انجمن سلول‌های بنیادی و پزشکی بازساختی دانشگاه الزهرا(س)

نشریه علمی دانشجویی

به توان سلول

شماره سیزدهم، پائیز ۱۴۰۲

آنچه در این شماره می‌خوانید:

زیست فناوری پزشکی، در خدمت انسان
توالی‌یابی ژنوم با روش ایلومینا (Illumina)
روش‌های جادویی چاپ سه بعدی، ساخت رگ‌های خونی مصنوعی
زیست نگار
استراتژی درمان گلوکوم (آب سیاه) برای هدایت سلول های بنیادی به شبکیه
مبارزه با سرطان به کمک نانوپهپادها
تشخیص سرطان ریه با ساده‌ترین امکانات!

بسم الله الرحمن الرحیم

فصلنامه علمی- دانشجویی زیست شناسی دانشگاه الزهرا(س) تهران

سال چهارم، شماره سیزدهم، پائیز ۱۴۰۲

صاحب امتیاز: انجمن سلول‌های بنیادی و پزشکی بازساختی دانشگاه الزهرا(س)

مدیر مسئول: الهام ریاضی فرادنبه

سردبیر: الهام ریاضی فرادنبه

هیئت تحریریه این شماره: باران حسینیان، الهام ریاضی فرادنبه، سیده عارفه صادقی، زهرا محبی، شایسته مقدم‌راد، آیدا ملکی

ویراستار: الهام ریاضی فرادنبه

استاد مشاور: دکتر نسیم قربانمهر

صفحه آرا، گرافیست و طراح جلد: پوریا حسین‌آبادی

آدرس: تهران، ونک، ده ونک، دانشگاه الزهرا(س)

ساختمان معاونت فرهنگي و اجتماعي دانشگاه الزهرا

رایانامه: btavancell۲۰۲۰@gmail.com

بهاء: رایگان

سخن سردبیر

شماره ۱۳ از فصلنامه‌ی به توان سلول، سفری است به دنیای پزشکی بازساختی، جایی که علم به عنوان یک چراغ راه امید مسیرهای درمانی پرشور آینده را به روی ما روشن می‌کند و در هارمونی بین زندگی و فناوری، کلید دست یافتن به پیشرفت‌های بی‌سابقه در پزشکی پیدا می‌شود.

این سفر را با روش‌ها و تکنیک‌های نوین بیوتکنولوژی پزشکی که در واقع پایه و اساس بسیاری از پیشرفت‌هایی است که در درمان و پزشکی شخصی به کار برده می‌شوند آغاز کرده، در میانه‌ی راه توشه‌ی خود را با اعجاب فرایند جادویی چاپ زیستی و تکنیک‌های آن پر می‌کنیم و در پایان، در بخش محبوب این فصلنامه یعنی زیست نگار به صورت یک سمفونی از راه‌حل‌ها که از مرزهای معمول پزشکی فراتر می‌روند درباره‌ی جدیدترین روش‌های درمانی که در دنیای علم به گوش می‌رسند صحبت می‌کنیم.

همراه ما باشید تا مثل همیشه، شاهد ترکیب تخصص پزشکی و ابتکارات فناورانه‌ای باشیم که ما را به مرزهای پزشکی بازساختی هدایت می‌کند. روح پیشروی را کشف کنیم که ما را به سوی آینده‌ای هدایت می‌کند که در آن شرایط ایستا، نه تنها مدیریت می‌شوند، بلکه رو به جلو حرکت می‌کنند؛ جایی که آن‌چه یک زمان غیرممکن بوده، روال معمول می‌شود.

شماره‌ی ۱۳ فصلنامه‌ی به توان سلول اولین شماره‌ایست که با سردبیری بنده منتشر می‌شود. چیزی که این شماره را برای من بسیار با ارزش می‌کند رسیدن به این مساله است که به رغم تمام رکود و ناپایداری شرایط، علم همواره راه خود را پیدا می‌کند و ما را در شگفتی و زیبایی‌های خود غرق می‌کند. جا دارد از تمام افرادی که به نحوی در نشر این شماره نقشی داشته‌اند تشکر کنم و امیدوارم تمام تلاش‌هایی که در مسیر علم صورت می‌گیرند، در راستای بهبود زندگی بشر و رسیدن به آینده‌ای روشن به کار گرفته شوند.

الهام ریاضی فرادنبه، سردبیر نشریه‌ی به توان سلول

فهرست مطالب

زیست فناوری پزشکی، در خدمت انسان	صفحه ۵
توالی‌یابی ژنوم با روش ایلومینا (Illumina)	صفحه ۹
روش‌های جادویی چاپ سه بعدی، ساخت رگ‌های خونی مصنوعی	صفحه ۱۳
استراتژی درمان گلوکوم (آب سیاه) برای هدایت سلول های بنیادی به شبکیه	صفحه ۱۷
مبارزه با سرطان به کمک نانوپهپادها	صفحه ۱۸
تشخیص سرطان ریه با ساده‌ترین امکانات!	صفحه ۱۹

زیست‌فناوری پزشکی در خدمت انسان

آیدا ملکی: دانشجوی کارشناسی دانشگاه آزاد لاهیجان

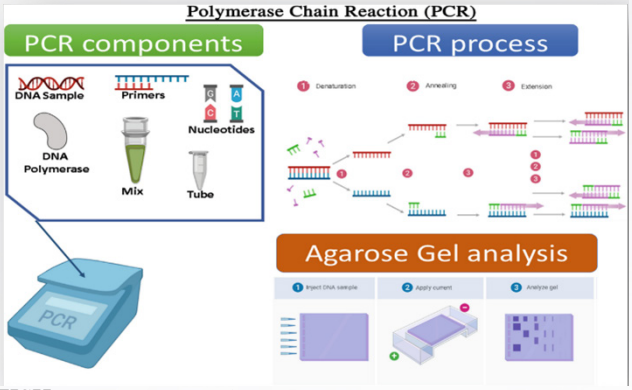
از سال ۲۰۰۱ که ژنوم انسان توالی‌یابی شد، دانشمندان می‌توانند ژن‌های مختلفی را شناسایی کنند که در بسیاری از بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی‌عروقی و بیماری‌های روانی نقش دارند. داروهای زیادی ساخته شده‌اند که با شناسایی ژن‌های مختلف، بسیار انتخابی عمل می‌کنند. همچنین تعداد زیادی از بیماری‌ها مانند فیبروز کیستیک، دیستروفی عضلانی دوشن، بیماری سیستم عصبی هانتینگتون، تالاسمی، هموفیلی، کم‌خونی داسی شکل و سندرم لش نیهان با استفاده از ژن‌درمانی، درمان می‌شوند. تمام این موارد با توسعه زیست فناوری پزشکی امکان‌پذیر شده‌اند. زیست فناوری پزشکی بخشی از علم بیوتکنولوژی است که با نام بیوتکنولوژی قرمز هم شناخته می‌شود. این رشته با استفاده از سلول‌های زنده، مواد سلولی و با بهره‌گیری از فنون پیشرفته مهندسی ژنتیک، در زمینه تحقیق و تولید محصولات دارویی و تشخیصی برای درمان و پیشگیری از بیماری‌ها نقش مفیدی ایفا می‌کند.

تکنیک‌ها و فناوری‌های زیست فناوری پزشکی

۱. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[۱] (PCR)

PCR در سال ۱۹۸۳ توسط فردی به نام کری مولیس[۲] ابداع شد؛ که یک تکنیک متداول و اغلب ضروری در آزمایشگاه‌های بالینی و پژوهشی برای تولید سریع میلیون‌ها تا میلیاردها نسخه از بخش خاصی از DNA است. PCR حاوی زنجیره‌ای از واکنش‌ها است که از طریق آنزیمی به نام DNA پلیمراز انجام می‌شود. این تکنیک به طور کلی شامل سه چرخه دناتوراسیون، اتصال و گسترش است. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در لوله‌ای از جنس پلی‌پروپیلن که حاوی مخلوطی از الگوی DNA، نوکلئوتیدها، پرایمرها (رو به جلو و معکوس) و DNA پلیمراز است، به کمک تغییرات دمایی در دستگاه ترمال سایکلر انجام می‌شود. دمای بالا در طی یک واکنش آزمایشگاهی باعث دناتوره شدن رشته‌های دوتایی DNA به دو رشته منفرد می‌شود؛ در ادامه با کاهش دما پرایمرها می‌توانند به توالی‌های خاصی از DNA هدف که هملوگ با آن‌ها هستند، متصل شوند. سپس DNA پلیمراز نوکلئوتیدهای مکمل را بر اساس رشته الگو در کنار هم قرار داده و در نهایت رشته‌ی مکمل رشته‌ی الگوی اولیه را تولید می‌کند. رایج‌ترین آنزیم مورد استفاده Taq DNA پلیمراز (از Thermophilus aquaticus) است. Pfu DNA پلیمراز (از Pyrococcus furiosus) نیز به طور گسترده استفاده می‌شود. این آنزیم‌ها در برابر دماهای بالا مقاوم هستند به طوری که در طول چرخه‌های PCR که از ۵۰ درجه سانتی‌گراد تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد متغیر است به طور پایدار عمل می‌کنند. از این تکنیک برای اهدافی همچون تشخیص و نظارت بر بیماری‌ها، ناهنجارهای ژنتیکی، بیماری‌های عفونی، شناسایی مجرمان (در زمینه پزشکی قانونی) و مطالعه کارکرد بخشی از DNA هدف استفاده می‌شود. از مهمترین انواع PCR می‌توان به Multiplex، Touchdown، real-time، Reverse transcriptase، Nested PCR و Tetra-primer ARMS PCR اشاره کرد.

