهم و قابل‌توجهی است.

ابتدایی‌ترین سطح تاشدگی DNA در نوکلئوزوم به خوبی شرح داده‌شده است، اما هنوز چگونگی ارتباط نوکلئوزوم‌های منفرد با یکدیگر مشخص نیست. در مقیاس کیلوباز به مگاباز، فعل‌وانفعالات کروماتین که ممکن است تشکیل حلقه بین عناصر نظارتی را در بربگیرد، برای شکل‌گیری صحیح هویت سلول بسیار مهم است، با این وجود، چگونگی ایجاد و تنظیم این فعل‌وانفعالات هنوز به خوبی درک نشده است[٤].

اخیراً با انتشار نقشه‌های با وضوح بسیار بالا از تعامل کروماتین با ژنوم، مشخص‌شده که سازمان کروماتین، پیچیده‌تر از آنچه پیش‌بینی‌شده بود، هست و ویژگی‌های مهم در رشد و توسعه مانند تعامل‌های اینهنسر- پروموتر، سازمان ساب دومین‌ها و تعامل‌های دوربرد ضعیف، به‌طور قابل‌اطمینانی تنها با توالی‌یابی‌هایی با کارایی بالا یا تکنیک‌های جدید قابل‌بررسی است؛ بنابراین، معماری کروماتین می‌تواند با استفاده از ترکیبی از این رویکردها به بهترین وجه موردمطالعه قرار گیرد، این در حالی است که هیچ‌یک از این تکنیک‌ها به‌تنهایی کارآمد و جامع نیست.

٤- اصول سازمان‌دهی ژنوم

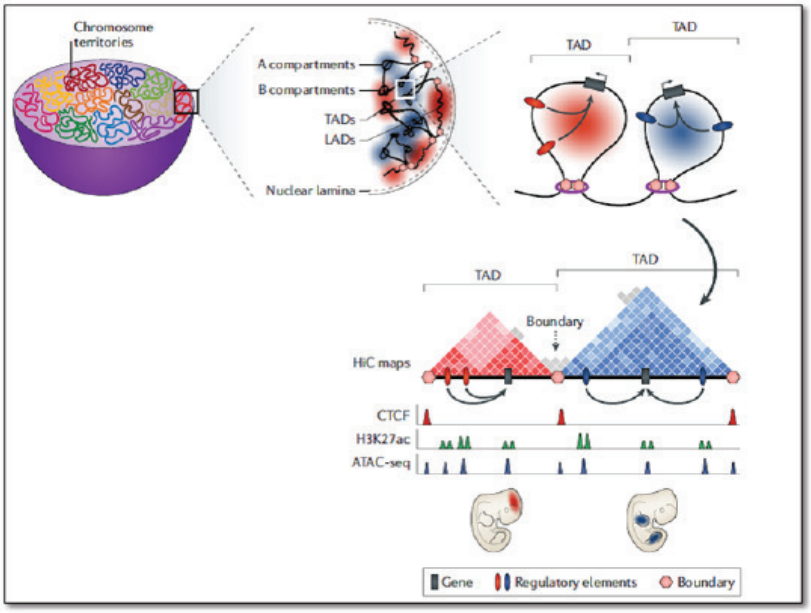
ژنوم طبق دو اصل عمده در هسته سلول یوکاریوتی سازمان‌دهی و تقسیم می‌شود. ابتدا، مناطق کروموزومی با خصوصیات بیوشیمیایی و عملکردی مشابه (که در همان کروموزوم‌های یکسان یا متفاوت قرار دارند) اغلب در داخل هسته جمع شده و محفظه‌های مجزا را تشکیل می‌دهند. دوم، کروموزوم‌های اینترفاز به حوزه‌های مرتبط از لحاظ توپولوژیکی (TADs) تقسیم می‌شوند; مناطق ژنومی با فعل‌وانفعالات گسترده داخلی کروماتینی که تماس کمتری با مناطق مجاور دارند.

٤-١- سازمان سه بعدی ژنوم

مطالعات مربوط به سازمان سه‌بعدی کروماتین نشان می‌دهد که کروموزوم‌ها به صورت سلسله مراتبی در محفظه‌های بزرگ متشکل از دامنه‌های کوچک‌تر با عنوان دامنه‌های مرتبط از لحاظ توپولوژیکی (TADs)[1] تقسیم می‌شوند. مطالعات نشان داده است که ساختار TAD ها بین انواع مختلف سلول و طی مراحل رشد و تا حدی حتی بین گونه‌ها نسبتاً پایدار هستند. شواهد اخیر نشان می‌دهد که محفظه‌ها کوچک‌تر از آنچه قبلاً تصور می‌شد، بوده و وضعیت رونویسی یا کروماتین مسئول تعاملاتی است که منجر به ایجاد حوزه‌های محفظه کوچک در همه موجودات می‌شود و در حلقه‌های CTCF با دامنه‌های محفظه برای ایجاد سازمان ژنوم سه‌بعدی همکاری می‌کنند.

در فیبر کروماتین کوهسین نیز ممکن است مسئول ایجاد فعل‌وانفعالات اینهنسر و پروموتر و جنبه‌های تصادفی از روند رونویسی باشد. این مشاهدات حاکی از آن است که سازمان سه‌بعدی ژنوم تنها یک ویژگی ظاهری از کروماتین و اجزای آن نیست، بنابراین این امکان وجود دارد که سازمان سه بعدی ژنوم نه‌تنها تعیین‌کننده عملکرد ژنوم بلکه نتیجه‌ای از عملکرد اجزای

1- topologically associating domains (TADs)



شکل ۱. سازمان‌دهی سلسله مراتبی ژنوم 3D

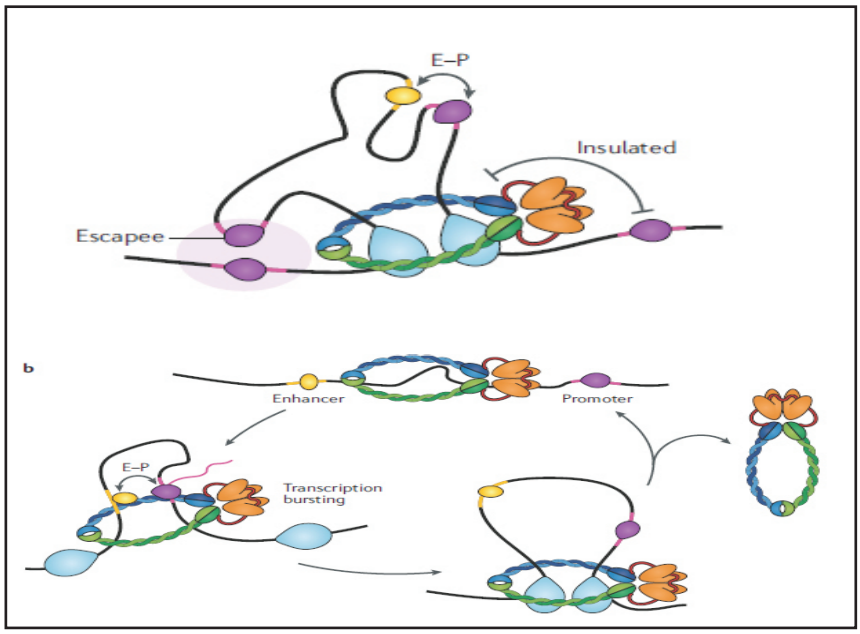
آن باشد[٤].

٤-٢- حلقه‌های اینهنسر و تنظیم رونویسی

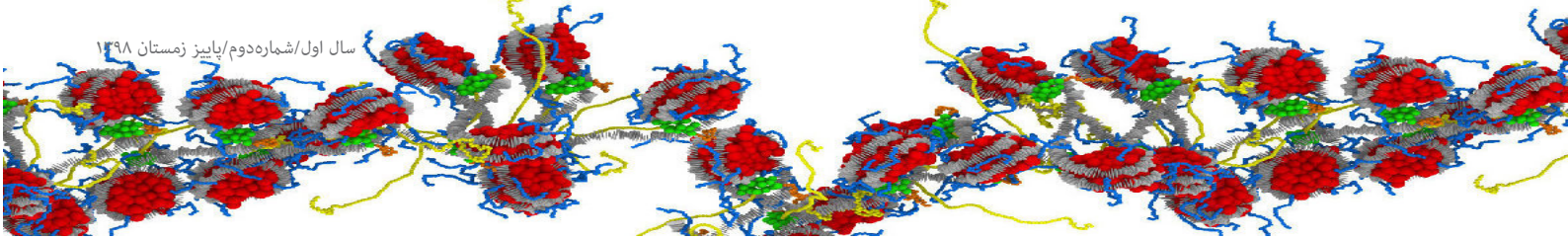
یک سؤال مهم این است که رابطه سببی بین حلقه‌های اینهنسر و رونویسی چیست؟

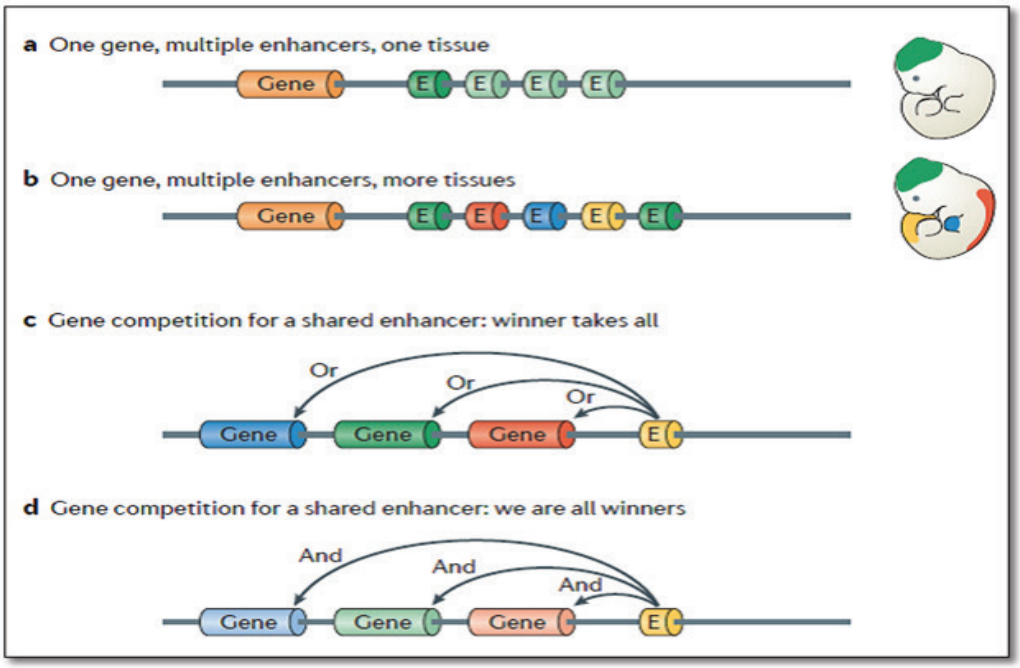
فعل‌وانفعالات اینهنسر-پروموترهای اختصاصی در مرحله ایی خاص از توسعه و بر اساس نوع سلول به‌طور گسترده در ژنوم مشاهده می‌شود. به‌عنوان‌مثال، در طی تمایز سلول‌های بنیادی جنینی موش به پروژنیتورهای عصبی و بیشتر به سلول‌های عصبی قشر مغز، تماس‌های پروموتر - اینهنسر غالباً هم‌زمان با تغییر در بیان ژن ایجاد می‌شود.

چنین فعل‌وانفعالات خاص بر اساس نوع سلول حتی می‌تواند برای برخی از ژن‌های گسترده رونویسی مشاهده شود که می‌تواندبا انواع مختلفی از اینهنسرها در انواع مختلف سلول ارتباط داشته باشد. شاید یکی از بهترین نمونه‌های مطالعه شده در رابطه با اینکه چگونه حلقه اینهنسر-پروموتر می‌تواند رونویسی را آغاز کند، از مطالعات مربوط به لوکوسβ- گلوبین ناشی شود. این لوکوس شامل چندین ژن شبه گلوبین β، یک عنصر نظارتی بالادست به نام منطقه کنترل لوکوس و چندین عنصر نظارتی دیگر است. در انسان، ژن‌های γ- گلوبین و β- گلوبین به‌طور خاص در جنین و بزرگسالان بیان‌شده و این ژن‌ها هنگام فعال شدن، تماس‌های مرحله‌ای ویژه‌ای با منطقه کنترل لوکوس دارند[۳].در پستانداران، آزمایش‌ها و مدل‌سازی‌های بسیار دقیق نشان داده‌اند که TAD ها با فرآیندی از اکستروژن حلقه توسط



شکل ۲. تعامل اینهنسر و پروموتر در تنظیم رونویسی

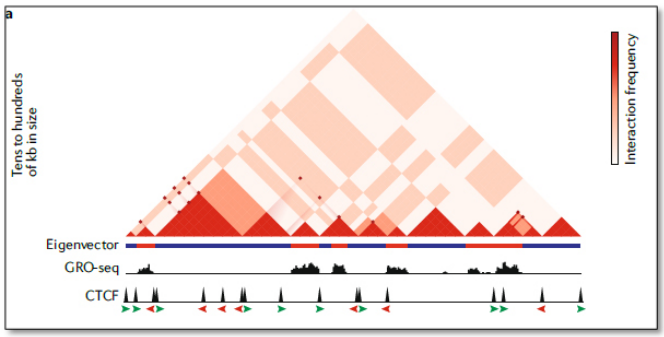




شکل ۳. مکانیسم تنظیم بیان ژن توسط اینهنسر a: چندین اینهنسر (E) می‌توانند در یک بافت همکاری کنند تا رونویسی از یک ژن هدف مشترک را افزایش دهند. b: چندین اینهنسر می‌توانند در بافت‌های مختلف (مشخص‌شده با رنگ‌های مختلف) فعال باشند تا بتوانند الگوی پیچیده بیان یک ژن هدف مشترک را کنترل کنند. یک اینهنسر واحد یا ترکیبی از دو یا چند اینهنسر می‌توانند بر روی یک ژن بیان‌شده در یک بافت خاص عمل کنند. c: ژن‌ها می‌توانند برای اینهنسر مشترک مبتنی بر اصل برنده تمام تلاش کنند رقابت کنند و نتیجه آن بیان ژن‌های متقابل است: تنها یک ژن در هر کروموزوم در هر سلول فعال است d: ژن‌ها بر اساس یک اصل همه ما برنده هستیم برای یک اینهنسر مشترک رقابت می‌کنند: چندین ژن در هر کروموزوم توسط یک اینهنسر مشترک فعال می‌شوند و در تمام سلول‌ها بیان می‌شوند [۱]

کمپلکس کوهسین تشکیل می‌شوند و با جهت‌گیری‌های خاص سایت‌های CTCF، قطع می‌شوند. درون ژنوم پستانداران حداقل ۲۰۰۰ TAD وجود دارد، هرچند که به دلیل وجود ساب TAD ها در TAD ها، تعیین آمار دقیق دشوار است؛ اما بین TAD ها، LAD ها و دامنه‌های تکثیر؛ بین حوزه‌های تکرار که به خوبی با مرزهای TAD هماهنگ هستند، ارتباطات بسیار خوبی وجود دارد؛ بنابراین، به نظر می‌رسد مجموعه‌ای از خصوصیات ساختاری و عملکردی خاص (تراکم ژن، زمان تکثیر، اتصال لامین و فعل‌وانفعالات درون TAD با یکدیگر درون ژنوم) با خصوصیات گروه‌های مختلف کروموزوم متافاز متمایز می‌شوند. مرزهای TAD در CTCF محدود (۷۶٪ از کل مرزها نشان‌دهنده اتصال CTCF) است که تصور می‌شود محدودیت‌های فیزیکی را ایجاد می‌کند که گسترش علائم اپی ژنتیکی را به نواحی مجاور و فعالیت‌های اینهنسر محدود کند. درواقع، حذف سایت‌های اتصال‌دهنده CTCF، مانند مکان‌هایواقع در خوشه‌های HOX، منجر به گسترش کروماتین فعال به TAD سرکوب‌شده مجاور در طی تمایز سلول های بنیادی جنین موش می‌شود؛ بنابراین، TAD ها یک چارچوب معماری برای تقسیم کروماتین به واحدهای عایق با توجه به گسترش اپی ژنتیکی نشان می‌دهند. گروه TAD ها سطح بالاتری از سازمان کروماتین را در قالب محفظه‌های A و B اتخاذ می‌کنند. محفظه‌های A با کروماتین فعال همراه هستند، درحالی‌که محفظه‌های B با کروماتین غیرفعال در تماس هستند. در مقایسه با TAD ها، سازمان‌دهی محفظه‌های A و B پویاتر است و TAD ها بسته به حالت سلولی و مارکر اپی ژنتیکی می‌توانند محفظه‌ها را تغییر دهند. مطالعات انجام‌شده در انسان و موش نشان می‌دهد که تعامل در TAD ها به حلقه‌های متراکم متصل که محل‌های عایق‌بندی شده نیز گفته می‌شود، سازمان‌یافته‌اند. تصور می‌شود این محل‌های عایق‌بندی شده نمایانگر خوشه‌های ساب TAD از تعامل‌های اینهنسر و پروموتر به‌هم‌پیوسته هستند که ژن‌ها را در خود جای‌داده و حلقه‌های جداگانه‌ای از نظر فیزیکی را تشکیل می‌دهند که توسط اجتماع CTCF و کوهسین شکل‌گرفته است.

