باسمه تعالی

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده مهندسی مواد

سمینار دفاع از رساله دکتری مهندسی فناوری نانو

با عنوان

ساخت و تشخیص توالی آپتامر DNA توسط تراشه میکروسیال و ساخت آپتا حسگر الکتروشیمیایی -کریستال کوارتز میکروبالانس با پوشش نانو ساختار برای آشکارسازی پروتئین p۵۳

ارائه دهنده: رعنا باقری

زمان: دوشنبه ۱۴ تیرماه ۱۴۰۰(ساعت ۱۰ صبح) به صورت مجازی

اساتید راهنما: دکتر فتح الله کریم زاده، دکتر احمد کرمانپور

استاد مشاور: دکتر مهشید خرازیها

اعضای کمیته داوران: دکتر محمد حسین عنایتی، دکتر مجید مقدم، دکتر شیدا لباف

چکیده

در این پژوهش تشخیص توالی آپتامر p۵۳، ساخت حسگر برپایه آپتامر- نانوذرات و استفاده از گیرنده زیستی p۵۳ برای تشخیص سرطان با حساسیت بالا در کوتاه‌ترین زمان صورت گرفته است. در این راستا، الکترود طلا با پوشش نانو ذرات مس استفاده شده است. حضور نیتریک اسید بر روی زیر لایه به روش اکسایش شیمیایی به‌منظور فعال کردن سطح الکترود انجام‌شده است. در ادامه، تثبیت آپتامر AS۱۴۱۱ اصلاح نشده به‌عنوان آپتامر نمونه آنالیز بر سطح الکترود طلا با پوشش نانو ذرات مس(غلظت بهینه ۳۰ میلی‌مولار) توسط رسوب الکتریکی در زمان و غلظت بهینه به ترتیب ۲۰ دقیقه و ۱۰میکرومولار انجام شد. در ادامه حسگر برپایه آپتامر DNA بر روی الکترود کربن شیشه‌ای با پوشش نانو ذرات طلا/ گرافن اکسید/بسپار رسانا استفاده شد. در ابتدا دو توالی آپتامر DNA پروتئین p۵۳ توسط روش سلکس با تراشه میکروسیال با اعمال میدان متناوب تحت بسامد ۱ مگاهرتز شناسایی شد. حسگر پیشنهادی توسط عنصر تقویت‌کننده نانو ذرات طلا/مونومر/آپتامر تقویت‌کننده –تولوئیدین بلو(TBO) ایجاد شد. به‌منظور تشخیص پروتئین، از روش ساندویچی دوآپتامر استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد که حضور نانوذرات اکسید مس/مس ناشی از اکسایش شیمیایی برپایه نیتریک اسید به خاطر کاهش انحلال و آزاد سازی یون مس مناسب برای تثبیت آپتامر نیست. حسگر بلور کوارتز میکروبالانس(QCM)، بیانگر تثبیت آپتامر DNA بر روی سطح الکترود نانو ذرات مس ناشی از نیروی دافعه الکترو ستاتیکی بین گروه فسفات آپتامر و بارهای منفی محلول الکترولیت $Fe(CN)_6^{-3/-4}$ و افزایش جرم برسطح الکترود کوارتز بود. مقدار سطح فعال الکترود تحت پوشش نانو ذرات مس و آپتامر به ترتیب ۲۷٪ و ۱۵٪ تخمین زده شد. میزان ثابت تفکیک دو آپتامر در حضور پروتئین p۵۳ توسط الکترود کربن چاپ‌شده با آزمون امپدانس الکتروشیمیایی۳۸/۲۹ و ۳۹/۵۴ نانومولار گزارش شد. تأثیر عامل‌های سنتز شامل پتانسیل اعمالی، دما، pH، غلظت آپتامر پوشاننده، زمان برهمکنش عنصر تقویت‌کننده توسط آمپرومتری انجام شد. نتایج حاصله در شرایط بهینه بررسی الکتروشیمیایی با استفاده از آمپرومتری، بیانگر حد تشخیص بسیار پایین ۰/۲۹ پیکوگرم بر میلی‌لیتر (۶/۱۷ پیکومولار) در بافر فسفات سالین و ۰/۳۴۱ پیکوگرم بر میلی‌لیتر در پلاسمای خون انسانی و بازه خطی ۱ تا ۳۰۰ پیکوگرم برای حسگر بود. پایداری حسگر ساخته شده بعد از سه هفته و گزینش پذیری بالا در حضور مزاحمت‌های مولکولی بررسی شد. بررسی بلور کوارتز میکروبالانس نشان داد که مقدار ۵۴۱/۴±۰/۹ نانوگرم پروتئین روی الکترود تثبیت شده است. به منظور ارتقای پایداری و افزایش رسانندگی الکترود از بسپار تولوئیدین بلو و اکسید گرافن احیا شده در سطح نانو ذرات طلا که توسط بسپار TBA اصلاح شده بود، برای شناسایی آنالیت گلوکز استفاده شد. شایان ذکر است که با حضور سلول‌های سرطانی مقدار گلوکز کاهش پیدا می کند. نتایج حاصله در شرایط بهینه بررسی الکتروشیمیایی با استفاده از آمپرومتری، نشان داد که حد آشکارسازی ۵/۶۴ میکرومولار در بافر فسفات سالین و ۶/۵۱ میکرومولار در پلاسمای خون انسانی و بازه خطی ۶ تا ۱۱ میلی مولار برای حسگر بود و پایداری آن به مدت یک ماه ارتقا یافت و گزینش پذیری بالایی در حضور مزاحمت‌های مولکولی را نشان داد. نتایج این پژوهش بیانگرعملکرد بسیار خوب و قابل کنترل الکترود کربن اصلاح‌شده برای ایجاد حسگر مناسب در شناسایی ماکر سرطانی پروتئین p۵۳ و گلوکز است.

کلمات کلیدی: حسگر الکتروشیمیایی، حسگر بلور کوارتز میکروبالانس، آپتامر DNA، بسپار رسانا، پروتئین p۵۳، گلوکز.