۱. Polymerase Chain Reaction
۲. Kary Banks Mullis



۲.ریزآرایه‌ها[۳]

ریزآرایه، تراشه‌ای با چاهک‌هایی دارای توالی‌های متعدد از نمونه‌ها است که روی یک سطح، ثابت شده‌اند. این روش بر اساس قوانین جفت شدن بازها، محیطی را برای جفت شدن نمونه‌های شناخته‌شده با نمونه‌های ناشناخته فراهم می‌آورد؛ این فناوری، امکان بررسی هم‌زمان بسیاری از فعل و انفعالات زیستی و تشخیص بیان هزاران ژن را فراهم می‌کند و در زمینه‌های ژنومیکس (مطالعهٔ مجموعه ژن‌های موجود زنده)، پروتئومیکس (مطالعهٔ مجموعه پروتئین‌های موجود زنده) و ترنسکریپتومیکس (استفاده از منابع ژنومی به منظور مطالعات عملکردی برای شناسایی و مقایسه ژن‌های بیان‌شونده یک ژنوم تحت شرایط مختلف محیطی، رشدی، بافتی و تکوینی) کاربردهای وسیعی دارد. بازده این روش بسیار بالا بوده و در مدت زمان کوتاهی قادر به تحلیل میزان قابل توجهی از اطلاعات است. بهبود فناوری ریزآرایه در جزئیات، با تغییر زیست شناسی مولکولی از فاز کلاسیک خود به فناوری ژنومیک مرتبط است. اگرچه ریزآرایه‌ها ابتدا با DNA شروع شدند، اما اکنون شامل مواردی همچون: ریزآرایه‌های DNA (ریزآرایه‌های cDNA، الیگونوکلئوتیدی، BAC و ریزآرایه‌های MMChips، SNP) برای نظارت بر جمعیت‌های microRNA)، ریزآرایه‌های پروتئین و پپتیدی (برای تجزیه و تحلیل پروتئین و برهمکنش‌های پروتئینی)، ریزآرایه‌های بافتی، سلولی، آنتی‌بادی، آرایه‌های کربوهیدراتی (گلیکوآرایه)، ریزآرایه‌های فنوتیپ و ریزآرایه پروتئین فاز معکوس، می‌شود.

۳.هیبریداسیون فلورسانس (FISH)[۴]

هیبریداسیون درجا فلورسانس یک تکنیک تشخیص ماکرومولکول است که به عنوان یک ظهور جدید در زمینه سیتولوژی محسوب می‌شود و اولین بار در سال ۱۹۶۹ توسط Nerve مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا، به عنوان یک ابزار نقشه‌برداری فیزیکی برای تعیین ژن‌های درون کروموزوم‌ها و تعیین چگونگی آرایش کروموزوم‌ها توسعه یافت. FISH از یک کاوشگر فلورسنت استفاده می‌کند که برای چسبیدن به بخش منحصر به فرد DNA هدف طراحی شده است و می‌توان از آن برای جداسازی بسیاری از جفت‌های کروموزوم و برای تشخیص وجود یا عدم وجود یک توالی خاص در نمونه DNA استفاده کرد. کاوشگرهای فلورسنت فقط زمانی که در معرض انواع خاصی از نور قرار می‌گیرند رنگ تولید می‌کنند. در نتیجه، آسیب شناسان باید از نوع خاصی از میکروسکوپ استفاده کنند که بتواند انواع خاصی از نور را تولید کند و رنگی را که از کاوشگر می‌آید را تشخیص دهد. این فرآیند معمولاً در طی ۲ تا ۳ روز کاری انجام می‌شود که امکان تایید فوری بالینی را در موقعیت-های پزشکی حساس به زمان فراهم می‌کند. تکنیک فیش کاربردهای مختلفی دارد؛ از جمله: تشخیص قبل از تولد ناهنجاری‌های کروموزومی، تشخیص انواع تعداد کپی (CNVs) در بزرگسالان، تشخیص سرطان و تشخیص بیماری‌های عفونی.

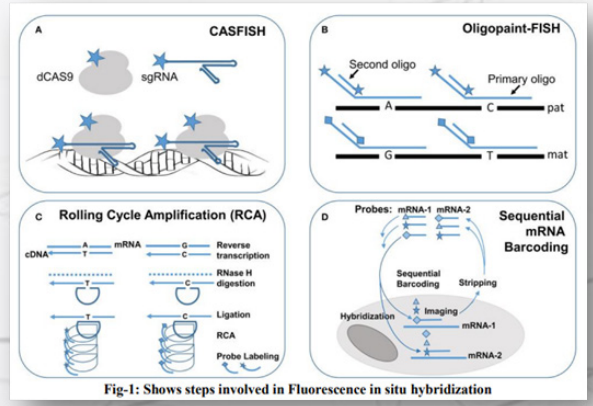


Fig-1: Shows steps involved in Fluorescence in situ hybridization

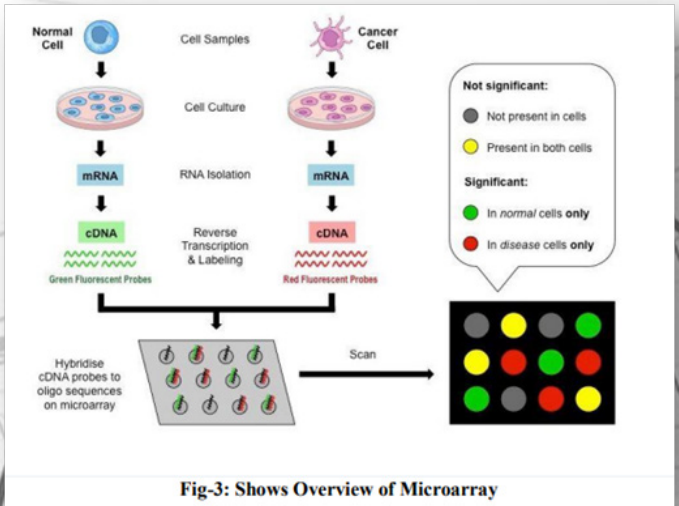


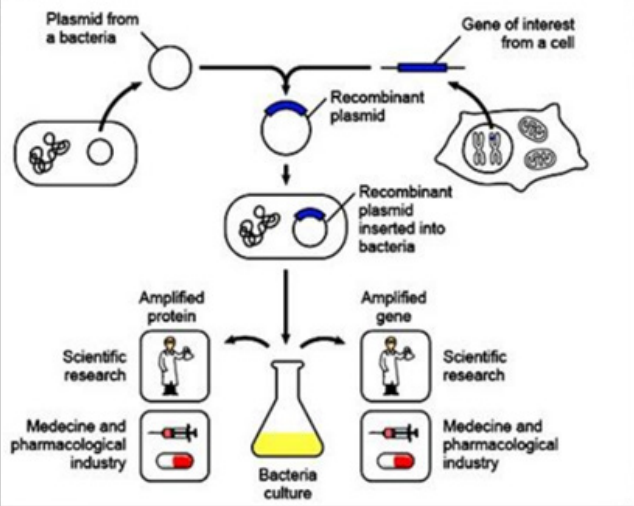
Fig-3: Shows Overview of Microarray

۳. Microarray

٤. fluorescence in situ hybridization

۴. DNA نوترکیب (rDNA)

با استفاده از این فناوری می‌توان یک یا چندین ژن را شناسایی کرد، برش داد و در ژنوم ارگانیسم دیگری قرار داد. به طور کلی، یک فناوری DNA نوترکیب دارای پنج مرحله است: (۱) برش DNA مورد نظر در مکان‌های محدود و مشخص، (۲) تقویت نسخه‌های ژن با PCR، (۳) قرار دادن ژن‌ها در ناقل‌ها (وکتورها)، (۴) انتقال وکتورها به میزبان و (۵) به دست آوردن محصولات ژن‌های نوترکیب. از سال ۲۰۱۹ به دلیل قرار گرفتن در معرض بیماری همه‌گیر کووید ۱۹ در سراسر جهان، بیوتکنولوژی دامنه وسیعی برای کشف دارو و واکسن برای نجات جان انسان‌ها داشته است. فناوری rDNA از ارگانیسم‌های میزبان برای تولید محصولات درمانی برای درمان بیماری‌های انسانی استفاده می‌کند، مانند *E.coli* که برای تولید هورمون انسولین، هورمون‌های رشد، آنتی‌بادی مونوکلونال و سلول‌های مخمر که برای تولید واکسن هپاتیت B هستند، استفاده می‌شوند.