با استفاده از تکنیک‌های مبتنی بر میکروسکوپ موقعیت نسبی مکان‌های خاص در هسته سلول‌های منفرد در یک جمعیت سلولی را می‌توان بررسی کرد، بنابراین این تکنیک امکان درک تغییرات سلول به سلول در ترتیب فیبر کروماتین در محل‌های فردی را فراهم می‌آورد. از رویکردهای مولکولی مانند Hi-C می‌توان برای نقشه‌برداری از تمام فعل‌وانفعالات جفت مناطق ژنومی با برد طولانی استفاده کرد، اما این رویکرد نیاز به استفاده میلیون‌ها سلول دارد; بنابراین نمایی از سازمان ژنوم 3D



را ارائه می‌دهد که نمایانگر یک مجموعه از سلول‌های فردی موجود در جمعیت است. در حال حاضر با استفاده از دو روش میکروسکوپ با توان بالا و Hi-C تک‌سلولی می‌توان به بررسی دینامیک بودن ژنوم پرداخت. به‌عنوان‌مثال، سازمان‌های کروماتین در سطح بالاتر غالباً با تنظیم ژن‌هایی در فاصله بسیار زیاد مرتبط هستند که به‌نوعی رشد و مسیر سرنوشت سلولی را کنترل می‌کنند. علاوه بر این، تراکم کروماتین و عدم تراکم برای جداسازی مناسب کروموزوم در طول میتوز و میوز بسیار ضروری است و نقص در سازمان کروماتین مرتبه بالاتر می‌تواند منجر به ناهنجاری‌های در رشد، توسعه و بیماری‌های انسانی شود. ترکیب ژنوم 3D در حین رشد ارگانیسم، ازجمله در گامتوژنز، رشد اولیه جنینی و تمایز بسیار پویا است. در پستانداران، سلول‌های زایای اولیه (PGCs)[۲] در طی میوز I و میوز II برای ایجاد گامت هاپلوئید بالغ تحت یک سری فرایند متوالی قرار می‌گیرند.

انواع دیگر تعامل نظارتی علاوه بر تعامل با اینهنسرها، پروموترها، به ویژه آن‌هایی که در یک حالت فعال هستند، می‌توانند در مقیاس‌های ژنومی متعدد با یکدیگر در تعامل باشند. ژن‌هایی که پروموترهای متقابل دارند با شیوه‌ای خاص از بافت همراه هستند. علاوه بر این، پروموتر فعال می‌تواند به عنوان اینهنسر نیز عمل کند. یک مطالعه از محل OCT-4[۳] دو مگابایتی OCT-4 در ESC[۴]های انسانی ۱۷ پروموتر را نشان داد که می‌توانند با تعامل و فعال کردن پروموتر OCT-4 به عنوان اینهنسر عمل کنند. در ESCهای موش، پروموتر ژن‌های پرتوان کلیدی مانند ژن هومئوباکس توسط یک تعامل ویژه ایی باقدرت به پلاکت متصل می‌شود که شامل بسیاری از ژن‌های مرتبط باقدرت و نقاط اتصال‌دهنده تنظیم‌کننده‌های کلیدی پرتوانی است. فاکتورهای مهم رونویسی در ESC ها، مانند Nanog و OCT-4 برای شکل‌گیری این تعامل مهم هستند. برهم‌کنش‌ها به دنبال تمایز از بین می‌روند و می‌توانند به تدریج در طول برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده دوباره برقرار شوند. سایر فعل‌وانفعالات متصل به پرموتر شامل مواردی است که بین ژن‌های غیرفعال و عناصر مشخص‌شده با ویژگی‌های کروماتین سرکوبگر وجود دارد که ممکن است به عنوان خاموش‌کننده‌های دوربرد عمل کنند[۳].

۵- پویایی ژنوم 3D در گامتوژنز

یک چرخه زندگی با ادغام تخمک و اسپرم که سلول‌های بسیار تخصصی به نام گامت هستند آغاز می‌شود. این سلول‌های هاپلوئید، با شروع مشخصات سلولهای زایای بدوی PGC از طریق چندین فرآیند دقیق و هماهنگ‌سازی شده تولید می‌شوند. PGC تا قبل از ورود به میوز، تحت برنامه‌ریزی گسترده مجدد اپی ژنتیک قرار می‌گیرند، ابتدا کروموزوم‌های همولوگ جفت شده و در سلول‌های مختلف دختری جدا می‌شوند. این رویداد با دور دوم تقسیم سلولی برای تولید گامت هاپلوئید دنبال می‌شود. علاوه بر این ویژگی‌های مشترک، گامت ها به منظور انجام وظایف متمایز خود تحت تکامل جنسی قرار می‌گیرند. به‌عنوان‌مثال، در مراحل بعدی توسعه، تخمک‌ها تحت رشد سریع و انبساط اندازه قرار می‌گیرند تا RNA ها و پروتئین‌های فراوانی را برای رشد جنین در آینده در خود جای دهند. برعکس، اسپرم در مرحله آخر بلوغ کروماتین و پیکربندی بسیار فشرده را در سلول اتخاذ می‌کند. فرآیندهای رشدی که مشترک و متمایز بین تخمک‌ها و اسپرم‌ها هستند، با تنظیم مجدد شدید سازمان کروماتین همراه است، همان‌طور که در شکل نشان داده‌شده است. در مردان، اسپرماتوگونی به سرعت در طی یک دوره میتوزی و دو دور تقسیم سلولی می‌وزی انجام می‌شود تا اسپرماتید هاپلوئید ایجاد گردد. تولید اسپرماتیدها توسط تراکم سرتاسری کروماتین و خاموشی رونویسی در کل ژنوم در طول اسپرموژنز و تشکیل اسپرم بالغ، هنگامی‌که پروتامین ها جایگزین بسیاری از هیستون ها می‌شوند تا به عنوان پروتئین‌های بسته‌بندی DNA استفاده شوند، دنبال می‌شود. در زنان، PGC ها به میوز یک واردشده و در مرحله دیپلوتن برای مدت طولانی (ماه‌ها در موش‌ها و تا چند دهه در انسان) متوقف می‌شوند. با تحریک توسط هورمون‌هایی مانند هورمون لوتئینه کننده و هورمون محرکه فولیکول، تعداد کمی از تخمک‌ها از میوز I خارج می‌شوند و قبل از لقاح دوباره در متافاز میوز II متوقف می‌شوند.

پس از لقاح، دو هسته سلول والدین ادغام می‌شوند تا یک زیگوت کامل تشکیل شود، فرایندی که با برنامه‌ریزی گسترده مجدد اپی ژنتیک همراه است. ژنوم در این مرحله دینامیک نیست تا زمانی که در طی فعال شدن زیگوت ژنوم فعال شود (ZGA)[5]. در مرحله دو سلولی در موش‌ها اتفاق می‌افتد و در انسان بین مرحله ٤ سلولی و مرحله ٨ سلولی شروع می‌شود. در طی گاسترولاسیون، سه لایه جوانه‌زا، یعنی اکتودرم، مزودرم و اندودرم در جنین پس از لانه گزینی ظاهر می‌شوند. این لایه‌ها تقریباً در همه انواع بافت بدن ایجاد می‌شوند.

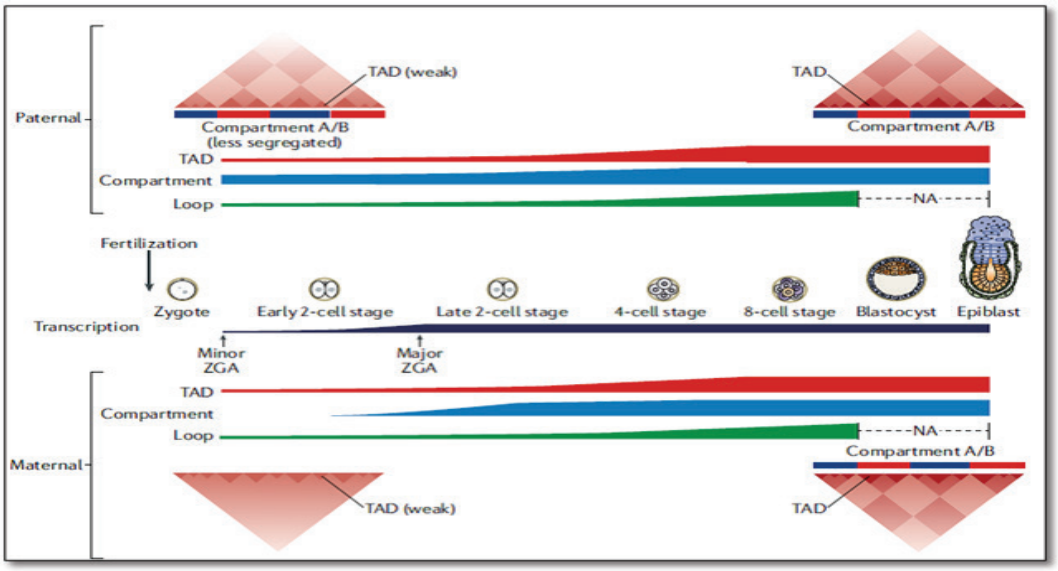
کشف اساسی مبنای مولکولی معماری کروماتین، این وقایع مهم توسعه، به دلیل محدود بودن ابزار برای مطالعه ژنوم سه‌بعدی از نظر تاریخی چالش‌برانگیز بوده است. با این حال، اخیراً پیشرفت چشمگیری در توسعه فناوری برای بررسی سازمان‌دهی کروماتین حاصل‌شده است. به‌عنوان‌مثال،

2- primordial germ cells (PGCs)

3- octamer-binding transcription factor 4 (Oct-4)

4- Embryonic stem cells (ESCs)

5- zygotic genome activation (ZGA)



شکل ٤. پویایی معماری کروماتین در مراحل اولیه رشد در پستانداران

هیبریداسیون فلورسنت درجا (FISH) که به‌طور گسترده‌ای جهت تشخیص مناطق ژنومی خاص و همچنین محاسبه فاصله بین آن‌ها استفاده می‌شود، می‌تواند با تصویربرداری با وضوح فوق‌العاده بالا ترکیب شود تا امکان بررسی سازمان کروماتین در وضوح بی‌سابقه‌ای را ایجاد کند. علاوه بر این، میکروسکوپ همراه با ابزارهای ویرایش ژنوم مبتنی بر CRISPR-Cas می‌توانند امکان تجسم وضعیت انعطاف‌پذیر فضایی و مکانی مناطق ژنومی در سلول‌های زنده را فراهم آورد. تاکنون ثبت پیکربندی کروموزوم و فن‌آوری‌های مشتق از آن مانند ثبت پیکربندی کروموزوم (5C، 4C و Hi-C) در تشخیص سازمان‌های سه‌بعدی کروماتین در سطح DNA نقش مهمی داشته‌اند.

در این آزمایش‌ها ابتدا سلول‌ها تحت تأثیر فرمالدئید قرار می‌گیرند تا کروماتین از ساختار فشرده خارج شود. سپس DNA متقاطع با آنزیم‌های محدودکننده هضم می‌شود و می‌توان DNA را در مجاورت‌های فضایی هم موردبررسی قرارداد. بسامد وقوع چنین تعاملاتی را می‌توان با استفاده از روش PCR یا با استفاده از تکنیک توالی یابی DNA با توان بالا اندازه‌گیری کرد. این فن‌آوری‌های جدید به طرز چشمگیری ابزار تحقیق ژنوم سه‌بعدی را گسترش داده و درک ما از سازمان کروماتین سطح بالاتر را گسترش داده‌اند.

٦- پویایی معماری کروماتین در طول توسعه گامت پستانداران

برنامه‌ریزی مجدد از سازمان کروماتین در جنین زایی اولیه موش. قدرت دامنه‌های مرتبط از لحاظ توپولوژیکی (TAD)، محفظه و حلقه‌ها با عرض میله‌ها در شکل نشان داده‌شده است. فعال‌سازی ژنوم زیگوت (ZGA) در مرحله تک‌سلولی شروع می‌شود و عمده ZGA در مرحله دو سلولی از اواسط تا اواخر انجام می‌شود. TAD ها، حلقه‌ها و محفظه‌های ضعیف شروع به ظهور می‌کنند و به تدریج در مراحل بعدی توسعه قوی‌تر می‌شوند. محفظه‌ها در اوایل مرحله تک‌سلولی در ژنوم پدری ظاهر می‌شوند (گرچه آن‌ها نسبت به مواردی که در مرحله بعد از رشد مشاهده می‌شوند کمتر از هم تفکیک می‌شوند) اما در ژنوم مادر در زیگوت بسیار ضعیف یا عمدتاً وجود ندارند. اطلاعات حلقه (NA) برای مراحل بلاستوسیست و اپیبلاست رشد اولیه در پستانداران در دسترس نیست.

۷- سازمان ژنوم در اسپرماتوژنز

در پستانداران، ژنوم اسپرم به‌طور عمده توسط پروتئین پروتامین بسته‌بندی می‌شود و تنها ۱ – ۱۵ ~ از DNA با هیستون متراکم شده است. مکرراً، تجزیه‌وتحلیل Hi-C نشان داد که اسپرم‌ها مدت طولانی‌تر از اثر تعاملات متقابل کروماتین نسبت به ESC ها و فیبروبلاستها نشان می‌دهند که احتمالاً منعکس‌کننده تراکم کروماتین اسپرم است با کمال تعجب، باوجوداینکه کروموزوم‌ها در اسپرم موش و اینکه در ESCها و سلول‌های سوماتیک توسط مجموعه‌های پروتئینی مختلف بسته‌بندی می‌شوند، موقعیت TADها و جداسازی محفظه A و محفظه B مشابه هستند. CTCF و کوهسین مکان‌های مشابهی را در اسپرم، اسپرماتیدها و ESCها به هم متصل می‌کنند. این امکان وجود دارد که Hi-C ممکن است در تشخیص تفاوت‌های در مقیاس خوب بین کروماتین بسته‌بندی‌شده با هیستون و پروتامین فاقد تفکیک و وضوح کافی باشد. از طرف دیگر، چنین تفاوت‌هایی در مقیاس کم ممکن است بین سلول‌های فردی متفاوت باشد و درداده های جمعیت سلولی نادیده گرفته شود. سازمان کروماتین در طی اسپرماتوژنز تحت برنامه‌نویسی گسترده قرار می‌گیرد. چندین رویداد مربوط به تشکیل کروماتین در طی چرخه سلولی میوز مردان، ازجمله جفت شدن کروموزوم همولوگ، تشکیل یک مجتمع سیناپتونمال، نوترکیبی میوز، سیناپس و غیره اتفاق می‌افتد. مطالعات اخیر سازمان ژنوم سه‌بعدی را در طول اسپرماتوژنز در موش‌ها و میمون رزوس بررسی کرده‌اند. جالب است که در هر دو، TAD ها به‌شدت در مرحله پاکی تن پروفاز میوز I که طی آن کروموزوم‌های همولوگ، برای تشکیل کمپلکس سیناپتونمال جفت می‌شوند کاهش می‌یابد. ازآنجاکه

کروماتین پاکی تن به‌طور فعال رونویسی می‌شود، این نتایج نشان می‌دهد که رونویسی می‌تواند در مراحل خاصی از رشد تا حد زیادی مستقل از TAD ها باشد. قابل‌توجه است که این ایده با این مفهوم که CTCF برای نگهداری از مجتمع سیناپتونمال و نوترکیبی همولوگ ضروری نیست منطبق هست. محاسبات متعارف نیز در مرحله پاکی‌تن تضعیف‌شده است (اما هنوز هم وجود دارد). محفظه A، به ویژه غنی از نقاط مهم شکست دو رشته‌ای میوتیک و سایت‌های کراس آور است. علاوه بر این، در اسپرماتوسیت های پاکی تن از میمون رزس، نوع جدیدی از محفظه محلی ظاهر می‌شود و به اصطلاح محفظه A / B مجزا شده نامیده می‌شود که بین مناطق رونویسی و غیر نویسی جایگزین می‌شود[۳].

۸- تنوع ساختاری

باز آرایی‌های ساختاری و کمی کروموزومی که در مجموع به عنوان تنوع ساختاری (SV)[6] نامیده می‌شوند، شامل حذف، تکثیر، وارونگی، درج و جابجایی است و اکثراً باعث تنوع نوکلئوتیدی شده و تا حد زیادی به تنوع ژنتیکی ژنوم انسان کمک می‌کنند و ازاین‌رو در مطالعه ژنتیک سرطان، بیماری‌های نادر و ژنتیک تکاملی بسیار حائز اهمیت هستند. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که SVها نه‌تنها می‌توانند بر روی دوز ژن تأثیر بگذارند بلکه قادر هستند مکانیسم‌های اساسی تنظیم ژن را نیز تعدیل کنند.

SVها می‌توانند با اختلال در سازمان کروماتین سطح بالاتر مانند دومین‌های مرتبط از لحاظ توپولوژیکی، تعداد کپی عناصر نظارتی یا ژنوم سه‌بعدی را تغییر دهند. به عنوان یک نتیجه از این اثرات موقعیتی، SVها می‌توانند در بیان ژن‌های دور از نقاط شکست SV تأثیر بگذارند و درنتیجه باعث بیماری شوند.

تأثیر SVها بر ژنوم سه‌بعدی و تنظیم بیان ژن در هنگام تفسیر پتانسیل بیماری‌زایی انواعی از واریانت ها باید در نظر گرفته شود. بازارهایی های نامتعادل که به عنوان تغییر در تعداد کپی (CNV)[7] نیز شناخته می‌شوند; تغییر تعداد کپی از کروموزوم‌ها یا مناطق کروموزومی، وضعیت دیپلوئید DNA را تغییر می‌دهند، این درحالی‌که است که باز آرایی‌های متعادل مانند وارونگی، جابجایی متقابل یا درج منجر به از دست دادن یا به دست آوردن محتوای نوکلئوتیدی نمی‌شوند.

قبل از این کشف که SVها می‌توانند بدون تغییر در توالی کد کننده ژنوم، بیماری‌زا باشند نشان داده شد که SVها می‌توانند دارای مکانیسم نظارتی باشند که به اصطلاح به عنوان اثرات موقعیتی تعریف‌شده است. درواقع، ۹۸٪ از ژنوم غیر کد کننده است و بخش بزرگی از ژنوم غیر کد کننده به‌نوعی در تنظیم ژن دخیل است. پیچیدگی تخصیص عملکرد در مناطق غیر کد کننده، تخمین دقیق را دشوار می‌کند. کسری از ژنوم دخیل در تنظیم ژن به صورت تقریبی ۵۰٪ یا ۸۰٪ تخمین زده‌شده است.

با این حال، احتمال تأثیرگذاری SVها بر موقعیت و یا عملکرد عناصر تنظیم‌کننده، مانند پروموتورها و اینهنسرها بسیار زیاد است. با توجه به پیشرفت‌های حاصل از فن‌آوری نقشه‌برداری ژنوم سه‌بعدی، اکنون به‌طور فزاینده‌ای آشکار می‌شود که اثرات موقعیت نتیجه تغییرات بسیار پیچیده‌تر از تغییر در ژنوم خطی است. یافته‌های اخیر نشان داده‌اند که اثرات موقعیت فقط با در نظر گرفتن بعد سوم کروموزوم‌ها یا پیچ‌خوردگی کروماتین در فضای سه‌بعدی هسته قابل درک است.

پیشرفت عظیمی در جهت تشخیص واریانت‌های تک نوکلئوتیدی در وضعیت سلامت و بیماری حاصل‌شده است. با این حال، تجزیه‌وتحلیل ژنتیکی SV توسط چالش‌های فنی محدودشده است. اگرچه آرایه هیبریداسیون ژنومی مقایسه‌ای (CGH)[8] به‌طور مؤثر در تشخیص بالینی معمول برای تشخیص CNV ها استفاده می‌شود، این تکنیک به دلیل وضوح نسبتاً پایین، عدم توانایی آن در تشخیص تنظیم مجدد متعادل و کارایی کم آن در افراد موزاییک دارای محدودیت‌هایی است. توالی‌یابی کل ژنوم (WGS)[9] توسط فن‌آوری توالی‌یابی با خوانش کوتاه قابلیت شناسایی همه باز آرایی‌ها را دارد اما فاقد توانایی تشخیص نقاط شکست در مناطق تکراری، جایی که بسیاری از نقاط شکست رخ می‌دهد، است.

توالی یابی با خوانش بلند، مانند، توالی یابی ریل تایم تک نوکلئوتیدی یا توالی یابی با نانو منفذ، می‌توانند در جهت رفع این مشکلات برآیند، اما در حال حاضر برای کاربردهای بالینی معمول بسیار پرهزینه‌اند. با توجه به تعداد زیاد توالی نظارتی در ژنوم، انتظار می‌رود بیشتر SVها در موقعیت‌یابی و یا کپی تعداد عناصر نظارتی دخالت داشته باشند.

در یک ژنوم سه‌بعدی غیرخطی، چنین باز آرایی‌هایی نیز می‌توانند سازمان فضایی را در سطح منطقه‌ای یا حتی کروموزومی محدود کنند؛ بنابراین، درک اصول اساسی سازمان فضایی کل ژنوم برای درک پتانسیل بیماری‌های مؤثر از SV ها بسیار مهم است. کروموزوم‌ها طبق یک کد ویژه سه‌بعدی در هسته بسته‌بندی می‌شوند که به هر کروموزوم قلمرو خاص خود را می‌دهد. این فرآیند به پیچ‌خوردگی کروماتین در سطح هسته نیاز دارد[۵]. یافته مهم دهه گذشته این بوده است که پیچ‌خوردگی کروماتین نه‌تنها موقعیت کروموزوم‌های موجود در هسته را تضمین می‌کند بلکه پیش‌شرط لازم برای تنظیم ژن‌های با برد طولانی است. تنظیم بیان ژن‌های با برد طولانی معمولاً شامل دو نوع مجزا از عناصر فعال سیس است که پروموتر; از پروموتور اصلی و عناصر تنظیم‌کننده مجاور تشکیل‌شده است و واحدهای نظارتی دیستال تر; که به اصطلاح اینهنسرها یا مناطق کنترل موضعی نامیده می‌شوند را شامل می‌شود. پروموتر عموماً ۱ کیلوبایت پایین‌تر از محل شروع رونویسی قرار دارد، درحالی‌که اینهنسرها می‌توانند در مسافت‌های طولانی در بعضی موارد > ۱ Mb بدون تأثیر روی ژن‌هایی که در فاصله

6- structural variation (SV)

7- copy number variation (CNV)

8- Comparative genomic hybridization (CGH)

9- Whole-genome sequencing (WGS)

خطی نزدیک‌تر هستند، عمل کنند. با توجه به مفهوم فعلی، اینهنسرها با ایجاد حلقه در DNA در حال مداخله، با ناحیه پروموتور تماس حاصل می‌کنند.

بیشتر فعل‌وانفعالات اینهنسر و پروموتور در مناطق مرتبط از لحاظ توپولوژیکی (TADs) در حد مگا باز؛ مناطق ژنومی بافاصله زیاد که با فرکانس بالا با یکدیگر ارتباط برقرار می‌کنند، رخ می‌دهد و در اغلب موارد با بقیه ژنوم ارتباط کمتری برقرار می‌کنند. TADها توسط مناطقی با تغییرات ناگهانی در جهت فعل‌وانفعالات که مناطق مرزی فرعی نامیده می‌شوند، از هم جدا می‌شوند. این یافته نشان می‌دهد که TAD ها داربست ژنومی را تشکیل می‌دهند که برهم‌کنش نظارتی را درحالی‌که این فعالیت نظارتی را از دومین‌های مجاور عایق می‌کند، تسهیل می‌کند. بخش عمده‌ای از TAD ها (۷۰-۶۰٪) تقریباً در بین انواع سلول‌های مختلف و بین گونه‌هاتغییرناپذیر است که نشان‌دهنده نقشی اساسی برای TADها به عنوان واحدهای اساسی عملکردی ژنوم است. چگونگی پذیرش هویت‌های مختلف در سلول‌ها، زیست شناسان را مدت‌ها مجذوب خود کرده است. انتقال سیگنال در پاسخ به نشانه‌های محیطی منجر به فعال شدن فاکتورهای رونویسی می‌شود که مشخصه برنامه بیان ژن برای هر نوع سلول است. پیشرفت‌های فن‌آوری در مطالعه تاشدگی کروماتین در فضای سه‌بعدی، نقش ترکیب ژنوم را در تنظیم رونویسی پیش می‌برد.

توصیف این نقش از معماری ژنوم، نه‌تنها برای تمایز و توسعه بلکه همچنین برای بیماری‌هایی ازجمله ناهنجاری‌های رشد و سرطان کاربرد فراوانی دارد. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که اثر متقابل بین رونویسی و سازمان‌دهی فضایی ژنوم یک نیروی محرک در جهت تصمیم‌گیری سرنوشت سلول است. دهه گذشته، پیشرفت چشمگیری در درک ما از چشم‌انداز ماهیت فضایی کروماتین بر عملکرد عوامل رونویسی فراهم آورده است به‌عنوان‌مثال فن‌آوری‌های قدرتمند میکروسکوپ باقدرت تفکیک بالا و ثبت پیکربندی کروموزوم، دیدگاهی دقیق و چندبعدی از چگونگی ساماندهی ژنوم یوکاریوتی در هسته ارائه داده‌اند.

۹- تنظیم نادرست ژنوم 3D در بیماری‌های انسانی

ازآنجاکه در تنظیم ژن تاشدگی مناسب کروماتین بسیار مهم است، به ارتباط بین تغییرات ساختار کروماتین و ایجاد بیماری باید توجه ویژه‌ای اعمال شود. جهش در ژن‌هایی کد کننده CTCF و کوهسین اغلب با بیماری‌های انسانی و ناهنجاری‌های رشد همراه است. در موش‌ها ساختار نامناسب کروماتین و تنظیم نادرست ژن‌های عامل ناشی از کاهش CTCF های سلول‌های بافت قلب منجر به نارسایی قلبی می‌شود.

اختلال در حوزه‌های منطقه‌ایی کروماتین همچنین می‌تواند باعث اختلالات رشدی شود. در بسیاری موارد، عناصر مرزی تغییریافته ممکن است منجر به فعل‌وانفعالات غیرطبیعی پروموتر - اینهنسر شود که به عنوان تصویب اینهنسر یا ربودن اینهنسر شناخته می‌شود. یکی از موارد موردمطالعه، ناهنجاری اندام ناشی از تغییر در ساختار کروماتین در محل EPHA4 است. در انسان، سندرم‌های اندام، ازجمله براکی داکتیلی، سندرم F و پلی سین داکتیلی، در اثر حذف، وارونگی یا تکثیر در نزدیکی مرزهای یک TAD پوشانده EPHA4 ایجاد می‌شوند. محققان با استفاده از ویرایش ژنوم CRISPR-Cas9، مدل‌های موش را با باز آرایی‌های کروموزومی مربوط به مواردی که در انسان با این شرایط در اعضا دیده می‌شود، تولید کردند. در موش‌ها، تجزیه‌وتحلیل 4C نشان داد که در حضور این باز آرایی‌ها یک خوشه از اینهنسرهای خاص اندام که به‌طورمعمول با EPHA4 همراه هستند به‌طور مکانی جابجا شده و ژن‌های مجاور ازجمله WNT6، PAX3 و IHH به‌طور نامناسب فعال شدند. اختلال در مرزهای TAD که منجر به فعل‌وانفعالات نادرست بین سه اینهنسر و پروموتر LMNB1 (کد کننده لامین B1) نیز به عنوان راهی برای شروع ابتلا به دمیله شدن لوکودیستروفی اتوزومال غالب مشخص شد. در مورد دیگر، تکثیر یک ناحیه بالادست از ژن رمزگذاری کننده فاکتور رونویسی SOX9 در انسان با عنوان منطقه RevSex باعث معکوس شدن جنسیت زن به مرد می‌شود. واریانت ساختاری بزرگ‌تر که با دوپلیکاسیون نواحی RevSex همراه است باعث می‌شود که TAD ژن SOX2فراتر از مرز گسترش‌یافته و درنهایت منجر به شکل‌گیری دامنه‌های جدید کروماتین (neo-TAD)، فعال‌سازی ژن مجاور KCNJ2 و ناهنجاری اندام می‌شود. علاوه بر این، ناهنجاری‌های کروموزومی متعادل می‌توانند TAD ها را مختل کند. به‌عنوان‌مثال، نقاط شکست ناهنجاری‌های کروموزومی متعادل در هشت نفر منجر به سرکوب MEF2C شد، تنظیم نادرستی که با سندرم میکرودلیشن 5q14.3 در ارتباط است. این نقاط شکست می‌توانند یک TAD واحد که حاوی MEF2C است را مختل کند. حداکثر ۱۱،۸ درصد حذف‌های مربوط به بیماری ثبت‌شده در بانک اطلاعاتی تغییرات ژنومی و فنوتیپ در انسان‌ها با استفاده از منابع (Ensembl DECIPHER) می‌توانند شامل سازگاری اینهنسر باشد. داده‌های در حال رشد سازگاری کروموزوم یک منبع عالی را که می‌توانند برای بازنگری در دلایل بسیاری از بیماری‌ها مورداستفاده قرار گیرد، فراهم می‌کند. علاوه بر اختلالات رشد، تغییرات در ساختار کروماتین همچنین می‌توانند به تومور زایی منجر شود. این تغییرات اغلب از طریق سازگاری اینهنسر یا تنظیم نادرست اینهنسر توسط انکوژن ها ایجاد می‌شود. جهش‌های ژنومی غالباً در سایت‌های اتصال‌دهنده CTCF و سایت‌های اتصال کوهسین یافت می‌شوند و مهم‌تر از آن، اختلال در سایت‌های مرزی دومین مشخص در سلول‌های غیر بدخیم برای تنظیم مجدد پروتوانکوژن ها کافی است. به‌عنوان‌مثال، یک مطالعه روی ۷،۴۱۶ ژنوم سرطان در ۲۶ نوع تومور نشان داد که حذف یک مرز خاص TAD با تنظیم نادرست IRS4 در سرطان‌های سارکوم و سنگفرشی همراه است. همچنین در این مطالعه مشاهده

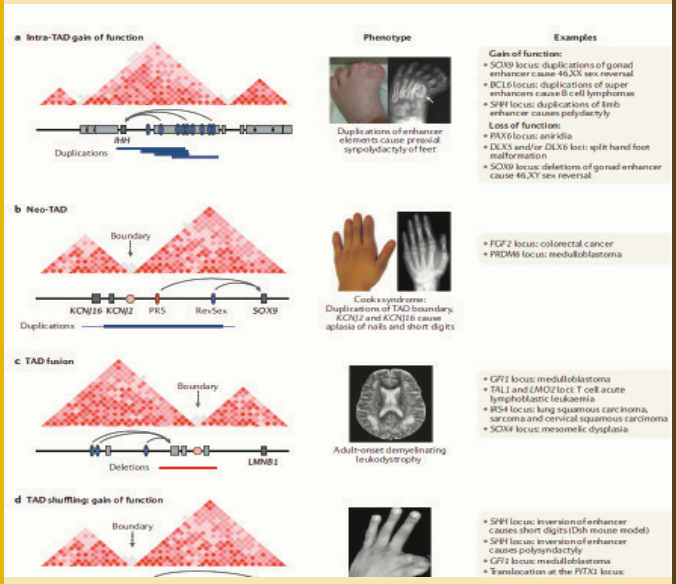
شد که تکثیر ژنومی باعث ایجاد دامنه جدید کروماتین و بیان بیش‌ازحد IGF2 در سرطان کولورکتال می‌شود. یک مطالعه دیگر نشان داد که تنها یک باز آرایی مجدد در اینهنسر فاکتور رونویسی ژن GATA2 می‌تواند به‌طور نابجا EVI1 را فعال کند (همچنین به عنوان MECOM یا PRDM3 شناخته می‌شود) و به‌طور هم‌زمان عدم‌کفایت هاپلوئیدی عملکردی GATA2 را ایجاد می‌کند که هر دو در لوسمی نقش دارند. دامنه‌های کروماتین همچنین می‌توانند از طریق مکانیسم‌های اپی ژنتیکی که به‌طور اساسی موتیف های CTCF را مختل نمی‌کنند تحت تأثیر قرار گیرند. به‌عنوان‌مثال، جهش‌های کسب عملکرد در IDH1 و IDH2 چندین کلاس گلیوما را آغاز می‌کند.

۱۰- چشم‌اندازهای آینده

در طی چند دهه گذشته، در رابطه با اصول مهم تاشدگی کروماتین و عملکردهای آن به تدریج پیشرفتی مشاهده شده است. با این حال، مانند بسیاری از زمینه‌هایی که به سرعت درحال‌توسعه هستند، این مطالعات سؤالات بیشتری را نسبت به پاسخ آن‌ها ایجاد کرده‌اند. اول، برای آشکار ساختن ساختار کروماتین در مقیاس خوب، تجزیه‌وتحلیل فعلی Hi-C نیاز به توالی یابی با عمق بالا دارد. چنین عمق داده‌ها هنگام کار با تعداد محدودی از سلول‌ها و یا بودجه آزمایشگاهی محدود، عملاً چالش‌برانگیز است. در بسیاری از شرایط، تشخیص فعل‌وانفعال حلقه بین اینهنسرها و پروموترها دشوار است؛ بنابراین، این‌که چگونه می‌توان معماری کروماتین را با جزئیات بیشتر در وضوح مکانی بسیار زیاد بررسی کرد، یک چالش بزرگ در این زمینه است.

سایر روش‌های گسترده ژنومی، مانند Hi-C، ChIA-PET، HiChIP و PLAC-seq، می‌توانند با عمق توالی معقول به‌وضوح بالاییرسند اگرچه، در حال حاضر، این سنجش‌ها معمولاً به مقادیر زیادی سلول نیاز دارند. روش‌های پیشرفته محاسباتی نیز برای کمک به فیلتر کردن پس‌زمینه ناشی از فعل‌وانفعالات کروماتین سازنده موردنیاز است تا تعامل نظارتی را بهتر نشان دهد. دوم، علیرغم موفقیت‌های بزرگ فن‌آوری‌های C، مشاهدات انجام‌شده با استفاده از آن‌ها باید با نتایج حاصل از سنجش‌های متعدد تکمیل شود. این رویکردهای مستقل نه‌تنها در تأیید نتایج به‌دست‌آمده توسط فن‌آوری‌های C بلکه در مشاهده مستقیم سازمان کروماتین درون‌هسته بسیار مهم هستند. به تازگی، پیشرفت‌های چشمگیری در توسعه فناوری‌های FISH حاصل‌شده است. تجزیه‌وتحلیل DNA FISH با استفاده از پروب های حاصل از کتابخانه‌های الیگو سنتز شده با آرایه (Oligopaint FISH) امکان تصویربرداری از مناطق تا اندازه بزرگ‌تر را فراهم می‌کند. FISH غالباً با میکروسکوپ با وضوح فوق‌العاده، ساختارهای کروماتین مانند TAD ها و محفظه‌هایی را که در ابتدا در نقشه‌های Hi-C شناسایی‌شده‌اند، تأیید کرده است... با پیشرفت فناوری CRISPR-Cas، تصویربرداری قوی از عناصر تکراری و مناطق ژنومی غیرتکراری اکنون در سلول‌های زنده قابل دستیابی است و چندین مکان کروموزومی به‌طور هم‌زمان موردبررسی قرار می‌گیرند. با این وجود، روش‌های مستقل با وضوح حتی بالاتر و پوشش بیشتر ژنوم برای جداسازی بهتر معماری کروماتین موردنیاز است[۳].