۵. ویرایش ژنوم و ژن‌درمانی

جهش ژنی ممکن است باعث بسیاری از بیماری‌های انسانی مانند دیابت، سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، اختلالات خود ایمنی و بیماری-های روانی شود. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) با بیماری‌های مختلفی از جمله کم‌خونی داسی شکل، نقص ایمنی ترکیبی شدید (SCID)، بتا تالاسمی، هموفیلی، فیبروز کیستیک، فنیل کتونوری و غیره مرتبط است. از زمان کشف ساختار DNA و شناسایی ژن‌ها، توانایی انجام تغییرات موضعی خاص در ژنوم انسان به هدف تحقیقات پزشکی تبدیل شده است و حتی جوایز نوبل شیمی (۲۰۲۰) به دلیل توسعه تکنیک ویرایش ژنوم CRISPR/Cas۹ به J. Doudna و E. Charpentier اهدا شد. قیچی ژنتیکی CRISPR/Cas۹ می‌تواند DNA انسان، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها را با دقت بالایی تغییر دهد. با این تکنیک می‌توان یک یا چندین ژن را وارد ژنوم کرد، جایگزین و یا از ژنوم حذف کرد. در اصل، این تکنیک با یک نوکلئاز خاص شروع می‌شود که باعث شکستن DNA دو رشته‌ای در مکان‌های مورد نظر در ژنوم می‌شود. سپس، مکانیسم ترمیم درونی در سلول‌ها، شکستگی‌ها را به یکی از دو روش نوترکیبی همولوگ یا اتصال انتهایی غیرهمولوگ ترمیم می‌کند. تا به امروز، چهار خانواده از نوکلئازهای مهندسی شده مورد استفاده قرار می‌گیرند: نوکلئازهای انگشت روی[۵]، افکتور نوکلئاز شبه فعال‌کننده رونویسی، سیستم CRISPR/Cas و اندونوکلئازهای ویرایش‌کننده ژنوم.

ژن‌درمانی بر اساس نوع سلول‌های تحت درمان ممکن است به دو گروه طبقه بندی شود: (الف) ژن درمانی ژرملاین و (ب) ژن درمانی سوماتیک. ژن‌درمانی ژرملاین شامل وارد کردن ژن‌های «عادی» به تخمک‌ها، اسپرم، تخمک بارور شده، یا جنین اولیه فرزندان است. ژن درمانی ژرملاین ممکن است برای از بین بردن اختلالات ژنتیکی یا افزایش تنوع ژنتیکی انجام شود. ژن درمانی سوماتیک شامل معرفی مواد ژنتیکی جدید به سلول‌های سوماتیک برای بیان محصولات ژن‌درمانی و درمان بیماری‌های ارثی و اکتسابی است. سلول‌های سوماتیک در معرض ویروس نوترکیب حامل ژن مورد نظر قرار می‌گیرند و پس از آلودگی با ویروس، ژن مورد نظر به بخشی از DNA سلول‌ها تبدیل می‌شود. رویکردها و مفاهیم ژن‌درمانی هنوز در حال پیشرفت هستند و در طول آزمایشات پیش‌بالینی، روی حیوانات آزمایشگاهی در حال بررسی هستند.

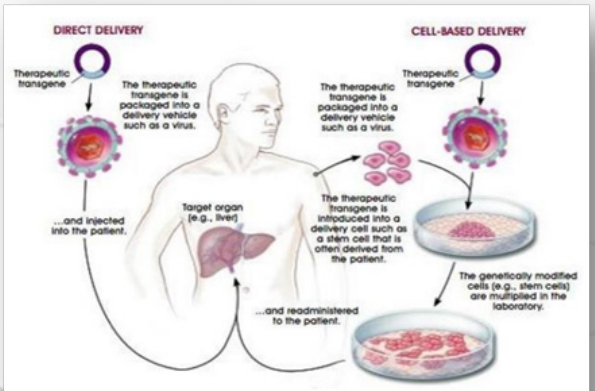


Figure 2. Strategies for Delivering Therapeutic Transgenes.

۵. Zinc Finger Nuclease (ZFN)

۶. RNA تداخلی[۶]

RNA تداخلی (RNAi)، یک مکانیسم طبیعی پس از رونویسی بیان خاموشی ژن در طیف وسیعی از موجودات از جمله مگس‌ها، نماتدها، گیاهان و پستانداران است. خاموشی ژن تابعی از تجزیه RNA به RNAهای کوتاه است که ریبونوکلئازها را برای حمله به mRNA همولوگ فعال می‌کند. این فرآیند توسط آنزیمی به نام Dicer آغاز می شود که dsRNA[۷] طولانی را به قطعات دو رشته‌ای کوتاه در حدود ۲۰ نوکلئوتید به نام siRNA[۸] برش می‌دهد. در نتیجه RNAi یک ابزار ضروری برای مطالعه عملکرد ژن است و اهمیت اساسی خود را در سرکوب انتخابی ترجمه پروتئین با تخریب ژن کدکننده mRNA هدفمند نشان می‌دهد.

از فناوری RNAi در مهندسی گیاهان غذایی، برای تولید مواردی که سطوح کمتری از سموم طبیعی تولید می‌کنند، استفاده شده است. همچنین از RNAiها برای درمان عفونت‌های ویروسی، تومورهای سرطانی، بیماری‌های عصبی، اختلالات کلیوی و غیره استفاده می‌شود. عفونت‌های ویروسی را می‌توان با استفاده از درمان‌های مبتنی بر RNAi، با کاهش فعالیت ژن‌های کلیدی ویروسی درمان کرد. سرطان به دلیل تحریک بیش از حد ژن‌ها در سلول‌ها ایجاد می‌شود و تاخیر در فعالیت آن‌ها می¬تواند پیشرفت بیماری را متوقف کند. درمان‌های مبتنی بر RNAi، رشد HIV، هپاتیت C، فلج اطفال و سایر ویروس‌ها را در کشت سلول‌های انسانی در طی مراحل کارآزمایی بالینی متوقف کردند.

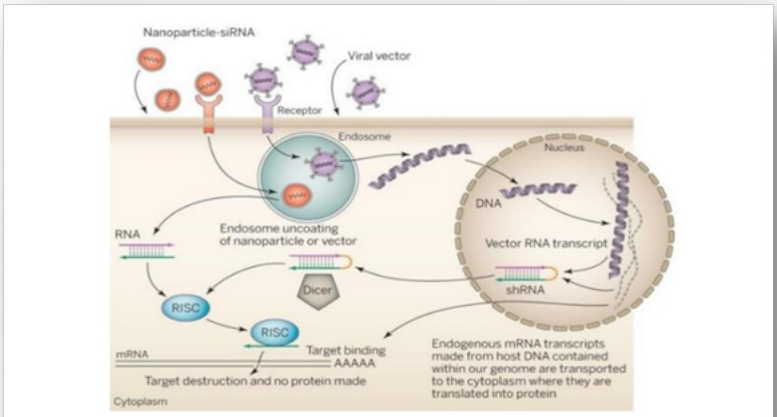
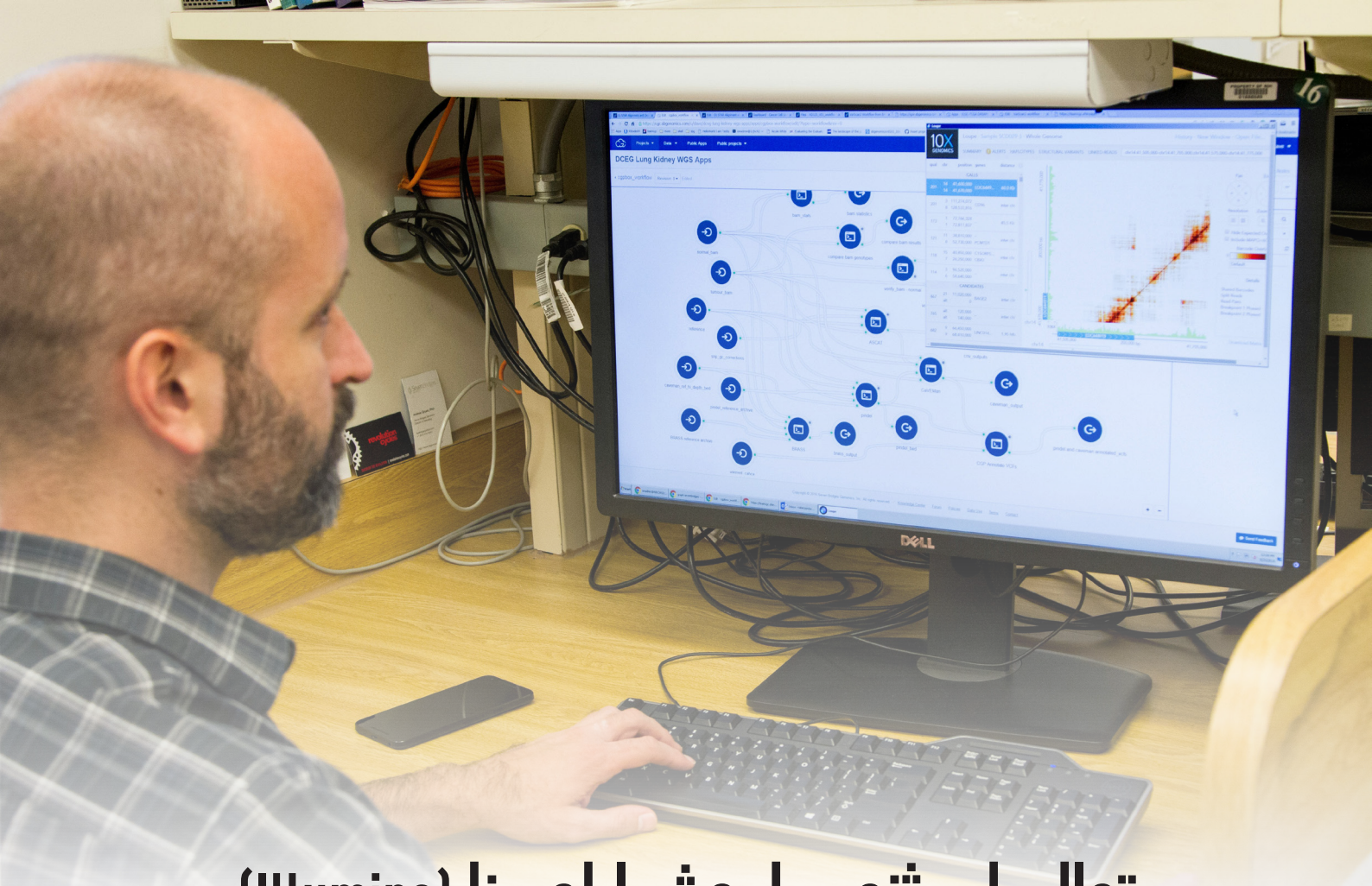


Figure 6. RNAi is the Drug: RNAi delivery approaches include conjugates, liposomal nanoparticles (LNPs), and viral vectors.