اگرچه پیشرفت چشمگیری درزمینهٔ درک مکانیسم‌های تأکید بر نحوه شکل‌گیری معماری کروماتین حاصل‌شده است، عملکرد آن‌ها هنوز روشن نیست. اگرچه CTCF و TAD ها و دامنه‌های وابسته به انسولین وابسته به انسولین و دامنه‌های حلقه نقش مهمی در بیان ژن‌های فرد دارند، اما به نظر نمی‌رسد که تخریب کوهسین یا CTCF تأثیر عمده‌ای در حالت پایدار رونویسی داشته باشد. سرانجام، در مراحل خاص رشد (مانند در جنین‌های اولیه و در اسپرماتوسیت ها)، رونویسی در غیاب TAD های قوی و حلقه‌های کروماتین باواسطه CTCF اتفاق می‌افتد. این امر می‌تواند جالب باشد که چگونه رونویسی در این مراحل توسعه منحصربه‌فرد تنظیم می‌شود. پرده‌برداری از این رازها ممکن است به ادامه اختراع فناوری‌های جدید متکی باشد. ما معتقدیم که این فقط آغاز یک دوره هیجان‌انگیز برای درک ماهیت فرآیندهای بیولوژیکی در سه بعد است.



شکل ۵. نمونه‌های بالینی تغییرات ساختاری در ژنوم 3D

منابع

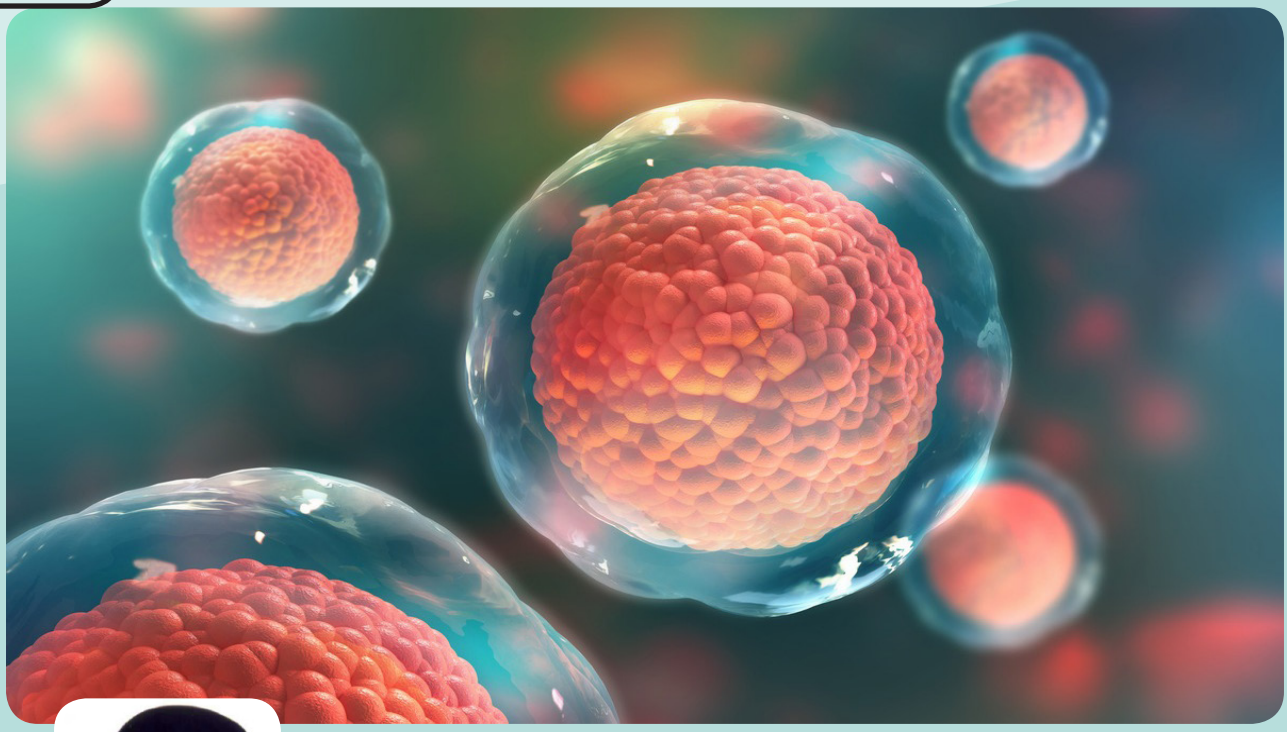
[1] Hugo, P., Krijger, L. & Laat, W. De. Regulation of disease-associated gene expression in the 3D genome. Nat. Publ. Gr. (2016) doi:10.1038/nrm.2016.138.

[2] Bonev, B. & Cavalli, G. genome. Nat. Publ. Gr. 17, 661–678 (2016).

[3] Zheng, H. & Xie, W. The role of 3D genome organization in development and cell differentiation. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. doi:10.1038/s41580-019-0132-4.

[4] Rowley, M. J. & Corces, V. G. Organizational principles of 3D genome architecture. Nat. Rev. Genet. 13,.

[5] Spielmann, M. & Mundlos, S. Structural variation in the 3D genome 1 3,4. (2018)



سلول‌های بنیادی جنینی

نیلوفر ترکزاده

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی

دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان اصفهان

مقدمه

توانایی تقسیم و تولید سلول‌هایی با خواص یکسان و ایجاد انواع سلول‌های تمایزیافته دو ویژگی اساسی سلول‌های بنیادی می‌باشند. بر اساس توان تمایزی و برگشت‌پذیری آن‌ها، سلول‌ها را می‌توان به همه توان، پرتوان و چند توان تقسیم کرد.

همه توان، این سلول‌ها می‌توانند همه سلول‌ها اعم از سلول‌های فرد و سلول‌های برون جنینی را بسازند.

پرتوان، سلول‌هایی هستند که می‌توانند غالب یا همه سلول‌های فرد را بسازند. سلول‌های تمایز نیافته کارسینومای جنینی مشتق از تراتوکارسینومس‌ها نیز پرتوان هستند. تراتوکارسینومس‌ها، تومورهای تمایزیافته خوش‌خیم هستند که دارای جمعیت‌های تمایز نیافته زیادی می‌باشند. تک‌تک این سلول‌ها قادر به تشکیل کلونی هستند و با تمایز می‌توانند مشتقات سه لایه زاینده جنینی (اکتودرم، مزودرم و اندودرم) را به وجود آورند.

چند توان: تعداد محدودتری از انواع سلول را به وجود می‌آورند (مثل سلول‌های بنیادی واقع در بافت‌های بزرگسالان)

کلاً سلول‌های بنیادی دارای دو منشأ جنینی و بزرگسالان هستند. سلول‌های بنیادی جنینی از توده سلولی داخلی جنین در مرحله بلاستوسیست به دست می‌آیند. دسته دیگر، سلول‌های بنیادی بزرگسالان هستند که در بسیاری از بافت‌های تخصصی یافته بدن ازجمله مغز، مغز استخوان، کبد، پوست، لوله گوارش، قرنیه و شبکه چشم و حتی پالپ عاج دندان یافت می‌شوند.

سلول‌های بنیادی جنینی

سلول‌های بنیادی جنینی (ES) از مرحله بلاستوسیست جنین به دست می‌آیند که این مرحله از تکوین پیش از لانه گزینی در پستانداران است؛ که بعد از چهار تا پنج روز بعد از لقاح انجام می‌شود. در این مرحله جنین ۲۰۰_۱۰۰ سلول دارد و به‌صورت کره‌ای توخالی است. این کره متشکل از یک‌لایه سلولی برونی (تروفواکتودرم) است که پس از لانه گزینی در رحم، بخشی از جفت را می‌سازد. این کره دارای مجتمعی از سلول‌ها در داخل کره به نام توده سلولی داخلی است. حدود ۲۰ سال پیش روش‌های کشت سلول‌های بنیادی موش که از توده سلولی داخلی بلاستوسیست به دست می‌آیند گزارش‌شده‌اند و تاکنون تغییرات بسیار کمی داشته‌اند. در سال ۱۹۹۸ توسط تامسون و همکارانش برای اولین بار تولید سلول‌های بنیادی انسانی گزارش شد. مطالعه سلول‌های کارسینومای جنینی موش و انسانی به تولید و رشد سلول‌های بنیادی جنینی کمک کرده است تاکنون تنها از سه گونه از پستانداران سلول‌های بنیادی جنینی با توان خود نوسازی و کشت طولانی‌مدت به‌دست‌آمده است که عبارت‌اند از موش، میمون، انسان. در موش بازدهی تولید سلول‌های بنیادی جنینی، تحت تأثیر نژاد ژنتیکی موش آزمایشگاهی، شرایط کشت و عواملی است که بر موش‌های ماده آبستن اثر می‌گذارد. علاوه بر این تاکنون از گونه‌های دیگری نیز سلول‌های بنیادی جنینی تهیه‌شده است که از آن جمله می‌توان به موارد گورخر ماهی، جوجه، خرگوش، رت، هامستر، خوک، گاو، گوسفند اشاره نمود. تولید رده‌های سلولی پرتوان از مهره‌دارانی غیر از موش،

اثر عمیقی بر مطالعات مراحل اولیه تکوین نظیر دودمان سلولی متعهد شده و نشانه‌گذاری ژنتیکی و به‌خصوص تغییر ژنتیکی و انتقال هسته در گونه‌های اهلی داشته است.

کلیات تولید سلول‌های بنیادی جنینی

تولید سلول‌های بنیادی جنینی از موش یا انسان، فرآیندی چندمرحله‌ای است. به چند مورد آن اشاره مختصری می‌کنیم.

۱- توده سلولی داخلی بلاستوسیست پیش از لانه گزینی از تروفواکتودرم اطراف آن جدا می‌شود. جداسازی بلاستوسیست به دو روش انجام می‌گیرد که هر دو روش در تولید سلول‌های بنیادی جنینی انسان و موش به کاربرد دارد.

۱-الف: مکانیکی، پس از کشت بلاستوسیست، جنین به کف ظرف متصل می‌شود و سپس سلول‌های تروفواکتودرمی در سطح شروع به رشد می‌کنند ولی سلول‌های ICM به سمت بالا تکثیر می‌یابند و بعد از چند روز برآمدگی گنبدی شکلی درست می‌کند. در این وقت با کمک یک پیپت می‌توان ICM را از تروفواکتودرم جدا کرد.

۱-ب:جراحی با کمک ابزار ایمنی: در این روش از ابزارهای ایمنی یعنی کامپلمان و آنتی‌بادی استفاده می‌شود.

۲- کشت ICM بر سلول‌های تغذیه‌کننده: کشت سلول‌های تغذیه‌کننده برای رشد سلول‌های بنیادی جنینی به‌منظور تأمین مواد ناشناخته موردنیاز سلول‌های بنیادی جنینی است. گاهی نیز سلول‌های بنیادی جنینی را بدون سلول‌های تغذیه‌کننده کشت می‌دهند ولی این هنگام کشت سلول‌های بنیادی جنینی نمی‌تواند برای مدت طولانی باشد. چون احتمالاً تمایز خودبه‌خود آن‌ها، حتی در حضور LIF به‌عنوان عامل ممانعت کننده تمایز زیاد است. در تمامی موارد، تقسیم سلول‌های تغذیه‌کننده را قبل از هم کشتی با سلول‌های بنیادی جنینی متوقف می‌کنند. ممانعت از تقسیم سلول‌های تغذیه‌کننده به دو روش تابش اشعه گاما و با استفاده از مایتومایسین C. انجام می‌شود.

۳- با تکثیر ICM بر سلول‌های تغذیه‌کننده و پاساژ آن‌ها بعد از گذشت چند روز بر روی سلول‌های تغذیه‌کننده، کلونی یا کلونی‌های ظاهر می‌شود در این وقت باید آن‌ها را از کف ظرف همراه با سلول‌های تغذیه‌کننده جدا کرده و پس از تفکیک سلول‌ها از یکدیگر دوباره آن را کشت داد. بعد از گذشت چند روز کلونی یا کلونی‌هایی ظاهر می‌شود و در این وقت بازهم باید آن‌ها را پاساژ داد.

۴- حصول سلول‌های بنیادی جنینی: با پاساژ کلونی‌ها به‌صورت تک‌سلولی بر سلول‌های تغذیه‌کننده جدید، بعد از دو یا سه روز کلونی‌های بزرگ‌تری تشکیل می‌شود. از این به بعد هر دو یا سه روز یک‌بار باید آن‌ها را پاساژ داد. نکته جالب آن است که می‌توان آن‌ها را به مدت طولانی کشت داد، یا برای سال‌ها منجمد نگاه داشت و در شرایط مطلوب، حالت غیر تمایزی و کاریوتیپ طبیعی خود را برای سال‌ها حفظ می‌کنند.

مشخصات سلول‌های بنیادی

درواقع منشأ سلول‌های بنیادی جنینی مشخص نیست مشخص نیست که آیا سلول‌های بنیادی جنینی، سلول‌هایی در توده سلولی داخلی بلاستوسیست هستند و یا آن‌که همان توده سلولی داخلی بلاستوسیست تحت شرایط آزمایشگاهی تبدیل به سلول بنیادی جنینی می‌شوند. برای هدف‌های تحقیقاتی، تعریف یک سلول بنیادی جنینی، بیش از سلول‌های بنیادی با توان تقسیم زیاد مشتق از جنین است که می‌توانند تقریباً به تمام سلول‌های بدن تمایز یابد. پس نکات بااهمیت و خاص در تعریف سلول بنیادی جنینی ضروری است. آستین اسمیت مطالعات فراوانی بر سلول‌های بنیادی جنینی موش دارد. بر اساس مطالعات فراوانش مشخصات زیر را برای تعریف سلول‌های بنیادی جنین ضروری می‌داند.

۱- از توده سلولی داخلی ICM و یا اپی بلاست بلاستوسیست مشتق شده باشد. a

۲- دارای توان تقسیم متقارن نامحدود و بدون تمایز باشد و در عین حال توان تمایزی را حفظ نماید a

۳- دارای کاریوتیپ طبیعی کروموزومی بوده و این حالت را نیز حفظ نماید.

۴- سلول‌های بنیادی جنینی پرتوان بتوانند انواع سلول تمایزیافته که مشتق از سه لایه زاینده اولیه جنین (اندودرم، مزودرم و اکتودرم) است را به وجود آورد.

۵- طی تکوین، دارای توان ادغام در تمام بافت‌های جنینی باشد.a,b

۶- دارای توان تولید دودمان زاینده که درنهایت اسپرم و تخمک را می‌سازد، باشد. a,b

۷- کلون زایی به این معنی که یک سلول منفرد دارای توان تولید یک کلونی متشکل از سلول‌های با خواص ژنتیکی یکسان باشد. آنکه کلون‌ها دارای خواص مشابه سلول مبدأ باشد. a

۸- بیان فاکتور نسخه‌برداری Oct_4 این فاکتور باعث تحریک یا مهار دسته‌ای از ژن‌ها می‌شود که سلول‌های بنیادی جنینی را در حال تکثیری و غیر تمایز نگه می‌دارد.

۹- بتوان آن را به تکثیر و یا تمایز القا کرد.

۱۰- فاقد نقطه کنترل G1 باشد.

۱۱- سلول‌های بنیادی جنینی، غیرفعال شدن کروموزوم x را نشان نمی‌دهند.

a: این خصوصیت در سلول‌های EG انسانی نشان داده نشده است. b: این خصوصیت در سلول‌های بنیادی جنینی انسانی نشان داده نشده است. همه‌ی خصوصیات فوق در سلول‌های بنیادی جنینی موش نشان داده‌شده است. علاوه بر این سلول‌های بنیادی جنینی و سلول‌های کارسینومای جنینی همانند توده سلولی داخلی بلاستوسیست‌های موشی تعدادی از نشانگرهای سطحی سلول‌های پرتوان جنینی را نشان می‌دهند.