توالی‌یابی، کشت سلولی، سلول‌های بنیادی، فرامواد‌ها، نانو بیوتکنولوژی و نانو پزشکی از تکنیک‌ها و فناوری‌های نوظهور دیگر محسوب می‌شوند که کمک اعظمی به پیشرفت بیوتکنولوژی پزشکی کرده‌اند و باعث ارتقاء کیفیت زندگی انسان شده‌اند. با این پیشرفت‌ها و با الزامات نظارتی، بیوتکنولوژی پزشکی طی چند دهه آینده می‌تواند به طور بی‌سابقه‌ای از بیماری‌های انسان پیشگیری و آن‌ها را درمان کند اما همچنان نیازمند تحقیق و توسعه است.

منابع:

۶. RNA Interference
۷. Double stranded RNA
۸. Small interfering RNA



توالی‌یابی ژنوم با روش ایلومینا (Illumina)

«روشی نوین و هیجان‌انگیز که درهای اطلاعات ژنومی را به روی دانشمندان باز کرد»

باران حسینیان، دانشجوی کارشناسی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا (س)

تکامل توالی‌یابی DNA از زمان کروماتوگرافی دو بعدی در دهه ۱۹۷۰ بسیار پیشرفت کرده است. با ظهور روش زنجیره سانگر در ۱۹۷۷، دانشمندان توانایی تعیین توالی DNA را به روشی قابل اعتماد و قابل تکرار به دست آوردند. یک دهه بعد، اولین ابزار توالی‌یابی مبتنی بر الکتروفورز خودکار (CE) معرفی شد که به ابزار اولیه برای پروژه ژنوم انسانی تبدیل شد.

ژنوم آنالایزر در سال ۲۰۰۵ پدیدار شد و به مرور از ۸۴ کیلوباز در هر اجرا به ۱ گیگاباز در هر اجرا رسید. تکنیک توالی‌یابی موازی رویکردی متفاوت بود که قابلیت‌های توالی‌یابی را متحول کرد و «نسل بعدی» را در علم ژنومی راه‌اندازی کرد. از آن نقطه به بعد، خروجی داده‌های نسل بعدی توالی‌یابی (NGS) از هر سال بیش از دو برابر می‌شود. در سال ۲۰۰۵، یک بار اجرا بر روی ژنوم آنالایزر می‌توانست تقریباً یک گیگاباز داده تولید کند. تا سال ۲۰۱۴، این نرخ به ۱,۸ ترابایت داده در یک اجرای توالی بالا رفت.

HiSeq X® Ten System که در سال ۲۰۱۴ منتشر شد، ادعا کرد می‌تواند بیش از ۴۵ ژنوم انسان را در یک روز با قیمت تقریباً ۱۰۰۰ دلار توالی‌یابی کند. جدای از افزایش عظیم در خروجی داده، معرفی فناوری NGS طرز فکر دانشمندان را در مورد اطلاعات ژنتیکی تغییر داده است. این روش، توالی‌یابی در مقیاس جمعیت را امکان‌پذیر می‌کند و پایه و اساس پزشکی ژنومیک شخصی را به عنوان بخشی از مراقبت‌های پزشکی استاندارد ایجاد می‌کند. امروزه محققان می‌توانند هزاران تا ده‌ها هزار نمونه را در یک سال تجزیه و تحلیل کنند.

همان‌طور که اریک لندر، مدیر مؤسسه براد MIT و هاروارد و رهبر اصلی پروژه ژنوم انسانی، می‌گوید :«سرعت پیشرفت خیره‌کننده است. هزینه‌ها همچنان کاهش می‌یابد و ما وارد دوره‌ای می‌شویم که می‌توانیم کاتالوگ کامل ژن‌های بیماری را دریافت کنیم. این به ما این امکان را می‌دهد که به هزاران نفر نگاه کنیم، تفاوت‌های بین آن‌ها را ببینیم و در نهایت ژن‌های مهمی را که باعث سرطان، اوتیسم، بیمارهای قلبی یا اسکیزوفرنی می‌شوند، کشف کنیم.

توالی‌یابی ژنوم انسان در طول دهه‌ها

ظرفیت تعیین توالی ژنوم انسان از دهه ۱۹۹۰ به طور تصاعدی افزایش یافته است. در سال ۲۰۰۵، با معرفی سیستم آنالیز ژنوم ایلومینا، سالانه ۱,۳ ژنوم انسان تعیین توالی شد. تقریباً ۱۰ سال بعد، با سیستم‌های توالی‌یابی Illumina HiSeq X Ten، این تعداد به ۱۸۰۰۰ ژنوم انسان در سال افزایش یافت.

تاریخچه ایلومینا:

Illumina, Inc. یک شرکت بیوتکنولوژی آمریکایی است و به بیش از ۱۵۵ کشور خدمات ارائه می‌دهد. شرکت Illumina که در آوریل ۱۹۹۸ ثبت شد، سیستم‌های یکپارچه‌ای را برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی و عملکرد بیولوژیکی، توسعه داده، تولید و عرضه می‌کند. این شرکت مجموعه‌ای از محصولات و خدماتی را ارائه می‌دهد که به بازارهای توالی‌یابی، تعیین ژنوتیپ و بیان ژن و پروتئومیک خدمت می‌کند. مشتریان Illumina شامل مراکز تحقیقات ژنومی، شرکت‌های دارویی، موسسات دانشگاهی، سازمان‌های تحقیقاتی بالینی و شرکت‌های بیوتکنولوژی هستند.

توالی‌یابی با روش ایلومینا Illumina:

فناوری توالی‌یابی Illumina از تشکیل آرایه کلونال و فناوری‌های اختصاصی، برای توالی‌یابی سریع و دقیق در مقیاس بزرگ استفاده می‌کند. این سیستم توالی‌یابی، روشی خلاقانه و انعطاف‌پذیر است که طیف گسترده‌ای از کاربردها را در ژنومیک، رونویسی و اپی‌ژنومیک ممکن می‌سازد.

فناوری خوشه‌ای

الگوهای توالی‌یابی بر روی یک سطح فلوسل اختصاصی طراحی‌شده برای ارائه DNA، به روشی که دسترسی به آنزیم‌ها را تسهیل کند، ثابت می‌شوند و در عین حال از پایداری بالای الگوی متصل به سطح و اتصال غیراختصاصی جزئی نوکلئوتیدهای نشاندارشده با فلورسنت اطمینان می‌دهند. فرایند تقویت فاز جامد، تا ۱۰۰۰ نسخه یکسان از هر مولکول الگو را در مجاورت آن‌ها (قطر یک میکرون یا کمتر) ایجاد می‌کند. از آن‌جایی که این فرآیند شامل فوتولیتوگرافی، لکه‌بینی مکانیکی، یا قرار دادن مهره‌ها در چاه نمی‌شود، تراکم‌هایی در حدود ده میلیون خوشه‌ی تک مولکولی، در هر سانتی‌متر مربع به دست می‌آید.

توالی‌یابی توسط سنتز

فناوری توالی‌یابی با سنتز (SBS) از چهار نوکلئوتید برچسب‌دار فلورسنت برای توالی‌دهی میلیون‌ها خوشه در سطح فلوسل، به صورت موازی، استفاده می‌کند. در طول هر چرخه توالی‌یابی، یک دئوکسی نوکلئوزید تری فسفات نشاندار شده (dNTP) به زنجیره اسید نوکلئیک اضافه می‌شود. برچسب نوکلئوتیدی به عنوان یک پایان‌دهنده برای پلیمریزاسیون عمل می‌کند، بنابراین پس از هر ادغام dNTP، رنگ فلورسنت برای شناسایی پایه، تصویربرداری می‌شود و سپس به صورت آنزیمی شکافته شده تا امکان ادغام نوکلئوتید بعدی فراهم شود. رقابت طبیعی، سوگیری در ادغام را به حداقل می‌رساند. نتیجه نهایی، توالی‌یابی پایه به پایه‌ی بسیار دقیق است که خطاهای خاص را در توالی زمینه حذف می‌کند.

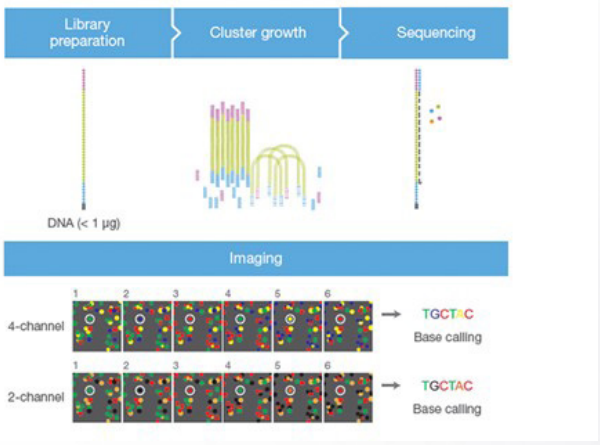
تجزیه و تحلیل داده‌ها

رویکرد توالی‌یابی Illumina حول تعداد زیادی از توالی خوانده شده به صورت موازی ساخته شده‌است. نمونه برداری عمیق و پوشش یکنواخت برای ایجاد ،گردآوردی و کسب اطمینان از دقت بالا در تعیین تفاوت‌های ژنتیکی استفاده می‌شود. نمونه برداری عمیق امکان استفاده از تجزیه و تحلیل آماری، مشابه روش‌های مرسوم، برای شناسایی هموزیگوت‌ها و هتروزیگوت‌ها و تشخیص خطاهای توالی را می‌دهد.

نرم‌افزار جمع‌آوری داده‌های Illumina به کاربران امکان می‌دهد توالی‌ها را با یک مرجع در برنامه‌های توالی‌یابی، مجدداً تراز کنند. این مجموعه نرم‌افزاری شامل طیف کاملی از ماژول‌های جمع‌آوری، پردازش و تجزیه و تحلیل داده‌هاست تا جمع‌آوری و تجزیه و تحلیل داده‌ها را با کمترین مداخله کاربر، ساده کند. فرمت باز نرم‌افزار امکان دسترسی آسان به داده‌ها را در مراحل مختلف پردازش و تجزیه و تحلیل با استفاده از رابط‌های کاربردی ساده می‌دهد.

دقت در پردازش داده‌ها و سادگی در کار

خانواده معرف‌های TruSeq، نشان‌دهنده آخرین پیشرفت فناوری توالی‌یابی Illumina است. از آماده‌سازی نمونه تا توالی‌یابی DNA، TruSeq باعث می‌شود تا دقیق‌ترین داده‌ها را در طیف گسترده‌ای از کاربردها ارائه دهد. با بالاترین بازده و پردازش‌های بدون خطا، محققان می‌توانند بالاترین اطمینان را به یکپارچگی داده‌های خود، برای نتیجه‌گیری بیولوژیکی صحیح داشته باشند. یک چرخه توالی‌یابی بسیار خودکار و کارآمد، به حداقل زمان استفاده از ابزار نیاز دارد. با توانایی تولید چندین گیگا باز از توالی DNA در هربار اجرا، حتی ژنوم‌های بزرگ پستانداران را می‌توان در هفته‌ها به جای سال‌ها توالی‌یابی کرد.



منبع: https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/sequencing-technology/2-channel-sbs.html

روش دقیق توالی‌یابی Illumina:

به منظور دست‌یابی به نسخه‌های زیادی از DNA، با استفاده از آنزیم‌های متعددی که در دسترس هستند، DNA استخراج شده به قطعات کوچکتر خرد می‌شوند؛ همچنین ممکن است با استفاده از فشار قوی هوا و طی فرایند نبولیزاسیون[1] این کار صورت گیرد یا این‌که از شکستن با صوت، یعنی سونیکاسیون[2] استفاده شود که از امواج فراصوت برای شکست پیوندهای DNA استفاده می‌کند. DNA دو رشته با اعمال دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به DNA تک‌رشته‌ای تبدیل می‌شود. سپس آداپتورهایی که در آزمایشگاه ساخته شده‌اند و همچنین اولیگونوکلئوتیدهای مکمل آداپتورها را اضافه می‌شوند تا در نهایت بتوانند به انتهای هر دو رشته DNA متصل شوند.

مرحله بعدی اتصال قطعات DNA به فلوسل است. در حالی که آداپتورها از پیش به آن متصل شده‌اند؛ DNAهای تک‌رشته‌ای افزوده شده تا با اتصال به آداپتورها، به صفحه متصل شوند. در مرحله‌ی بعد پل ایجاد می‌شود. در روش ایلومینا از تکثیر DNA به روش پل استفاده می‌شود. رشته DNA به دو آداپتور متصل شده است که یک انتها متصل به فلوسل و انتهای دیگر آزاد است. آداپتوری که در انتهای آزاد قرار دارد، میل دارد به یکی از آداپتورهای خالی فلوسل متصل شود، به همین دلیل DNA خم شده و از دو سر به فلوسل متصل می‌شود که ساختاری شبیه پل را ایجاد می‌کند. اولیگونوکلئوتیدی که آداپتور انتهای آزاد DNA به آن وصل می‌شود، در صورت توانایی افزودن بازها به مخلوط مدنظر، نقش پرایمر را ایفا خواهد کرد.

پس از رونویسی پرایمر، یک نسخه کامل از روی قطعه DNAای که سر و ته آن متصل به آداپتور بود، ایجاد می‌شود. ساختاری که مشاهده می‌شود یک ساختار پل مانند یا کمان مانند است که هنوز از هر دو سر متصل به فلوسل است.

در مرحله‌ی بعد، دو رشته DNA دناتوره شده و از هم مستقل می‌شوند ومعمولا DNA اصلی از بین می‌رود تا یک بار رشته پیشرو و یکبار رشته پیرو توالی‌یابی شود. این عمل سبب می‌شود تا فقط DNAای که پرایمر را تولید کرده است باقی بماند، همچنین DNA از یکی از انتهاهایش با آداپتورش از سطح فلوسل کنده شده و این باعث می‌شود که دوباره به شکل اولیه‌ی خود بازگردد.

برای حصول نسخه‌های زیادی از DNA، مراحل مذکور باید بارها انجام شوند؛ یعنی مدام DNA تک رشته شود و پل ایجاد کند تا به اداپتور آزاد متصل شود، آداپتور به عنوان پرایمر عمل کند، DNA دو رشته‌ای شود و مجددا مستقل و تک‌رشته‌ای شود؛ یعنی مدام بین حالت دو رشته و تک‌رشته در گردش است. این عمل باعث می‌شود تا بتوان نسخه‌های زیادی از DNA و توالی‌های متفاوتش را به طور همزمان و موازی تکثیر کرد که این باعث می‌شود در وقت و هزینه‌ها صرفه‌جویی شود. به هر مجموعه از یک DNA که در حال تکثیر است، خوشه یا کلاستر گفته می‌شود.

پس از این که تعداد نسخه‌های کافی از DNA ایجاد شد، وقت آن است که توالی‌یابی اصلی انجام شود. به این منظور، نوکلئوتیدهایی که با مارکرهای فلئورسنت نشانه‌گذاری شده‌اند اضافه شده و پس از آن یک فرستنده و گیرنده لیزری که قابلیت خوانش آن‌ها را دارد، خوانش نوکلئوتیدها را انجام خواهد داد. لازم است برای انجام این عمل موادی مانند پرایمرها، بافرها و آنزیم‌های پلیمرازی نیز اضافه شود.

زمانی که همه قطعه‌ها توالی‌یابی شدند، باید داده‌ها مرتب شوند تا مناطقی که اوورلپ[3] دارند پیدا شوند. این بخش در حالت معمول بسیار وقت‌گیر است اما با روش ایلومینا فقط بین ۷-۱۴ روز زمان می‌برد. همچنین نیاز است که قطعات مرتب شوند تا ژنوم کلی حاصل شود؛ دستگاه ایلومینا این عمل را به صورت خودکار به انجام می‌رساند.

توالی‌یابی Illumina، توان عملیاتی بالایی دارد؛ این پلتفرم‌ها

۱. nebulization
۲. sonication
۳. overlap

می‌توانند حجم زیادی از داده‌های توالی‌یابی را در مدت زمان نسبتاً کوتاهی تولید کنند که آن‌ها را برای پروژه‌های ژنومی در مقیاس بزرگ مناسب می‌کند.

فناوری توالی‌یابی Illumina به دلیل دقت بالا، با نرخ خطای کم شناخته می‌شود که برای کاربردهایی مانند تشخیص بالینی و شناسایی تغییرات ژنتیکی بسیار مهم است. همچنین این فناوری مقیاس‌پذیر است و به محققان اجازه می‌دهد ژنوم‌های کوچک یا بزرگ و همچنین چندین نمونه را به صورت موازی توالی‌یابی کنند. علاوه بر تمام این موارد، توالی‌یابی Illumina در مقایسه با سایر فناوری‌های توالی‌یابی، مقرون به صرفه است و آن را برای طیف گسترده‌ای از تحقیقات و کاربردهای بالینی قابل دسترس می‌کند.

به طور کلی ایلومینا کاربردهای مختلف توالی‌یابی، از جمله توالی‌یابی کل ژنوم، توالی‌یابی هدفمند، توالی‌یابی RNA و موارد دیگر را ارائه می‌دهد اما از طرفی، توالی‌یابی Illumina می‌تواند جمع‌آوری ژنوم‌ها با توالی‌های تکراری یا با تغییرات ساختاری را دشوار کند و همچنین با وجود دقت بالا، باز هم می‌تواند خطاهایی را به ویژه در مناطقی با محتوای GC یا هموپلیمرهای بالا، ایجاد کند.

همین‌طور تجزیه و تحلیل داده‌های توالی‌یابی Illumina می‌تواند پیچیده باشد و به تخصص بیوانفورماتیک و منابع محاسباتی نیاز داشته باشد که ممکن است برای برخی از کاربران چالش‌برانگیز باشد.

به طور خلاصه، توالی Illumina توان عملیاتی و دقت بالایی را ارائه می‌دهد و مقرون به صرفه است. اما همچنین دارای محدودیت‌هایی در تجزیه و تحلیل داده‌ها است. محققان باید این عوامل را هنگام انتخاب فناوری توالی‌یابی مناسب برای کاربردهای خاص خود، در نظر بگیرند.