حفظ سلول‌های بنیادی جنینی در حالت نامتمایز

در بحث قبلی راجع به اینکه یک سلول بنیادی واقعی، توانایی ایستایی در حالت غیر تمایزی را به‌طور نامحدود دارد. این حالت سلول بنیادی جنینی با نشانگرهای سلولی خاص نشان داده می‌شود. این نشانگرها به دانشمندان کمک می‌کند تا درک بهتری از تکثیر نامحدود سلول‌های بنیادی جنینی در شرایط مطلوب کشت داشته باشند. ما می‌توانیم از طریق دو مسیر تحقیق شواهد را به دست آوریم. دو مسیر اصلی تحقیق عبارت‌اند از کوشش‌هایی که تأثیر فاکتورهای ترشحی نظیر فاکتور ممانعت کننده لوکمیایی LIF بر سلول‌های بنیادی جنینی موش در محیط آزمایشگاهی را بررسی می‌کند و مسیر دوم تحقیق، فاکتورهای نسخه‌برداری نظیر Oct_4 را در بر می‌گیرد. فاکتور ممانعت کننده لوکمیایی LIF، سایتوکاین متعلق به خانواده IL_6 است؛ که برای اولین بار با تأثیر بر القای تمایز سلول‌های لوکمیایی MI شناخته‌شده ولی در سال ۱۹۸۸ اثر ممانعت کنندگی آن بر تمایز سلول‌های بنیادی جنینی موش شناخته شد. Oct_4 پروتئینی است که به‌وسیله های بنیادی جنینی انسانی و موشی در محیط آزمایشگاهی بیان می‌شود. این فاکتور توسط سلول‌های ICM موشی در *in vivo* نیز بیان می‌گردد. Oct_4 در سلول تخم موش وجود دارد و در سراسر بلاستوسیست تا ظهور ICM و حفظ پر توانی ICM و اپی بلاست وجود دارد. همین‌طور Oct_4 در سلول‌های زاینده موش و سلول‌های زاینده بالغ وجود دارد. سلول‌های بنیادی جنینی موش می‌توانند به‌طور نامحدود در محیط آزمایشگاهی همانندسازی کنند و ۹ به توان ده تا ۱۰ به توان ده سلول را بدون تمایز به وجود آورند. در محیط آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی جنینی موشی و انسانی Oct_4 را بیان می‌کنند. برای حفظ پرتوانی سلول‌های بنیادی جنینی، بیان Oct_4 لازم است. به‌طوری‌که اگر از بیان Oct_4 جلوگیری کنیم، سلول‌های بنیادی جنینی به تروفواکتودرم تمایز می‌یابند. اگر بیان Oct_4 را به‌طور مصنوعی زیاد کنیم، سلول بنیادی جنینی موش به اندودرم و مزودرم ابتدایی تمایز می‌یابند. پس مقدار بیان Oct_4 وضعیت برنامه تکوینی سلول‌های بنیادی جنینی موش را نشان می‌دهد؛ و آن را به‌عنوان پروتئین کاندیدای تنظیم‌کننده اصلی پرتوانی سلول‌های بنیادی جنینی معرفی می‌کند. اینکه چرا و چگونه فاکتور نسخه‌برداری Oct_4 جنین نقش مهمی را در جنین زایی ایجاد می‌کند به ژن‌های تحت کنترل آن، بستگی دارد. نتیجه می‌گیریم که ممکن است Oct_4 سبب ممانعت از عمل ژن‌هایی شود که برای تمایز لازم هستند.

موضوع پرتوانی سلول‌های بنیادی جنینی به چهار بازیگر مهم یعنی Sox2، Oct_4، FoxD3 و Stat3 برمی‌گردد. ولی اجرای کنسرت پرتوانی با هیچ‌کدام از این عوامل به‌تنهایی شروع نمی‌شود چون به بازیگر دیگری نیاز دارد. Oct_4 برای تنظیم سرنوشت سلولی در جنین ابتدایی ضروری است و در توده سلولی داخلی بیان می‌شود و بیان آن در تروفوبلاست کاهش می‌یابد. FoxD3 و Sox2 دیرتر در جنین بیان می‌شوند و در حفظ اپی بلاست بعد از لانه گزینی ضروری هستند. در سلول‌های بنیادی جنینی Stat3 با سایتوکین LIF فعال می‌شود و این فرآیند برای حفظ نوزایی آن‌ها ضروری است. ولی برای تکوین طبیعی موش به LIF نیازی نیست. تاکنون دو فاکتور رونویسی Stat3 و Oct_4 شناخته‌شده‌اند که در نوزایی سلول‌های بنیادی جنینی شرکت دارند. ولی اخیراً یک فاکتور رونویسی همئوباکس شناخته‌شده که در سلول‌های داخلی مورولا و بلاستوسیست، سلول‌های زاینده اولیه و سلول‌های بنیادی جنینی و سلول‌های زاینده مشتق از آن‌ها بیان می‌شود. نام این فاکتور Nanog است به معنی سرزمین همیشه جوان هست. این فاکتور در دومین رخداد تخصصی شدن سلول‌های جنینی نقش حیاتی دارد. شناسی Nanog دیدگاه جدیدی را در کشت سلول‌های بنیادی جنینی مطرح کرد. طوری که تاکنون اعتقاد داشتند که حفظ نوزایی سلول‌های بنیادی جنینی به همکاری Stat3 فعال‌شده و تجلی Oct_4 نیاز دارد؛ اما نشان داده‌شده است که بیان زیادی Nanog خود نوزایی سلول‌های بنیادی جنینی را از وابستگی به تحریک LIF/Stat3 خلاص می‌کند. ولی در این شرایط باز هم سلول‌ها به نوزایی خود ادامه می‌دهند. بیان زیادی Nanog، قابلیت تمایزی سلول‌های بنیادی جنینی کاهش می‌یابد و به تأخیر می‌افتد. ولی حذف بیان زیادی Nanog باعث برگشت سلول‌ها به حالت بنیادی اولیه می‌شود. از طرفی دیگر حذف Nanog باعث آغاز تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به اندودرم احشایی می‌گردد و این بیان‌کننده‌ی نقش آن در دومین رخداد تمایز جنینی است. این نتیجه همراه با این مشاهده که LIF و Nanog اثر افزاینده بر خود نوزایی سلول‌های بنیادی جنینی دارند، پیشنهاد می‌کند که این دو عامل دو خزانه هدف ژنی متفاوت را کنترل می‌کنند که تااندازه‌ای برهم همپوشانی دارند. کمبرز و همکاران گزارش کردند که Nanog در سلسله‌مراتب رونویسی مداخله کننده در هویت سلول‌های بنیادی و حفظ پرتوانی آن‌ها شرکت دارند به‌طوری‌که بیان زیادی Nanog بر خود نوزایی سلول‌های بنیادی از طریق فعال کردن Stat3 عمل نمی‌کند و برعکس آن فعال کردن Stat3 بر بیان Nanog اثر ندارد. علاوه بر این Nanog و Oct_4 به‌صورت کنسرت در حفظ پرتوانی و نوزایی سلول‌های بنیادی جنینی عمل می‌کنند. از بحث‌های ذکرشده به این نتیجه می‌رسیم که Nanog, Stat3, Oct_4 با سه مسیر رونویسی متفاوت در سلول‌های بنیادی جنینی عمل می‌کند؛ و از مطالعه انواع مسیر های پیام رسانی مشخص می‌شود که فاکتورهای بسیاری باید در تعادل با هم باشند تا سلول‌های بنیادی جنینی در حالت نوسازی باقی بمانند؛ که اگر در این حالت تعادل تغییری به وجود آید، سلول‌های بنیادی جنینی تمایز می‌یابند.

منابع

[1] https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/bone-marrow-transplant/in-depth/stem-cells/art-20048117.

[2] https://www.stanfordchildrens.org/en/topic/default?id=what-are-stem-cells-160-38.

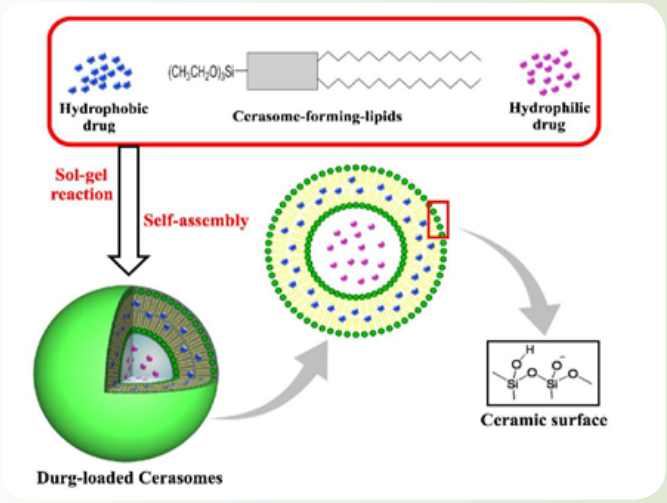
[3] https://stemcells.nih.gov/info/Regenerative_Medicine/2006Chapter1.htm

سرازوم

سید محمدرضا مرتضوی
دانشجوی کارشناسی ارشد نانوبیوتکنولوژی
دانشگاه تربیت‌مدرس

لیپوزوم‌ها یکی از متنوع‌ترین حامل‌های موجود در دارورسانی است و کاربردهای آن در رشته‌های مختلف علمی از جمله نانو، بیوفیزیک، بیوشیمی و زیست شناسی کاملاً اثبات شده است. لیپوزوم‌ها به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد خود، برای رهاسازی کنترل شده یا هدفمند داروهای مختلف و عوامل تشخیصی، توجهات زیادی را به خود جلب کرده‌اند. با وجود تمام کارهای انجام شده، لیپوزوم‌ها هنوز به دلیل ناپایداری مورفولوژیکی به پتانسیل کامل خود نرسیده و ماندگاری کمی دارند. ناپایداری شیمیایی در اثر هیدرولیز پیوند استر یا اکسیداسیون زنجیرهای آسیل اشباع نشده لیپیدها ایجاد می‌شود و ناپایداری فیزیکی در اثر نشت دارو از وزیکول‌ها، تجمع یا هم‌جوشی وزیکول‌ها برای تشکیل ذرات بزرگ‌تر ایجاد می‌شود. بنابراین هنگامی که درگردش خون قرار می‌گیرند، با تعامل با پروتئین‌های پلاسمای آمفی‌فیلیک، مورفولوژی لیپوزوم‌ها از بین می‌رود[۱,۲].

ناپایداری لیپوزوم‌ها می‌تواند منجر به پاک‌سازی سریع آن‌ها ازگردش خون قبل از رسیدن به هدف شوند. به همین دلیل بسیاری از محققان تلاش زیادی برای بهبود پایداری لیپوزوم‌ها می‌کنند، مانند افزودن پلی اتیلن گلیکول که چندین مزیت بیولوژیکی را نشان داده است: از مهم‌ترین این خواص وزیکول‌های پگیله می‌توان به کاهش شدت سیستم فاگوسیت تک هسته‌ای و گردش طولانی مدت اشاره کرد. اما متأسفانه به دلیل وجود پلی اتیلن گلیکول، اثرات سمی جدیدی ظاهر می‌شود و خود نانو حامل باعث بروز التهاب می‌شود.[۲,۳] در سال ۱۹۹۹ برای اولین بار یک نوع نانوهیبرید لیپوزوم آلی- معدنی به نام سرازوم (شکل۱) معرفی شد. که از طریق ترکیبی از واکنش‌های سل-ژل طراحی شده است. این مولکول در محیط‌های آبی با ساختار دو لایه لیپوزومی پوشیده شده و شبکه‌های غیر آلی پلی ارگانوسیلوکسان در سطح آن ایجاد می‌شود[٤]. سرازوم یک ساختار نانو هیبریدی آلی-معدنی دارد به طوریکه ضخامت هر دو لایه آلی و غیر آلی یک سرازوم به ساختار مولکولی لیپیدهای سرازوم نسبت داده می‌شود و اندازه وزیکول یک سرازوم اساساً با استفاده از روش‌های متداول برای تهیه لیپوزوم‌ها قابل کنترل است[٥].

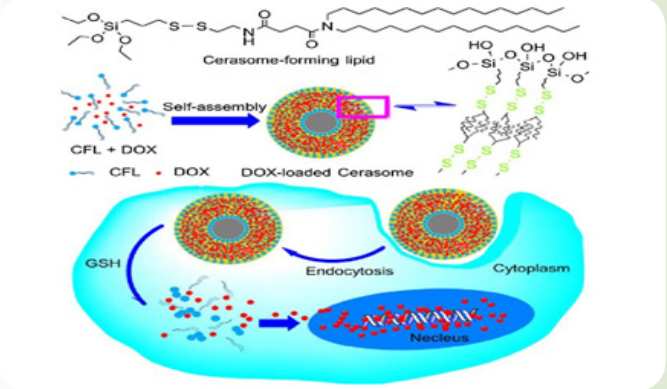


شکل۱. ساختار مولکولی سرازوم و شماتیک بارگذاری دارو

سرازوم‌ها به عنوان یک سیستم جدید دارورسانی، دارای مزایای زیادی از جمله: ۱) سطح سیلوکسان آن‌ها باعث شده است که پایداری و مقاومت در برابر گرما را به میزان قابل توجهی نسبت به لیپوزوم‌ها افزایش دهند (۲) سطح سیلوکسان می‌تواند ثبات سرازوم‌ها را در محیطی با pH کمی قلیایی (خون) به طور قابل توجه‌ای بهبود ببخشند. (۳) وجود ساختار دو لایه، استحکام و چگالی کلی سرازوم‌ها را در مقایسه با نانوذرات سیلیس بسیار کاهش می‌دهد، که انتظار می‌رود پایداری چنین ذراتی را در محلول‌های آبی افزایش دهند.(٤) سرازوم‌ها ممکن است از طریق تجزیه بیوشیمیایی پیوند Si\C تجزیه شوند. (٥) سرازوم‌ها را می‌توان با داروهای آب دوست، آب گریز و همچنین آمفی‌فیلیک بارگذاری کرد. در نتیجه این نانوحامل‌ها کاربردهای منحصر به فردی در پزشکی دارند که در ادامه به برخی از آن‌ها اشاره می‌کنیم[٦,٧].

در چند سال اخیر مطالعات مختلفی برای استفاده از سرازوم‌ها انجام شده است، از جمله تهیه و بارگذاری داروی پاکلیتاکسل (آب گریز) و دوکسوروبیسین (آب دوست) با روش هیدراسیون لایه نازک برای تشکیل سرزاوم، که این سرازوم‌ها در مقایسه با لیپوزوم‌های معمولی علاوه بر ثبات شیمیایی و فیزیکی بهتر، رهایش دارو آهسته و مداوم‌تر در آن‌ها دیده شده و آن‌ها می‌توانند هم زمان سلول‌های سرطانی را از بین ببرند[۸,۹].

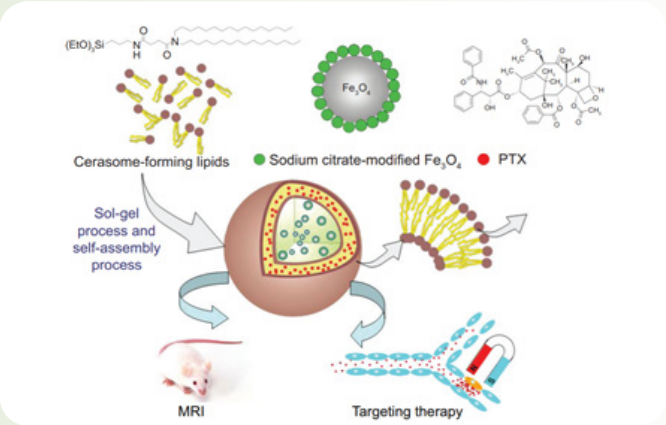
همان‌طور که در شکل ۲ قابل مشاهده است سرازوم سنتز شده که حاوی یک پیوند دی سولفید است، زمانی که با گلوتاتیون



شکل۲. تصویر شماتیک سرازوم های هوشمند برای دارورسانی درون سلولی

در بافت‌های تومور مواجه می شود، باعث شکستن پیوند دی سولفیدی و متلاشی شدن ساختار دو لایه چربی می‌شود، در نتیجه دارو دوکسوروبیسین خود را آزاد می‌کند. بنابراین انتظار می‌رود سرازوم یک نانوحامل هوشمند برای تحویل داروی ضدسرطان درون سلولی باشد[۱۰].

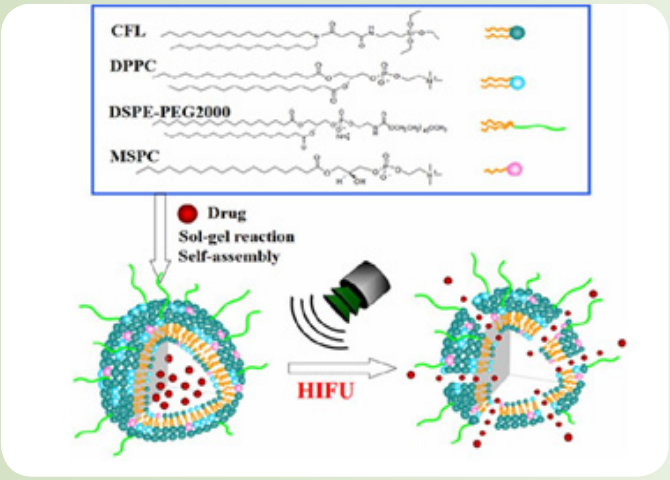
همچنین از سرازوم‌ها برای تشخیص و درمان هم زمان سرطان استفاده شده است. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌کنید، سرازوم‌هایی با پایداری بالا و رهایش مداوم دارو که حاوی نانوذرات Fe_3O_4 و داروی ضد سرطان پاکلیتاکسل برای درمان و تصویربرداری رزونانس مغناطیسی ساخته شده‌اند. استفاده از یک میدان مغناطیسی خارجی به طور قابل توجهی جذب سرازوم‌ها را در سلول‌های سرطانی تقویت می‌کند و در نتیجه اثر داروی ضد سرطان برای از بین بردن سلول‌های توموری را افزایش می‌دهد[۱۱].