منبع:

روش‌های جادویی چاپ سه بعدی، ساخت رگ‌های خونی مصنوعی

الهام ریاضی، دانشجوی کارشناسی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا (س) تهران
با همکاری سیده عارفه صادقی، دانشجوی کارشناسی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا (س) تهران

چاپ سه بعدی با کاربردهای عمده در زمینه پزشکی به سرعت تکامل یافته است. یکی از بزرگترین پیشرفت‌هایی که منجر به پرینت زیستی سه بعدی شد، توسعه مواد زیستی، سلول‌ها و اجزای پشتیبان برای ساخت بافت‌های زنده، کاربردی بود. چندین روش و تکنیک مختلف پرینت زیستی سه بعدی به طور خلاصه در اینجا توضیح داده شده است و کاربردهای پرینت سه بعدی برای ساخت رگ های خونی مصنوعی ارائه شده است. انتظار می‌رود تحقیقات و نوآوری‌های میان‌رشته‌ای آینده، زمینه‌های مهندسی بافت و پزشکی بازساختی را متحول کند.

چاپ سه بعدی در دهه‌های گذشته توجه فزاینده‌ای را به خود جلب کرده است و در حال حاضر در بخش‌های مختلف صنعتی برای ساخت سریع و آسان سازه‌ها و مواد پیچیده استفاده می‌شود. چاپ سه بعدی، به پیشرفت‌های قابل توجهی در بخش مراقبت‌های بهداشتی (پرینت زیستی سه بعدی)، به ویژه در پزشکی بازساختی منجر شده است، زیرا فرایند چاپ، تولید سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها را بر اساس تقاضا تسهیل می‌کند. این پیشرفت‌های فناوری منجر به ایجاد زمینه‌های علمی جدید مانند «مهندسی بافت» شده است.

توسعه در چاپ زیستی سه بعدی عمدتاً ناشی از دسترسی محدود به اندام‌ها در سطح جهانی بوده است که برای بازسازی اندام‌ها و بافت‌های از دست رفته یا از کار افتاده مورد نیاز است. چالش‌برانگیزترین و سخت‌ترین کاربردها برای بافت‌های مهندسی شده شامل بافت‌های پوست، غضروف، بافت سخت مانند استخوان، بافت قلب و بافت‌های عروقی است.

مدل‌سازی پزشکی یکی دیگر از زمینه‌هایی است که در آن پرینت سه بعدی به طور فزاینده‌ای در حال استفاده است. در فرآیندهای بالینی، مدل‌های پرینت سه بعدی برای برنامه‌ریزی جراحی و آموزش پزشکی مفید واقع شده‌اند.

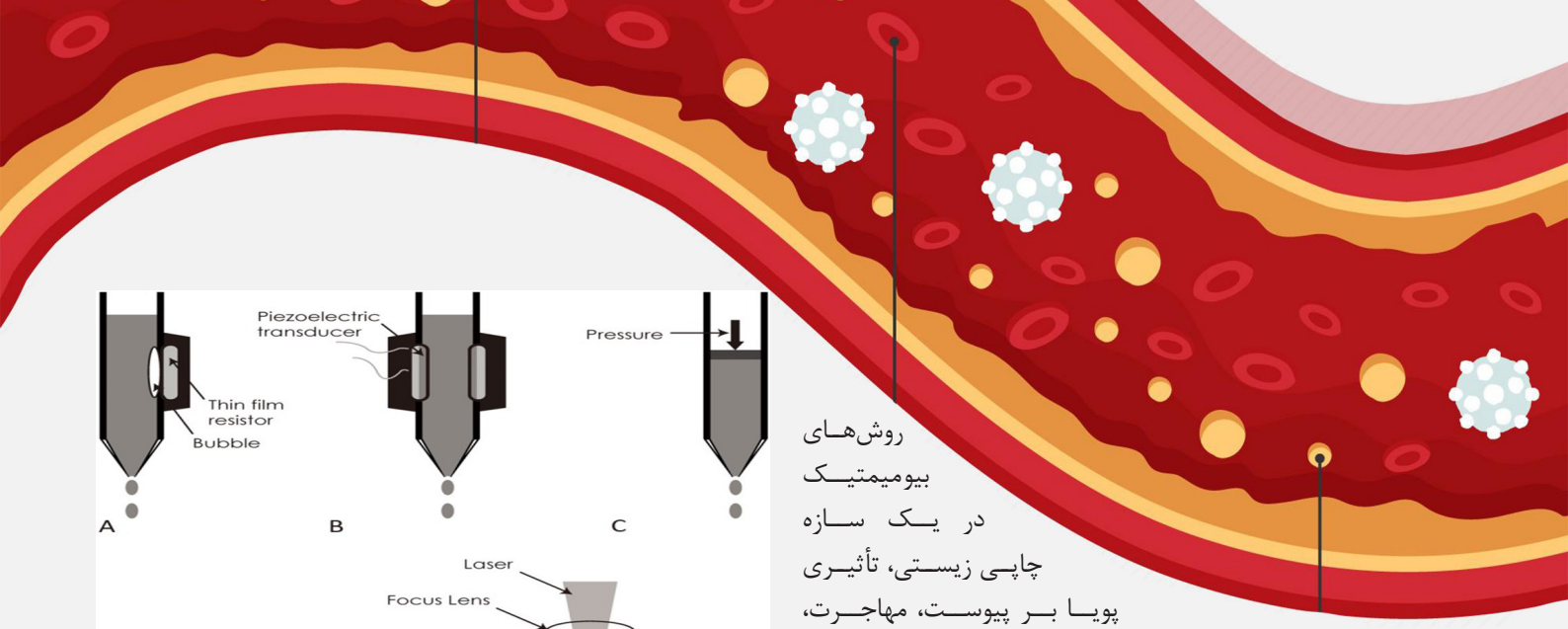
به طور کلی، بیوفبریکاسیون[1] را می‌توان به عنوان «تولید خودکار محصولات بیولوژیکی عملکردی با سازماندهی ساختاری از سلول‌های زنده، مولکول‌های فعال زیستی، مواد زیستی، توده‌های سلولی مانند میکروبافت‌ها، ساختارهای ترکیبی سلول-مواد از طریق چاپ زیستی یا مونتاژ زیستی» تعریف کرد. تکنیک‌های مهندسی زیستی برای ساخت رگ‌های خونی مصنوعی توسط گروه‌های مختلفی مورد مطالعه قرار گرفته است. فناوری‌های چاپ سه‌بعدی می‌توانند ساخت سریع و دقیق داربست‌ها را برای سلول‌سازی با پیش‌سازهای عروقی یا مخلوط‌هایی از سلول‌های عروقی بالغ انسان برای تولید رگ‌های خونی به صورت زیستی مهندسی کنند. پیشرفت در چاپ زیستی سه بعدی ناشی از نیاز روزافزون به رویکردهای ساخت‌وساز جایگزین برای توسعه بافت‌ها و حتی اندام‌ها است، زیرا روش‌های مرسوم موجود، قادر به ساخت مواد و سازه‌هایی با خواص ساختاری، مکانیکی و بیولوژیکی لازم مانند زیست‌سازگاری و پیچیدگی نیستند.

اصول اولیه پرینت زیستی سه بعدی

به طور کلی، چاپ زیستی سه‌بعدی بر اساس موقعیت‌یابی دقیق لایه به لایه اجزای بیولوژیکی، مواد بیوشیمیایی و سلول‌های زنده، با کنترل فضایی محل قرارگیری اجزای عملکردی ساختار سه بعدی صورت می‌گیرد. فرایندهایی که در چاپ زیستی از آن‌ها استفاده می‌شود در ادامه توضیح داده شده‌اند.

به طور خلاصه، بیومیمیک[2] یا بیومیمتیک[3] (از کلمات یونانی bios به معنای زندگی و mimesis به معنای تقلید) به عنوان فرآیند بررسی طبیعت، سیستم‌ها، فرآیندها و عناصر آن به منظور الهام گرفتن برای حل بهینه مشکلات انسان تعریف می‌شود. ادغام

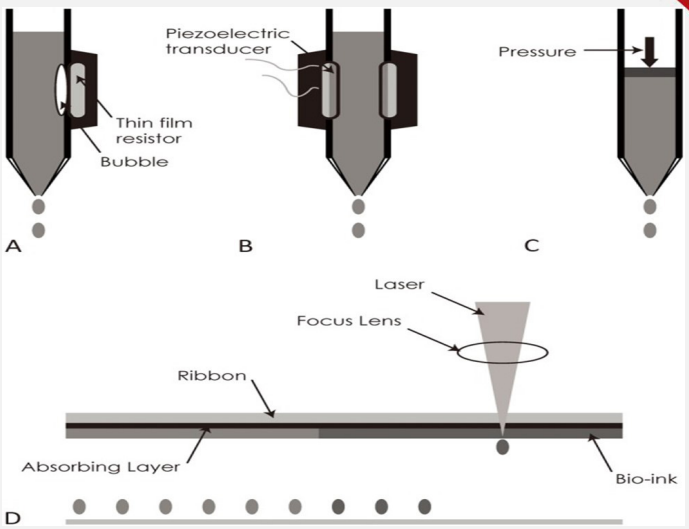
۱. biofabrication
۲. biomimicry
۳. biomimetics



روش‌های بیومیمتیک در یک سازه چاپی زیستی، تأثیری پویا بر پیوست، مهاجرت، تکثیر و عملکرد سلول‌های درون‌زا و برون‌زا دارد. مواد، تأثیر عمده‌ای بر اتصال سلولی و همچنین اندازه و شکل سلول دارند، بنابراین این روش، کنترل سلول‌ها را ممکن می‌سازد. علاوه بر این، ویژگی‌های نانومقیاس مانند برآمدگی‌ها، پله‌ها و شیارها نیز می‌توانند بر پیوست سلولی، تکثیر و مجموعه اسکلت سلولی تأثیر بگذارند.

خودآرایی مستقل، فرآیندی است که رشد یک اندام یا بافت خاص را در شرایط آزمایشگاهی، مشابه چیزی که در رشد اندام‌های جنینی صورت می‌گیرد، تقلید می‌کند. در این فرآیند، اجزای سلولی اولیه یک بافت در حال رشد، اجزای ماتریکس خارج سلولی و سیگنال‌های سلولی مناسب را تولید می‌کنند که منجر به سازمان‌دهی مستقل و الگودهی بافت مورد نظر شده و ویژگی‌های عملکردی و ساختاری بافت را ایجاد می‌کنند. درک کامل مکانیسم‌های اندام‌زایی جنینی و توانایی دستکاری شرایطی که این مکانیسم‌های جنینی را تنظیم می‌کنند، برای دستیابی موفقیت‌آمیز به این هدف ضروری است.

یک عامل اساسی در مهندسی بافت، داربست است، که به صورت یک بستر سه بعدی و بسیار متخلخل است. سلول‌ها در کشت گسترش می‌یابند و سپس به داربست منتقل می‌شوند. داربست سطحی را ارائه می‌دهد که سلول‌ها روی آن می‌چسبند، تکثیر می‌شوند، رشد می‌کنند و در ادامه می‌توانند ماتریکس خارج سلولی از پروتئین‌ها و ساکاریدهای ساختاری و عملکردی را تولید کنند و در نهایت بافت زنده را ایجاد می‌کنند. خواص بیولوژیکی سلول‌ها توسط ترکیب مواد داربست و همچنین ساختمان داخلی آن (ابعاد پایه‌ها، دیوارها، منافذ یا کانال‌ها) تعدیل و کنترل می‌شوند. در ادامه به تکنیک‌های چاپ زیستی بیشتر می‌پردازیم.



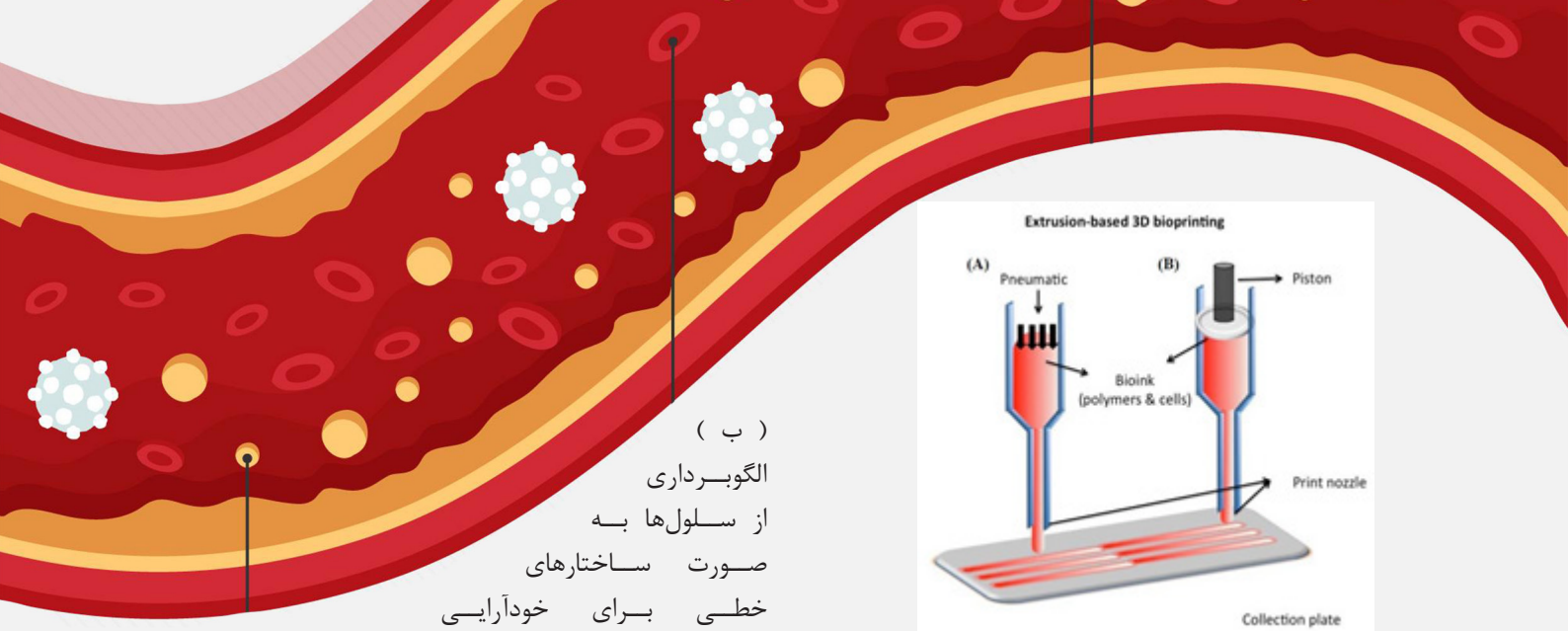
تصویر: ترسیم شماتیک تکنیک‌های چاپ زیستی رایج

فناوری چاپ زیستی مبتنی بر جوهر افشان حرارتی (بخش A تصویر)، از یک پالس جریان الکتریکی استفاده می‌کند که بر روی مقاومت لایه نازک تاثیر گذاشته و حباب‌هایی تولید می‌کند که به علت ایجاد فشار، قطرات جوهر را به حرکت در می‌آورد. این نوع چاپ از طریق یک فرآیند بدون تماس و به طور خاص با قرار دادن قطرات ریز دقیق «جوهر زیستی»[۴] بر روی یک بستر هیدروژل یا ظرف کشت حاصل می شود.

در (B)، مبدل پیزوالکتریک[۵] پالسی ایجاد می‌کند که فشار گذرا ایجاد کرده و در نتیجه قطرات بیرون می‌زنند. در بخش (C) چاپ زیستی به کمک فشار حاصل از محلول‌ها، خمیرها یا مواد پراکنده صورت می‌گیرد و مواد زیستی با فشار به شکل یک رشته پیوسته از طریق سوراخ نازل در مقیاس میکرو یا میکروسوزن خارج می‌شوند.

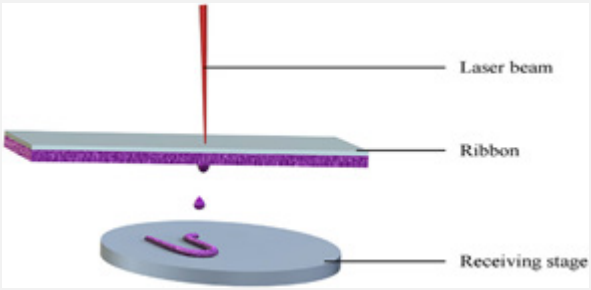
تکنیک چاپ زیستی به کمک فشار، متکی بر خروج مواد زیستی[۶] انتخابی است که معمولاً به صورت خمیر، محلول یا ذرات پراکنده فرموله می‌شوند. این بیومواد با هماهنگ شدن با فشار هوایی یا فشار مبتنی بر پیستون خارج می‌شوند و به شکل رشته از طریق یک سوراخ نازل در مقیاس میکرو یا یک میکروسوزن بر روی یک بستر ثابت قرار داده می‌شوند. پس از رسوب لایه به لایه مواد زیستی، در نهایت الگوها و ساختارهای سه بعدی کامل شکل می‌گیرند. نمایش شماتیکی از این تکنیک در تصویر زیر نشان داده شده است.

۴. bioink
۵. piezoelectric
۶. extrusion



تصویر چاپ زیستی مبتنی بر خروج مواد

بخش (D)، چاپ زیستی مبتنی بر لیزر را نشان می‌دهد که بر اساس رسوب مواد زیستی بر روی یک بستر با استفاده از لیزر به عنوان منبع انرژی انجام می‌شود و از سه بخش تشکیل شده است: یک منبع لیزری پالسی، یک نوار و یک بستر دریافت‌کننده. لیزرها به روبان تابش می‌کنند و باعث می‌شوند که بخش مایع مواد بیولوژیکی تبخیر شوند و مواد به صورت قطره‌ای به بستر گیرنده برسند. برای تبخیر مواد بیولوژیکی مایع، بستر دریافت‌کننده حاوی یک بیوپلیمر یا محیط کشت سلولی برای حفظ چسبندگی سلولی و رشد پایدار پس از انتقال سلول‌ها از روبان است.



تصویر شماتیک چاپ لیزری

چاپ زیستی عروق خونی مصنوعی

روش‌ها و تکنیک‌های مختلفی برای چاپ زیستی عروق خونی مصنوعی و ساختارهای عروقی با استفاده از مواد و روش‌های سلولی یا بدون سلولی پیشنهاد شده‌اند. در میان تکنیک‌های مختلف پرینت زیستی سه بعدی که برای مهندسی بافت استفاده می‌شود، از سه روش اصلی برای چاپ زیستی عروق مصنوعی استفاده می‌شود:

(الف) ساخت ماتریس‌های حجیم قابل نفوذ حاوی کانال‌های یکپارچه، که به صورت ساختارهای پیچیده‌ای طراحی می‌شوند که ویژگی‌های رگ‌های خونی را تقلید می‌کنند.