شکل۳. تصویر شماتیک PTX بارگذاری شده در مگنتوسرازوم

علاوه بر تحقیق‌های ذکر شده روش جدیدی برای درمان سرطان با استفاده از سونوگرافی متمرکز با شدت بالا (HIFU) در ترکیب با سرازوم‌های بسیار حساس به حرارت ساخته شده است. که این سرازوم‌ها از ترکیب فسفولیپیدهای حساس به دمای MSPC، DSPE-PEG-200، و DPPC و یک سر CFL تهیه شده‌اند(شکل ٤). سرازوم‌های حساس به دما با پایداری قابل توجه، زمان بیشتری درگردش خون پایدارند و قابلیت کنترل رهایش دارو را دارند. سرازوم‌ها می‌توانند بسیاری از داروها را فقط در یک دقیقه پس از اعمال فراصوت HIFU آزاد کنند، که مشاهد شده است این روش تومورها در موش به طور قابل توجهی سرکوب می‌کند. همچنین این روش می‌تواند اثربخشی درمان را افزایش دهد و از آسیب به مناطق سالم جلوگیری کند، پس دارای پتانسیل زیادی برای استفاده در شیمی درمانی می‌باشد[۱۲].

بنابراین نانوهیبریدهای سرازوم به دلیل پایداری و سازگاری مناسب و همچنین رهایش دارو آهسته و مداوم می‌توانند کاندیدهای مناسبی جهت داررسانی، تصویر برداری و ژن درمانی برای درمان بیماری‌های سرطانی، التهابی و...باشند.



شکل٤.تصویر شماتیک سرازوم حساس به حرارت و رهایش دارو بوسیله فراصوت HIFU

منابع

[1] X. Wang, F. Li, S. Liu, and M. T. Pope, "New liposome-encapsulated-polyoxometalates: Synthesis and antitumoral activity," J. Inorg. Biochem., vol. 99, no. 2, pp. 452–457, 2005, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2004.10.020.

[2] X. Yue and Z. Dai, "Recent advances in liposomal nanohybrid cerasomes as promising drug nanocarriers," Adv. Colloid Interface Sci., vol. 207, no. 1, pp. 32–42, 2014, doi: 10.1016/j.cis.2013.11.014.

[3] C. Allen et al., "Controlling the physical behavior and biological performance of liposome formulations through use of surface grafted poly(ethylene glycol)," Biosci. Rep., vol. 22, no. 2, pp. 225–250, 2002, doi: 10.1023/A:1020186505848.

[4] K. Katagiri, "1999_chemistry letters_1st.pdf," Chem. Lett.

[5] K. Katagiri, M. Hashizume, K. Ariga, T. Terashima, and J. I. Kikuchi, "Preparation and characterization of a novel organic-inorganic nanohybrid 'cerasome' formed with a liposomal membrane and silicate surface," Chem. - A Eur. J., vol. 13, no. 18, pp. 5272–5281, 2007, doi: 10.1002/chem.200700175.

[6] Z. Dai et al., "Efficient fluorescence resonance energy transfer in highly stable liposomal nanohybrid cerasome," Chem. Commun., no. 15, pp. 2032–2034, 2009, doi: 10.1039/b900051h.

[7] X. Yue, Y. Jing, and Z. Dai, "Liposomal cerasome : a nanohybrid of liposome," no. April, pp. 569–574, 2011, doi: 10.1002/apj.

[8] Y. Jin, X. Yue, Q. Zhang, X. Wu, Z. Cao, and Z. Dai, "Cerasomal doxorubicin with long-term storage stability and controllable sustained release," Acta Biomater., vol. 8, no. 9, pp. 3372–3380, 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2012.05.022.

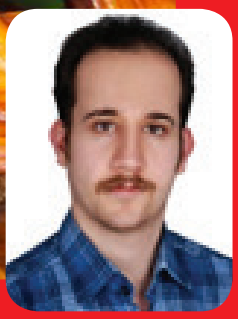
[9] S. Li et al., " Progress of Liposomal Nanohybrid Cerasomes as Novel Drug NanocarriersProgress of Liposomal Nanohybrid Cerasomes as Novel Drug Nanocarriers," Gen. Chem. Chem. Chem., vol. 3, no. 4, pp. 194–201, 2017, doi: 10.21127/yaoyigc20170013.

[10] G. Zhou et al., "Redox responsive liposomal nanohybrid cerasomes for intracellular drug delivery," Colloids Surfaces B Biointerfaces, vol. 148, pp. 518–525, 2016, doi: 10.1016/j.colsurfb.2016.09.033.

[11] X. Yue and Z. Dai, "Recent advances in liposomal nanohybrid cerasomes as promising drug nanocarriers," Adv. Colloid Interface Sci., vol. 207, no. 1, pp. 32–42, 2014, doi: 10.1016/j.cis.2013.11.014.

[12] X. Liang et al., Nanohybrid liposomal cerasomes with good physiological stability and rapid temperature responsiveness for high intensity focused ultrasound triggered local chemotherapy of cancer, vol. 9, no. 2. 2015.

بررسی تاثیر مصرف قارچ گانودرما برروی تقویت سیستم ایمنی در مقابله با بیماری سرطان



کوشا ایرانی
دانشجوی کارشناسی ارشد بیوفیزیک
دانشگاه تربیت‌مدرس

مقدمه

امروزه با توجه به افزایش روزافزون مبتلایان به سرطان در سراسر دنیا و درمان‌هایی با عوارض و قیمت بالا که در همه‌ی موارد نیز کارساز نیست نیاز به راه‌های موثرتر و با عوارض کمتر برای مقابله با این بیماری وجود دارد و در این بین بهره بردن از ترکیبات با منشا طبیعی بسیار حائز اهمیت است.

قارچ گانودرما[1] با دارا بودن ترکیبات مفیدی که در تقویت سیستم ایمنی نقش دارند از گذشته‌های بسیار دور در کشور چین مورد استفاده قرار گرفته و امروزه مصرف آن در کشورهای پیشرفته مانند ژاپن ، آمریکا ، کره جنوبی و ... بسیار دیده می‌شود و به عنوان مکمل در کنار داروهای شیمی درمانی استفاده می‌شود. به گونه‌ای که در ۱۰ سال گذشته بیش از ۶۰۰ مقاله به زبان انگلیسی در مجلات معتبر جهان به چاپ رسیده است.

معروف‌ترین گونه‌ی این قارچ گانودرما لوسیدیوم[2] است که حاوی ترکیبات مهمی مثل پروتئین‌های محرک سیستم ایمنی قارچی (FIPs)، پلی ساکاریدها و تری‌ترپنوییدز[3] هایی است که خواص درمانی بسیاری داشته و در ادامه به شرح آن‌ها می‌پردازیم:

پروتئین‌های محرک سیستم ایمنی قارچی

مولکول‌های کوچک پروتئینی بوده که از قارچ‌ها استخراج می‌شود و خواص ضد سرطانی دارند. ۴ نمونه از آن‌ها که در قارچ گانودرما وجود دارند، عبارتند از:

الف-**Lz8**: نخستین بار در سال ۱۹۸۹ استخراج شده و شامل ۱۱۰ اسیدآمینه است و ساختاری شبیه به ایمونوگلوبولین‌ها دارد. این ترکیب با القای مسیر اتوفاژی و مسیر سیگنالینگ ATF4-CHOP در درمان سرطان معده بسیار موثر است. همچنین می‌تواند با هدف قرار دادن فرآیندهای متاستاز و مسیر EGFR در درمان سرطان ریه نقش ایفا کند.

ب-FIP-gts: این پروتئین با متوقف کردن فعالیت آنزیم تلومراز سلول، به بدن در مقابله با سرطان کمک می‌کند. آزمایشات بر روی موش‌های مبتلا به سرطان ریه که گروهی با FIP-gts و گروه دیگر با PBS تیمار شده بودند رشد کندتر سلول‌های سرطانی در گروه نخست را نشان داد.

ج- GMI: از نظر توالی پروتئینی بسیار شبیه به FIP-gts است و با مختل کردن عملکرد کیناز و جلوگیری از فسفریله شدن عناصر آن در مسیر EGF با مکانیسم ایمنی شرکت می‌کند، همچنین این پروتئین با فعال کردن مسیرهای آپوپتوزی باعث مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود.

د-FIP-gat: این پروتئین با هدف قرار دادن چرخه‌ی سلولی در نقطه G1/S و القای آپوپتوز از گسترش سرطان جلوگیری می‌کند.

پلی‌ساکاریدها و مواد فعال دیگر

این ترکیبات با تحریک سیستم ایمنی در درمان بسیاری از سرطان‌ها نقش دارند که در ادامه به صورت خلاصه به آن‌ها می پردازیم:

الف-سرطان ریه: تری‌ترپنوییدز موجود در گانودرما با ایجاد اختلال در سیستم رشد و تمایز سلول‌های سرطانی و همچنین تحریک سیستم ایمنی در کنترل و درمان سرطان نقش دارد. از جهت دیگر پلی‌ساکاریدهایی مانند ال-فوکوز[4] با تحریک سیستم ایمنی برای تولید لنفوسیت B و آنتی بادی بیشتر، به فرآیند درمان کمک می‌کند.

ب-سرطان کبد: لیپیدهای موجود در قارچ می‌توانند با تقویت ماکروفاژها و مونوسیت ها ایمنی بدن را بالا ببرند.

1- Ganoderma
2- lucidum
3- triterpenoids
4- L-focos

از دیگر اثرات پلی‌ساکاریدهای این قارچ جلوگیری از بیان ژن‌های سلول‌های سرطانی با ایجاد در اختلال در mRNA می‌باشد این ترکیبات همچنین می‌توانند ترشح اینترلوکین-۲ را افزایش داده و باعث مرگ سلول سرطانی می‌شوند.

ج- سرطان پوست: پلی‌ساکاریدهای موجود در گانودرما با بهبود فرآیند تمایز لنفوسیت‌ها و ترشح اینترلوکین گاما سبب تقویت سیستم ایمنی در فرآیند مقابله با سرطان می‌شود.

د- سرطان خون: پلی‌ساکاریدها می‌توانند به صورت غیرمستقیم در فرآیند ترشح اینترلوکین ۱ و ۶ نقش داشته و همچنین با تقویت سایتوتوکسیسیتی لنفوسیت‌های T به سیستم ایمنی کمک کنند.

هـ- سرطان کلون (روده): با فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ TLR4 باعث فعال شدن ماکروفاژها و ارتقا سیستم ایمنی می‌شود.

مطالعات بالینی

در سال ۲۰۰۳ مطالعاتی بر روی ۳۴ بیمار مبتلا به سرطان پیشرفته انجام شد که در نتیجه‌ی مصرف گانودرما سطح سلول‌های CD^{3+} که در سیستم ایمنی نقش دارند بسیار بالا رفته بود.

در سال ۲۰۰۸ در بررسی کودکان مبتلا به سرطان که به مدت ۶ ماه از این قارچ استفاده کرده بودند پیشرفت تمایز سلول‌های لنفوسیت‌های T دیده شد که نقش مهمی در ایمنی سلولی دارند.

در سال ۲۰۱۲ در یک تحقیق بر روی ۴۸ بیمار سرطانی مشخص شد، مصرف گانودرما باعث کاهش درد و افزایش کیفیت زندگی در آن‌ها شده و همچنین روند شیمی درمانی در آن‌ها به خوبی پیش رفته است.

در سال ۲۰۱۴ در مقایسه دو گروه بیمار درگیر شیمی درمانی، مشخص شد گروهی که این قارچ را مصرف کرده پاسخ بهتری به داروهای شیمی درمانی داده و از کیفیت زندگی بهتری برخوردار شده‌اند.

نکته قابل توجه در مطالعات بالینی، عدم مشاهده‌ی مسمومیت و عوارض جانبی قابل توجه در رابطه با مصرف این قارچ بوده است.

طریقه مصرف

این قارچ به علت حالت چوبی و منسجم، پیش از مصرف نیاز به آسیاب داشته و سپس در مرحله‌ی بعد می‌توان قارچ آسیاب شده را به صورت قرص یا دمنوش استفاده کرد. راه دیگر مصرف عصاره‌ی گانودرما به همراه ترکیبات دیگری مثل قهوه است.

دوز مصرفی پیشنهادی برای یک فرد بالغ ۲ گرم در روز است که با توجه به تشخیص دکتر می‌تواند کمتر یا بیشتر شود.

منابع

[1] Aguirre-Moreno, A., Villeda-Hernandez, J., Campos-Pena, V., Herrera-Ruiz, M., Montiel, E., Tello, I., etal. (2013). Anticonvulsant and neuroprotective effects of oligosaccharides from lingzhi or reishi medicinal mushroom, Ganoderma lucidum (Higher Basidiomycetes). Int. J. Med. Mushrooms, 15(6), 555 -568.

[2] Barbieri, A., Quagliariello, V., Del Vecchio, V., Falco, M., Luciano, A., Amruthraj, N. J., et al. (2017). Anticancer and anti-Inflammatory properties of Ganoderma lucidum extract effects on melanoma and triple-Negative breast cancer treatment. Nutrients, 9(3), 9. doi: 10.3390/nu9030210

[3] Blattman, J. N., and Greenberg, P. D. (2004). Cancer immunotherpy: a treatment for the masses. Science, 305(5681), 200 -205.

[4] Boh, B., Berovic, M., Zhang, J., and Zhi-Bin, L. (2007). Ganoderma lucidum and its pharmaceutically active compounds. Biotechnology annual review, 13, 265-301. doi: 10.1016/s1387 -2656(07)13010-6

[5] Cao, L. Z., and Lin, Z. B. (2003). Regulatory effect of Ganoderma lucidum polysaccharides on cytotoxic
T-lymphocytes induced by dendritic cells in vitro. Acta Pharmacol. Sin., 24(4), 321 -326.

[6] Chan, W. K., Cheung, C., Law, H. K. W., Lau, Y. L., and Chan, G. C. (2007). Ganoderma lucidum polysaccharides can induce human monocytic leukemia cells into dendritic cells with immunotolerogenic function. Blood, 110(11), 301B-302B.

[7] Chang, C. J., Chen, Y. Y. M., Lu, C. C., Lin, C. S., Martel, J., Tsai, S. H., et al. (2014). Ganoderma lucidum stimulates NK cell cytotoxicity by inducing NKG2D/NCR activation and secretion of perforin and granulysin. Innate Immun., 20(3), 301-311. doi: 10.1177/1753425913491789

[8] Chen, B., Ke, B., Ye, L., Jin, S., Jie, F., Zhao, L., et al. (2017). Isolation and varietal characterization of Ganoderma resinaceum from areas of Ganoderma lucidum production in China. Sci. Hortic., 224, 109-114. doi: 10.1016/j.scienta.2017.06.002.

[9] Chen, C., Dubin, R., and Kim, M. C. (2014). Emerging trends and new developments in regenerative medicine: a scientometric update (2000 - 2014). Expert Opinion on B ological Therapy, 14(9),1295.

[10] Chen, H. S., Tsai, Y. F., Lin, S., Lin, C. C., Khoo, K. H., Lin, C. H., et al. (2004). Studies on the immuno-modulating and anti-tumor activities of Ganoderma lucidum (Reishi) polysaccharides. Bioorg. Med. Chem., 12(21), 5595-5601. doi: 10.1016/j.bmc.2004.08.003

[11] Chen, Q. M., and Alpert, J. S. (2016). Nutraceuticals: evidence of benefit in clinical practice? American Journal of Medicine, 129(9), 897. doi: 10.1016/j.amjmed.2016.03.036

[12] Chen, W. C., and Hau, D. M. (1995). Effects of Ganoderma lucidum on cellular immunocompetence in gamma-irradiated mice. Phytother. Res., 9(7), 533-535. doi: 10.1002/ptr.2650090716

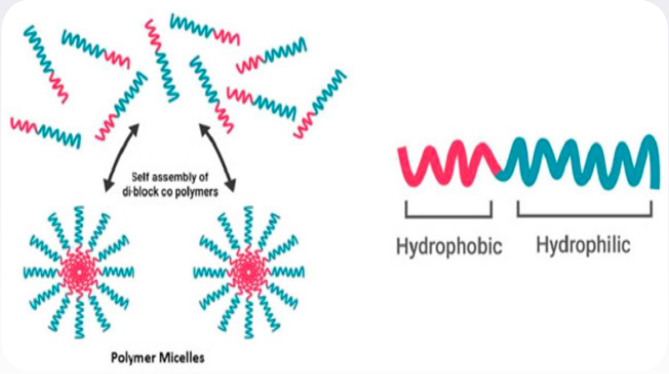
[13] Chen, X. P., Chen, Y., Li, S. B., Chen, Y. G., Lan, J. Y., and Liu, L. P. (2009). Free radical scavenging of Ganoderma lucidum polysaccharides and its effect on antioxidant enzymes and immunity activities in cervical carcinoma rats. Carbohydr.Polym., 77(2), 389-393. doi: 10.1016/j.carbpol.2009.01.009

نانو ذرات پلیمری

زینب فتوحی
دانشجوی کارشناسی ارشد نانوبیوتکنولوژی
دانشگاه تربیت‌مدرس

مقدمه

طی یک دهه گذشته، انواع مختلفی از سیستم‌های دارویی برای درمان سرطان از جمله میسل‌های پلیمری، لیپوزوم‌ها، دندریمرها و نانولوله‌های کربن مورد بررسی قرار گرفته است. که در میان این‌ها نانو حامل‌های پلیمری بسبب ویژگی‌های منحصر به فردشان و ساختار هسته-پوسته می‌توانند بطور فیزیکی یا شیمیایی در قسمت داخلی آن داروها را بارگذاری کنند و این نانومیسل‌های پلیمری طی پدیده تجمع خودبه‌خودی ایجاد می‌شوند[۱]. نانوحامل‌های پلیمری می‌توانند هم بطور طبیعی باشند هم سنتزی یا نیمه سنتزی در اندازه‌های نانو مثل نانو کره‌های سیلیکونی و کیتوزان‌ها و غیره. بررسی تجمع خودبه خودی پلیمرها با انواعی از بلاک‌های هیدروفوب و هیدروفیل تاکنون بسیار مطالعه شده است. افزایش ویژگی آبدوستی پلیمرهای هیدروفوب از طریق کوپلیمریزاسیون با قابلیت انحلال در آب پلیمرهای هیدروفوبیک ایجاد می‌شود. این پلیمرها در محیط مایع قادر به تشکیل وزیکول‌های پلیمری (پلیمروزوم) یا میسل هستند. وزیکولهای پلیمری ویژگی‌های منحصر به فردی دارند ازجمله پایداری شیمیایی بالا، توانایی بارگذاری داروهای لیپوفیلیک درون غشاء خودشان و بارگذاری داروهای هیدروفیل در قسمت داخلی خودشان و همچنین برای کاربردی شدن سطح همگنی دارند. سایز وزیکول‌های پلیمری تقریباً بیش از ۲۰۰ نانومتر می‌باشد. در صورت بارگذاری داروهای سرطان در این وزیکول‌ها که از نفوذپذیری بالایی برخوردار می‌باشند، کاهش اثرات جانبی و بهبود فرایند سرطان را شاهد خواهیم بود[۲،٤]. این نانوحامل‌های پلیمری، هنگامی که برای پاسخگوئی به محرک‌های خارجی خاص طراحی شده‌اند، به عنوان حامل‌های تحویل داروی بسیار امیدوارکننده در نظر گرفته می‌شوند. علاوه بر این، این سیستم‌ها میزان حلالیت داروها و فارماکوکینتیک دارو را بهبود می‌بخشند و تجمع آن‌ها در تومورها را از طریق افزایش نفوذپذیری و ماندگاری (EPR) تقویت می‌کنند، که مشخصه بارز اکثر تومورهاست که امکان تجمع ترجیحی نانوذرات پلیمری خاص را فراهم می‌کند[۱].



سورفکتانت

مولکول‌های سورفکتانت حداقل شامل دو بخش آبدوست و آبگریز هستند. بخش آبگریز معمولاً یک زنجیره هیدروکربن یا فلوروکربن خطی یا شاخه‌دار با ۸ تا ۱۸ اتم کربن است، درحالی‌که بخش آبدوست شامل یک گروه قطبی یا یونیاست تعادل بین قسمتهای آبگریز و آبدوستHLB)[1]، خاصیت ویژه‌ای به این ترکیبات دوگانه دوست در محلول‌های مورد نظر می‌دهد، مانند جذب سطحی، تعاملات و تشکیل سامانه‌های خود مونتاژ. نیروی محرک جذب آمفی‌فیل‌ها سبب کاهش انرژی آزاد مرز فازها می‌باشد که منجر به کاهش سطح و تنش‌های سطح می‌شود[۷].

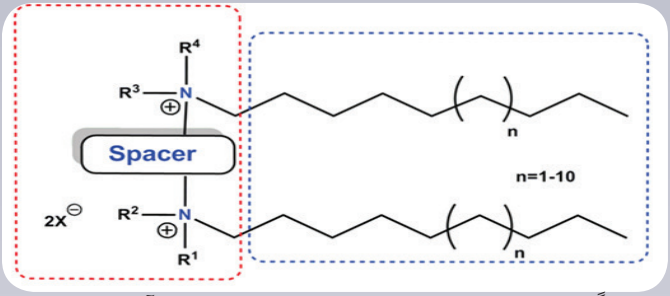
کاربرد و انواع سورفکتانت‌ها

در حال حاضر، بازار جهانی سورفکتانت به بخش‌های آنیونی،

1-hydrophilic-lipophilic balance
2- amphipathic
3- amphoteric

کاتیونی، غیر یونی و خنثی[۲] تقسیم شده است. سورفاکتانت‌های آنیونی، مانند آلکیل بنزن سولفونات‌ها، α- اولفین سولفونات‌ها، سولفات‌ها و سولفات‌های اتر، کربوکسیلات‌ها، ایزوتیونات‌ها، تورات‌ها و سورفکتانت‌های فسفات حدود ۵۰٪ از بازار جهانی سورفاکتانت را در اختیار دارند. این سورفاکتانت‌ها عمدتاً در پاک‌کننده‌ها و مواد پاک‌کننده صنعتی و نهادی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

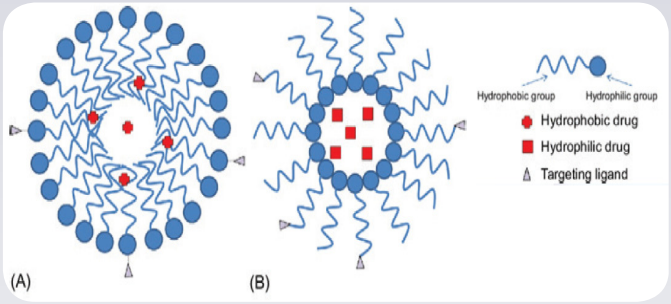
سورفاکتانت‌های کاتیونی، مانند نمک‌های آلکیل آمونیم کواترنر،



عمدتاً در نرمکننده‌ها، زداینده‌های خاک، آنتی‌باکتریال‌ها و اثرات مهاری ضدخوردگی استفاده می‌شوند، درحالی‌که سورفاکتانت‌های غیر یونی، یعنی اتوکسیلات‌های الکلی، برای تمیز کردن مناسب هستند، زیرا نسبت به سختی آب حساس نیستند. سورفاکتانت‌های خنثی (zwitterionic)، که عمدتاً مشتقات تری متیل گلیسین هستند، حساس به pH هستند و از نظر پوستی بسیار عالی هستند. علاوه‌براین، از این چهار گروه اصلی، سورفاکتانت‌های مخصوصی نیز وجود دارد، یعنی سورفکتانت‌های فلوئوروکربن و سیلیکون، سورفاکتانت‌های مبتنی بر قند که از پلی‌ساکاریدها، بیوسورفکتانت‌ها و سورفاکتانت‌های پلیمری حاصل می‌شوند. یک گروه بسیار ویژه از سورفاکتانت‌ها به طور طبیعی در مولکول‌های دوگانه دوست[۳] موجودات زنده، فسفولیپیدها، مانند فسفاتیدیل کولین (لسیتین)، فسفاتیدیل سرین، فسفاتیدیل اتانول آمین (سفالین)، فسفاتیدیل اینوزیتول و اسفنگومیلین قرار دارند که کاربرد اصلی آن‌ها در سیستم‌های دارورسانی است.

نانوحامل جمینی

سورفاکتانت جمینی برای اولین بار در اوایل دهه ۱۹۹۰ برای توصیف سورفکتانت‌های دوگانه استفاده شد. اصطلاح جمینی، به معنای دوقلو می‌باشد، سورفکتانت‌های جمینی اولیه با اتصال دو مولکول سورفکتانت جداگانه توسط یک فضاساز سفت و سخت یا کوتاه و انعطاف‌پذیر ساخته شده‌اند. مشتق سورفکتانت‌های جمینی (N,N-bis (dimethylalkyl)-α,ω-alkanediammonium halide)، در حال حاضر علاقه و توجه بسیاری را در زمینه‌های دارویی و تحویل ژن به خود جلب کرده اند. این ناشی از انعطاف‌پذیری این ساختارها در اصلاح شیمیایی این ترکیبات است که می‌تواند خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن‌ها را تعدیل کند. اصلاح طول، درجه اشباع و جایگزینی گروه‌های مختلف عملکردی درقسمت سر و فضاساز و دم آلکیلی می‌تواند فرصتی برای متناسب‌سازی ساختار شیمیایی آن‌ها برای نیازهای خاص فراهم آورد. فضاسازهای سخت موجب می‌شود تا زنجیره‌های هیدروکربنی یک مونومر جمینی به یکدیگر متصل نشوند. اگر این فضاسازها کوتاه و انعطاف‌پذیر باشند (گروهای اتیلن) یک پیچش سنجاق سری در این قسمت مشاهده می‌شود درنهایت شکل میسل معمول را ایجاد می‌کند[۵]. مونومرهای سورفاکتانت منفرد معمولاً دارای یک گروه سر قطبی و یک دم هیدروکربن غیرقطبی با طول زنجیره‌های مختلف (C8-C18) هستند[۶]. سورفکتانت‌های جمینی با توجه به ترکیب شیمیایی دم‌ها و قسمت‌های سر، توانایی آن‌ها در تجمع خودبه‌خودی با ساختارهای پیچیده‌ای از جمله میسل، میسل معکوس، لیپوزوم و کوبوزوم، مشخص می‌شوند. غلظت بحرانی تشکیل میسل آن‌ها (CMC) در مقایسه با همتایان مونومر آن‌ها، برای به حداقل رساندن مقدار سورفکتانت جمینی مورد استفاده در فرمولاسیون که برای بهینه‌سازی سیستم دارورسانی ضروری است، بسیار موثر می‌باشد. چندین نسل از نانوذرات جمینی برای انتقال مولکول‌های کوچک و بزرگ به سلول‌های تومور از جمله ملانوما و سرطان دهانه رحم ایجاد شده است. جیمینی سورفکتانت یورتانی پگیله شده یک کوپلیمر دوگانه دوست و زیست تخریب‌پذیر است که از پلی اتیلن گلیکول۲۰۰۰، یورتان، آمین نوع سوم و اتصال دهنده هیدروکربنی ساخته شده است. وجود ملکول‌های پلی اتیلن گلیکول در سطح نانو حامل منجر به افزایش سازگاری زیستی و نیز افزایش زمان گردش در خون می‌شود. همچنین الحاق پلی اتیلن گلیکول سبب ایجاد یک تاثیر حفاظتی از سمیت‌ها و کاتیون‌ها برروی حامل جیمینی می‌شود و همچنین می‌توانند سایز میسل را تعدیل کند و توزیع اندازه ذره‌ای مناسبی، بدون افزایش غلظت بحرانی تشکیل میسل بدهد. یک نسل از این حامل‌ها شامل cat-



ionic biodegradable poly(3-caprolactone urethane) می‌باشد که شامل جیمینی کواترنری آمونیوم است و دارای اولیگومرهای پلی اتین گلیکول است که به انتهای زنجیره متصل می‌شود و نرخ تخریب تعدیل پذیری دارد همچنین مطابقت سلولی خوب وکارایی خوبی در دارو رسانی و انتقال ژن دارند. این ترکیب آمفی‌فیلیک از خواص سطحی بالایی برخوردار بوده و CMC پایینی دارند. CMC به عوامل هیدروفوبیک موجود در ساختار بستگی دارد. با اضافه کردن نمک‌های آلی (بنزوات -سالیسیلات) و معدنی (نیترات، بروماید و تیوسیانات) می‌توان CMC را کاهش داد. قسمت‌های هیدروکربنی در گروهای سر قطبی جمینی سورفکتانت بر رفتار خود تجمعی این ساختار تاثیر می‌گذارد. جمینی‌هایی که دارای فاصله‌ساز سخت می‌باشند ساختار وزیکولی تشکیل می‌دهند، اما درصورت وجود

فاصله‌سازهای نیمه سخت ترکیبی ساختارهای وزیکولی و میسلی تشکیل می‌دهند.

ویژگی‌های بیولوژیکی سورفکتانت

به دلیل خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بیولوژیکی سورفکتانت‌های جمینی کاربردها بسیاری در صنعت و شاخه داروسازی و زیست پزشکی یافته اند. ازجمله کاربردهای جمینی سورفکتانت در انتقال ژن، سنتز و پایدارسازی نانو ذرات، تعامل با پروتئین‌ها و خواص آنتی‌باکتریال می‌باشد.

دارو رسانی

سورفکتانت‌های جمینی به راحتی می توانند ساختار مورفولوژیکی خود را براساس pH، دما و نمک‌ها تغییر دهند. انتقال برگشت پذیر از میسل به سایر ساختارها، به ویژه به وزیکول‌ها با تغییر pH، برای تحویل دارو بسیار مفید است. لی و همکاران نشان داد که سورفکتانت‌های اسید آمینه جمینی، جایی که pH نیروی محرک اصلی برای کنترل رفتارهای تجمعی است، می‌توانند برای ساختن سیستم‌های کلوئیدی برای ارائه داروهای آب‌گریز استفاده شود[۷]. با توجه به ذات آمفی‌فیلیک جمینی سورفکتانت ویژگی‌های متجمع شوندگی آن می‌توانند اجزاء سلولی را مختل کند و سبب دناتوراسیون موقت غشاء سلولی شود و منجر به القا مهار متابولیسم، تغییر هموستازی و در نهایت مرگ سلولی می‌شود که این یک مزیت برای کارکرد دارورسانی آن به حساب می‌آید اما با این حال می‌تواند تاثیرات سمی نیز داشته باشد. به دلیل تبادلات باری با سلول میزبان ورود سلولی می‌تواند سریع یا به طور اندوسیتوز صورت گیرد. از جمله فاکتورهای موثر در این تعاملات می‌توان به غلظت جمینی سورفکتانت، دما، PH، و فرمولاسیون ذاتی آن اشاره کرد.

ژن درمانی

از جمله کارایی این سورفکتانت‌ها در انتقال ژن می‌توان به سورفاکتانت‌های آلکیل آمونیوم جمینی اشاره کرد که به دلیل توانایی تعامل آن‌ها با DNA، در معرفی ژن‌ها به سلول‌ها استفاده می‌شود. این فعل و انفعال باید به اندازه کافی قوی باشد تا بتواند بر سد غشای بیولوژیک غلبه کند و به اندازه کافی ضعیف باشد که بتواند DNA را در محل مناسب سلول آزاد کند. نشان داده شده است که سورفکتانت جمینی با اتصال موثر و فشرده سازی DNA، تشکیل لیپوپلکس می‌دهد. لیپوپلکس می‌تواند به غشای خارجی بسیاری از انواع سلول‌ها نفوذ کرده و در سیتوپلاسم کپسوله شده درون اندوزومها ظاهر شود. فرار از آندوزوم ممکن است با تغییر در رفتار تجمع لیپوپلکس با کاهش pH کنترل شود. DNA ممکن است قبل از ورود به هسته از لیپوپلکس آزاد شود، جایی که می‌توان ژن جدید را با کارایی بالا بیان کرد. برخی از سورفاکتانت‌های جمینی با جایگزین قند، سورفاکتانت آمونیوم بر پایه کلسترول به عنوان وکتورهای انتقال ژن مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. به تازگی نشان داده شده است که سورفکتانت‌های جمینی هیدروکسی اتیل شده و جمینی‌های مشتق شده از سیستئین نیز می‌توانند برای این کاربرد استفاده شوند.

منابع

[1] M. Alsehli, «Polymeric nanocarriers as stimuli-responsive systems for targeted tumor (cancer) therapy: Recent advances in drug delivery,» SAUDI Pharm. J., 2020.

[2] V. Pillay et al., “Review Article A review of integrating electroactive polymers as responsive systems for specialized drug delivery applications,” no. i, pp. 2039–2054, 2013.

[3] E. Pérez-herrero and A. Fernández-medarde, “European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics Advanced targeted therapies in cancer : Drug nanocarriers , the future of chemotherapy,” no. March, 2015.

[4] M. Alibolandi and M. Ramezani, “Comparative evaluation of polymersome versus micelle structures as vehicles for the controlled release of drugs,” 2015.

[5] F. M. Menger and C. A. Littau, “Gemini Surfactants : A New Class of Self-Assembling Molecules,” no. 1 1, pp. 10083–10090, 1993.

[6] A. Makhlouf, I. Hajdu, and I. Badea, Chapter 13. Gemini surfactant-based systems for drug and gene delivery. Elsevier Inc., 2018.

[7] B. Brycki, A. Szulc, O. Kaczerewska, and M. Pakiet, “Multifunctional Gemini Surfactants : Structure , Synthesis , World ’ s largest Science , Technology & Medicine Open Access book publisher,” no. August, 2017.

[8] M. Karimpour, M. Ali, H. Feizi, M. Mahdavi, and B. Krammer, “Phytomedicine Development of curcumin-loaded gemini surfactant nanoparticles : Synthesis , characterization and evaluation of anticancer activity against human breast cancer cell lines,” Phytomedicine, vol. 57, no. November 2018, pp. 183–190, 2019.

گفت‌وگوی اختصاصی با دکتر خواجه

ریاست دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت‌مدرس

مصاحبه کننده

شکوفه اکبری

دانشجوی کارشناسی ارشد ریاضی زیستی، دانشگاه تربیت‌مدرس

● برای سؤال اول خلاصه‌ای از فعالیت‌های خود را بفرمایید؟

در حال حاضر من رئیس دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس هستم. کارشناسی رشته بیوشیمی در دانشگاه شیراز و مقطع کارشناسی ارشد و دکتری در دانشگاه تهران گذراندم. از سال ۱۳۸۱ خدمت عزیزان در دانشگاه تربیت مدرس هستم. من را به‌عنوان یک متخصص آنزیم می‌شناسند که امروزه هم کاربردهای فراوانی پیدا کرده‌اند و هم نقش بیولوژیکی آن‌ها در حیات سلول از اهمیت فراوانی برخوردار است اگر امروزه از مسیرهای متابولیسم، سیستم بیولوژی و خیلی از فعل‌وانفعالاتی که در سلول اتفاق می‌افتد صحبت می‌شود نتیجه عملکرد این آنزیم‌ها هستند که شناخت عمیق آن‌ها منجر به شناسایی خیلی از بیماری‌ها و طراحی داروهای مختلف شده که بر سلامت انسان تأثیرگذار بوده‌اند و درعین‌حال از این آنزیم‌ها در صنایع مختلف ازجمله فنّاوری نشاسته، صنایع نساجی، خوراک دام و طیور، پودرهای شوینده، صنعت آب‌میوه‌گیری و حتی برای حذف آلاینده‌های زیست‌محیطی هم استفاده می‌شود.

در سال ۱۳۸۵ استاد پیوسته گروه بیوشیمی و معاون آموزشی دانشکده علوم پایه بودم که مأموریتی از طرف وزارت علوم و ستاد نانو ارسال گردید. بر این اساس که از ما خواسته شد رشته‌ی جدید نانو بیوتکنولوژی را سرفصل نویسی کنیم؛ و وظیفه اجرای این کار بر عهده من گذاشته شد. با کمک باقی اساتید دانشکده که به‌عنوان هیئت مؤسس نام‌گذاری شده و در گروه نانو فعال هستند سرفصل‌ها مشخص شد و برای تصویب به دانشگاه و وزارت علوم ارسال شد و از آن زمان همراه با این گروه ۹ نفرِ به‌عنوان هیئت مؤسس رشته نانو، با گروه نانو همکاری می‌کنم. همچنین از ابتدای وجود رشته بیوتکنولوژی پیوسته در دانشگاه تهران عضو گروه اساتید آنجا نیز هستم ولی حضور فیزیکی ندارم.

● لطفاً درباره سمت‌ها و مسئولیت‌ها و دست‌آوردهای خود که تا به امروز داشته‌اید صحبت بفرمایید.

در سال ۱۳۸۲ بود که مدیر گروه و پس‌ازآن دبیر نظارت و ارزیابی دانشکده علوم پایه و سپس معاون آموزشی دانشکده علوم پایه شدم و از سال ۱۳۸۸ که دانشکده علوم زیستی مستقل شد تا به امروز به‌عنوان رئیس دانشکده خدمت دوستان بودم. یکی از افتخارات بنده این است که دانشکده زیستی دانشگاه تربیت مدرس یکی از سرآمدترین دانشکده‌های زیستی در سطح کشور که در مقطع ارشد و به‌خصوص دکترا، باوجوداین‌که دانشگاه تربیت مدرس مقطع کارشناسی ندارد، از هر ۶ رشته منتخبِ اکثر نفرات برتر کنکور

ارشد و دکتری هست. طبق ارزیابی خارج دانشکده ازلحاظ شاخص‌های موجود، دانشکده ما در سنوات مختلف جز سه دانشکده ممتاز دانشگاه تربیت مدرس است؛ اما بااین‌وجود تأکیدی که داریم روی مباحث بین‌الملل است و خوشبختانه در حال حاضر تعداد زیادی از اساتید اینجا کار مشترکی با اساتید بین‌المللی انجام داده و مقالات مشترکی نگارش کرده‌اند.

در دانشکده دارای ۸ شرکت دانش‌بنیان هستیم و اکثر اساتید توانسته‌اند از علمی که دارند برای کسب درآمد مناسب استفاده کنند در میان این ۸ شرکت ۴ شرکت دارای درآمدهای بسیار بالایی هستند و همچنین برای دانشجوهای علاقه‌مند ایجاد شغل و درآمد متناسب با تحصیلات خود کنند؛ و این همان چیزی است که باید اتفاق بیافتد. یکی از مهم‌ترین شاخص‌های دانشکده ما محبت و صمیمت بین دانشجوها و اساتید است و این چیزی است که باید در یک نهاد علمی و در هرکجا که مبنای علمی دارد نمایان باشد.

من علاوه بر کارهای اجرایی که عرض کردم یک شرکت دانش‌بنیان نیز دارم و در این حیطه موفقیت‌های زیادی هم داشته‌ام و توانسته‌ام جوایزی ازجمله جایزه رازی که زیر نظر وزارت بهداشت است و جایزه علامه که تحت نظر بنیاد نخبگان اهدا می‌شود، را کسب کنم. امسال هم به‌عنوان یک درصد دانشمند برتر انتخاب شدم. همچنین علاوه بر کارهای علمی و مدیریتی در دانشکده کمی در شرکت‌های دانش‌بنیان دیگر مشغول به مشاوره علمی دادن هستم ازجمله شرکتی که هفته پیش در صفادشت تأسیس شد که کارخانه آنزیم صنعتی هست.

• فعالیت دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس در چه زمینه‌هایی بوده است؟ و خروجی و چشم‌انداز این فعالیت‌ها چه بوده است.

اساتید در حال حاضرتمرکز بیشتری بر روی کاربرد علوم زیستی در صنایع مختلف که ثمره آن ۸ شرکت دانش‌بنیان مستقل از هم هست که به لطف و مرحمت هیئت‌رئیسه دانشگاه و معاون پژوهشی و فناوری این اختیار به اساتید داده شد که بتوانند به پشتوانه علم خود یک کسب‌وکار دانش‌بنیان ایجاد نمایند از سوی دیگر اساتید محترم دانشکده در دیگر شرکت‌های صنایع مختلف برای پیشرفت و تأسیس مشورت می‌دهند که آن‌هم یک نوع انتقال دانش هست. همچنین چند تن از اساتید دانشکده در سیاست‌گذاری علم و فناوری علوم زیستی یا به‌طور مستقیم مؤثر بوده یا غیرمستقیم در کمیته‌های مختلف وجود داشتند ازجمله نوشتن نقشه جامع علم و فناوری، سند زیست‌فناوری کشور که در سال ۱۳۷۴ شورا عالی زیست‌فناوری تشکیل شد و تعدادی از اساتید این دانشکده در آن شورا حضور داشتند که منجر به سند سبز در شورا عالی انقلاب فرهنگی گشت.

ارسطو می‌گوید چیزی به نام علم کاربردی وجود ندارد چیزی که وجود دارد علم و کاربرد علم است؛ یعنی ابتدا باید علم را آموخت و پس‌ازآن باید سراغ کاربرد آن رفت. درست است که در اینجا تنها کلمه جابه‌جا می‌شود اما در سطح کلان و مرور زمان می‌توان متوجه این اصل شد.

علم امروز فنّاوری فرداست. این گفته ادوارد تلر بدین معنا که علم در دسترس امروزه سبب تجهیز به فنّاوری در آینده می‌شود. حال با کمی شخصی‌سازی می‌توان گفت فنّاوری امروز علم دیروز است؛ و حال سؤال اینجاست که چرا ما فنّاوری موردنیاز خود را در دسترس نداریم البته خداروشکر پیشرفته‌های خیلی خوبی در سال‌های اخیر صورت گرفته است اما کافی نیست؛ و این همان ارتباط دانشگاه و صنعت است چراکه صنعت به علم دیروز و فنّاوری‌های امروز نیاز دارد. به‌طور مثال واردات سالانه انسولین در کشور بسیار هزینه‌بر است و نرخی نزدیک به ۷۰۰ میلیارد واردات هرساله در این زمینه متقبل می‌شویم. سال ۱۹۸۲ اولین کمپانی تولیدکننده انسولین ساخته شد می‌توانم به جرات بگویم ما همچنان علمش را نداریم. اکثریت دانشگاه‌ها سرگرم علم امروزند که فنّاوری آینده را می‌سازد. یکی از سیاست‌گذاری انجام‌شده در سال ۱۳۷۳ این بود که تعداد مقالات علمی را بالا ببرند. درنتیجه اگر کسی روی انسولین مطالعه می‌کرد مقاله‌ای از آن منتشر نمی‌شد بنابراین ما بالاجبار از علوم انباشته در دنیا استفاده کردیم و تحقیقات خود را بر پایه آنان ادامه دادیم. روی مرز دانش حرکت کردیم و البته که افتخارات زیادی هم‌کسب شد اما از طرفی بر اساس صحبت ادوارد تلر در حال حاضر آن‌ها فنّاوری امروز می‌سازند و مسلم است که ما در تحقیقاتی مثل نانو ازلحاظ فنّاوری آینده کمی جلوتر هستیم اما فنّاوری امروز به دلیل نبود علم دیروز وجود ندارد. در نظر من دانشگاه نسل سوم را باید بومی ساز کنیم یعنی سعی کنیم برای کسب درصد مشخصی از علم دیروز انرژی صرف کنیم و باقی برای مقالات فنّاوری فرداها. با این دیدگاه دانشکده علوم زیستی ما در حال تلاش است تا بتواند

نقش مؤثری را در فنّاوری امروز و فردا ایفا کند.

• در مقایسه با کشورهای پیشرفته علوم زیستی کشور در چه جایگاهی قرار دارد؟

در نظام رتبه‌بندی سایماگو علوم زیستی ما رتبه سیزدهم در جهان و اول در منطقه است. سال‌ها پیش سندی در امریکا نوشته شد که ادعا می‌کرد چهار مشکل جهانی وجود دارد: محیط‌زیست، انرژی، غذا و سلامت. راه‌حل پیشنهادی آنان برای رفع این مشکلات شناخت موجودات زنده است همچنین بدین نتیجه رسیدند که شناخت موجود زنده تنها وظیفه زیست‌شناس نیست بلکه باید ریاضی‌دانان، مهندسین، شیمیدانان و متخصصین پزشکی و کشاورزی به‌صورت همگرا بدان بپردازند. این امر خواستار این است که به‌طور مثال یک زیست‌شناس بداند که یک فرد متخصص ریاضی چه کمکی می‌تواند به حوزه کاری او بکند. این نگاه که تحت زیست‌شناسی نوین است و بر اساس آن رشته‌هایی مثل ریاضیات زیستی، بیوالکترونیک و بسیاری رشته‌های دیگر به زیست وارد شدند که پیشرفت‌های حال حاضر جهان در این زمینه مدیون آن نگاه است. چه‌بسا ما نیز می‌کوشیم باقوت دادن بدین نگاه در آینده فقدان آن را حس نکنیم. یکی از شاخه‌های متولدشده از این نگاه سیستم‌های زیستی نام دارد که در دانشگاه ما نیز توسط اساتیدی همچون دکتر میرزایی تدریس می‌شود اما متأسفانه باوجود محدودیت‌های کشوری ما تنها قادر به کار روی فاز ٤ آن هستیم به عبارتی ما تنها می‌توانیم بر روی‌داده‌های در دسترس خارجی که شخصی‌سازی نشده‌اند و توسط افراد دیگر جمع‌آوری و به‌دست‌آمده‌اند تحقیقات خود را انجام دهیم؛ زیرا برای اینکه ما دستگاه‌های برای توالی‌یابی ژن و پروتئین و RNA نداریم. این کمبودهای فنّاوری تبعاتی دیگری مثل عدم دستیابی به پزشکی شخصی را نیز دارد. من خود دارای یک هسته پژوهشی به نام پروتئین با پروتئومیکس بیماری‌ها هستم و بروی صرع و سرطان گوش و حلق و بینی کار می‌کنم اما متأسفانه به دلیل عدم دسترسی به ابزارهای لازم در ایران با همکاری بین‌المللی در حال گسترش آن هستیم.

• لطفاً کمی درباره بورسیه در نظر گرفته‌شده برای دانشجویان علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس توضیح دهید.

افرادی خیر لطف داشتند و خواستار بورس کردن ٤ تا از دانشجویان ارشد زیستی شدند که به مدت سه ترم ماهی یک‌میلیون تومان به هر فرد برای پیش‌برد کار تحقیقاتی خود داده خواهد شد. سعی بر این است که دانشجویان ارشد پرقدرت و باانگیزه توسط کمیته از اساتید هر گروه بر اساس شاخص‌های علمی که به‌زودی در این کمیته مشخص می‌شود، انتخاب شوند. هدف بر این است که تعداد دانشجویان را زیاد نموده تا دانشجویان بیشتری بتوانند از این امتیاز استفاده نمایند.

• در آخر چه توصیه‌هایی برای دانشجویان علاقه‌مند به این رشته دارید؟

اول علم، دوم علم و سوم علم. علم را خوب یاد بگیرند و همچنین ما نیز وظیفه داریم امکانات و زیرساخت‌هایی برای اینکه دانشجو بتواند در خیال راحت و آرامش ذهنی علم را یاد بگیرد انجام دهیم؛ و چقدر عالی می‌شود اگر دانشجو، به جامع خواندن و یادگیری همه مباحث رشته خود در کارشناسی بپردازد این کار سبب داشتن دید بازتری در کار و تحقیق می‌شود و در آخر توصیه می‌کنم که زمان‌های ارزشمندشان را از دست ندهند و به کارهای مفید و تفریحات شاد بپردازند.

افتخارات انجمن علمی دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت مدرس

GenIran Research Laboratory

Genetics,Biotechnology,Bioinformatics

آزمایشگاه ژنیران، بابهره گیری از تجهیزات به روز در زمینه های مختلف زیست فناوری و ژنتیک، آماده ارائه خدمات آموزشی و پژوهشی می باشد.

برای کسب اطلاعات بیشتر کلیک کنید

www.geniranlab.ir

021-86073470

021-86073491

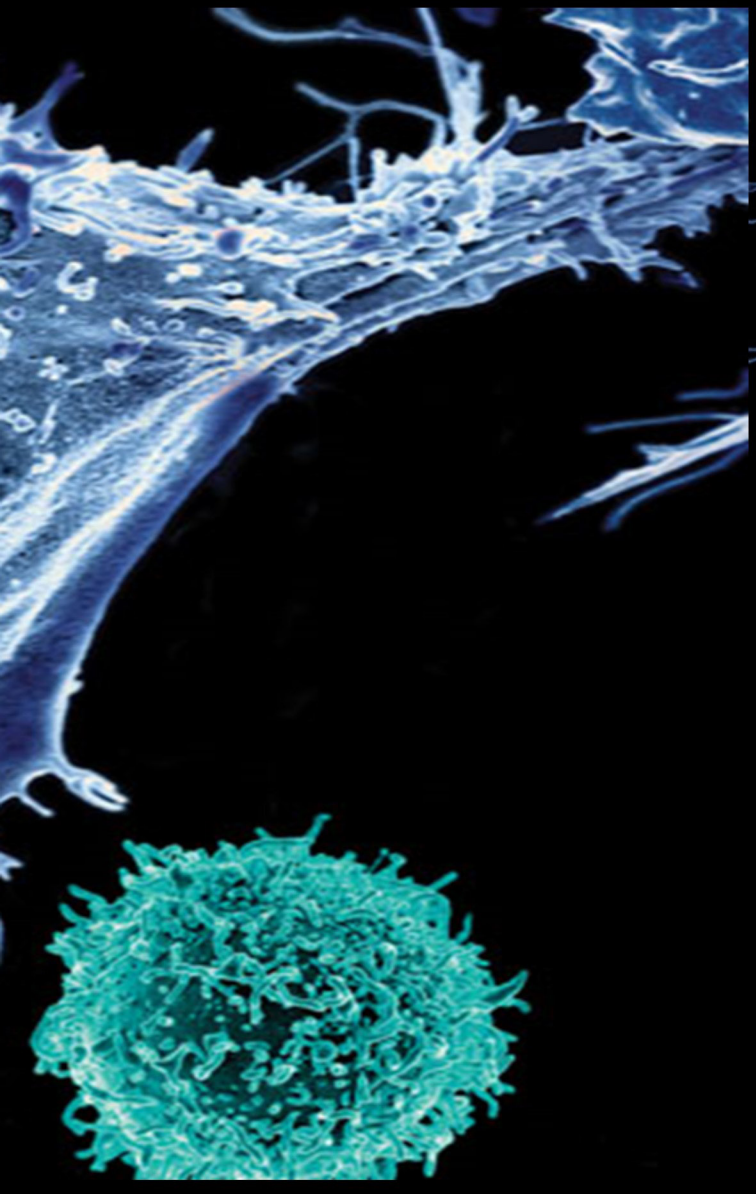
genirann@gmail.com

info@geniranlab.ir.com

instagram.com/geniran

telegram.me/geniranlab

زیست نوین



کار تی سل درمانی (CAR-T cell Therapy)

کار تی سل درمانی نوعی درمان نوین است که در آن لنفوسیت‌های T از خون بیمار گرفته شده و پس از وارد کردن ساختاری ژنتیکی پذیرنده کایمریک آنتی ژن به درون آن‌ها بصورت مخفف کار (CAR construct) نامیده می‌شود، مجدداً به بدن بیمار برگردانده می‌شود. این سلول‌ها می‌توانند به‌واسطه تغییراتی که در سلول‌های بیمار با استفاده از مولکول CAR انجام شده اختصاصاً به سلول‌های سرطانی حمله کرده و آن‌ها را از بین ببرند. این سلول‌های اصلاح ژنتیکی شده، پس از بررسی‌های کنترل کیفیت، جهت تزریق به بیمار در اختیار پزشک معالج قرار می‌گیرند. در دنیا تاکنون دو محصول مبتنی بر درمان با کارتی سل مجوز استفاده دارد. Kymriah که اولین محصولی بود که توسط شرکت نوارتیس در سال ۲۰۱۷ برای درمان سرطان B-ALL معرفی شد و نرخ بهبودی ۸۳ درصدی را نشان داد و محصول دوم به‌نام Yescarta که برای درمان لنفوم غیر هوچکین نرخ بهبودی ۷۲ درصدی را نشان داد. تصویر مورد استفاده در جلد این اثر نشان‌دهنده سلول‌های T بیمار (سبز) از نظر ژنتیکی اصلاح شده‌اند که سلول‌های سرطانی را شکار کرده و از بین می‌برند (آبی) که در سال ۲۰۱۷ توسط Prasad S. Adusumilli در مرکز سرطان Memorial Sloan Kettering تهیه شده است.