(ب)
الگوبرداری
از سلول‌ها به
صورت ساختارهای
خطی برای خودآرایی
آن‌ها: سلول‌ها در ساختارهای خطی
چیده می‌شوند و سازمان‌دهی طبیعی سلول‌ها ارتقا یافته و در نهایت منجر به تشکیل رگ‌های خونی می‌شود.

(ج) ساختارهای لوله‌ای مستقل که به شکل لوله‌های ایستاده آزاد ایجاد شده و به داربست یا تکیه‌گاه نیاز ندارند و در نهایت ممکن است به عنوان رگ‌های مصنوعی عمل کنند.

در برخی از مطالعات تجربی، مواد ساخت داربست‌ها حاوی سلول‌هایی هستند، اما مشکلات متعددی باقی مانده است که باید حل شوند. از آن‌جایی که چندین نوع سلول مختلف در رگ‌های خونی وجود دارد، از جمله سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های ماهیچه صاف، فیبروبلاست‌ها، بافت همبند و غیره، هنوز در چاپ هیبریدی انواع سلول‌های مختلف، امکان رشد طبیعی چندین سلول با هم بسیار دشوار است.

پیشرفت در تکنیک‌های تولید افزودنی‌ها، روش‌های تصویربرداری پزشکی، بیومواد و مهندسی سلولی منجر به پیشرفت‌های بیشتر در ساخت ساختارهای بافت عروقی خاص بیمار می‌شود. اما باز هم چالش‌های قابل‌توجهی مانند نیازهای سلول‌ها و مواد، بلوغ و عملکرد بافت، عروق مناسب و عصب‌سازی باقی مانده است. انتظار می‌رود که تحقیقات و توسعه مطالعات چند رشته‌ای در آینده، زمینه‌های مختلف مهندسی بافت و پزشکی بازساختی را متحول کند.

منبع:

زیست نگار

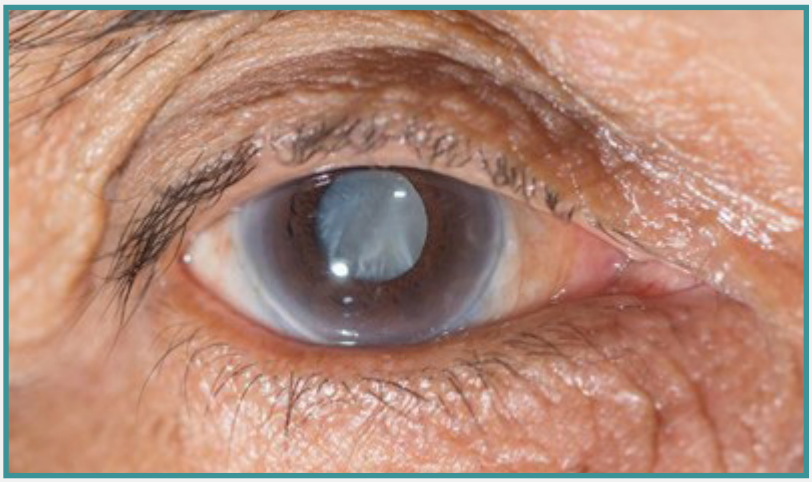
استراتژی درمان گلوکوم (آب سیاه) برای هدایت سلول های بنیادی به شبکیه
|صفحه ۱۷|

مبارزه با سرطان به کمک نانو پهپادها
|صفحه ۱۸|

تشخیص سرطان ریه با ساده ترین امکانات!
|صفحه ۱۹|

استراتژی درمان گلوکوم[1](آب سیاه) برای هدایت سلول های بنیادی به شبکیه

زهرا محبی دانشجوی کارشناسی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا (س)



منبع: https://www.wolchok.com/blog/how-is-glaucoma-diagnosed

دانشمندان رویکرد جدیدی را توسعه داده‌اند که به سلول‌های بنیادی اجازه می‌دهد تا به سلول‌های گانگلیونی[2] شبکیه تبدیل شوند. این سلول‌ها قادر به مهاجرت و زنده ماندن در شبکیه چشم هستند. این رویکرد یک استراتژی درمانی جدید امیدوارکننده را برای بیماری‌هایی مانند گلوکوم ارائه می‌دهد که در آن از بین رفتن سلول‌های گانگلیونی شبکیه ناشی از این بیماری منجر به از دست دادن غیرقابل برگشت بینایی می‌شود.

گلوکوم یکی از علل اصلی نابینایی در سراسر جهان است و از دست دادن بینایی به دلیل از بین رفتن سلول‌های گانگلیونی شبکیه (RGCs)، در حال حاضر با هیچ درمانی قابل برگشت نیست. برخی از مطالعات به جایگزینی RGCها از طریق پیوند سلولی پرداخته‌اند، اما این فرایند هنوز در مرحله تحقیق و توسعه است و مملو از محدودیت‌هایی است که نیاز به روشی دقیق‌تر برای بازسازی موثر این سلول‌ها در شبکیه را نشان می‌دهد. در حال حاضر یک تیم چند رشته‌ای به رهبری محققان در موسسه تحقیقات چشم و گوش جمعی Schepens، یک استراتژی جدید امیدوارکننده را برای درمان جایگزینی سلول‌های گلوکوم شناسایی کرده‌اند.

منبع: https://images.app.goo.gl/YtgK1KhWRuCgmsfP6

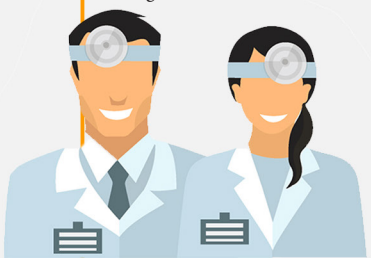
محققان در مطالعه جدید خود ریزمحیط چشم را به گونه‌ای تغییر دادند که بتوانند سلول‌های بنیادی را از خون بگیرند و آن‌ها را به سلول‌های گانگلیونی شبکیه تبدیل کنند. این سلول‌ها قادر به مهاجرت به شبکیه چشم و زنده ماندن در آن هستند. آن‌ها مطالعه خود را روی شبکیه موش بالغ انجام دادند، اما به گفته محققان، روزی می‌توان این روش درمان را در شبکیه چشم انسان نیز به کار برد.

یکی از محدودیت‌هایی که از موفقیت استراتژی‌های پیوند سلول‌های بنیادی فعلی در مطالعات شبکیه چشم جلوگیری می‌کند، این است که اکثر سلول‌های اهداکننده در محل تزریق باقی می‌مانند و به جایی که بیشتر مورد نیاز هستند مهاجرت نمی‌کنند. برای شناسایی یک راه حل بهتر، محققان RGCs را از سلول‌های بنیادی ایجاد کردند، سپس به آزمایش توانایی مولکول‌های سیگنال‌دهی مختلف، همچون کموکاین‌ها، برای هدایت این نورون‌های جدید به موقعیت‌های صحیح خود در شبکیه پرداختند.

تیم تحقیقاتی از رویکرد «big data» استفاده کردند و صدها مولکول و گیرنده از این قبیل را برای یافتن ۱۲ مورد منحصر به فرد برای RGC مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها دریافتند که فاکتور ۱ مشتق‌شده از استروما بهترین مولکول برای مهاجرت و پیوند است. این دانشمندان اظهار داشتند:« این روش استفاده از کموکاین‌ها برای هدایت حرکت و یکپارچگی سلول‌های اهداکننده، یک رویکرد امیدوارکننده برای بازگرداندن بینایی در بیماران گلوکومی است.»

منبع:

۱. glaucoma
۲. Ganglion



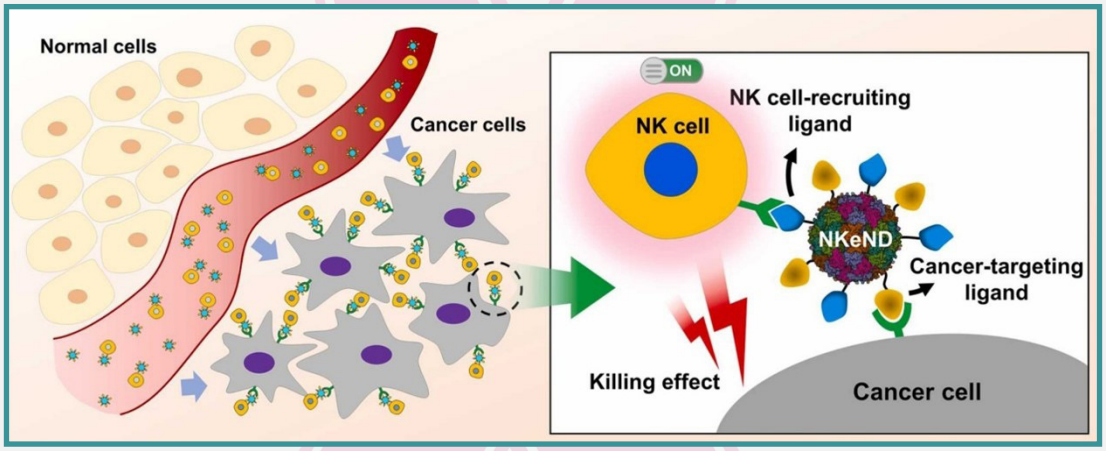
مبارزه با سرطان به کمک نانوپهپادها

شایسته مقدم راد، فارغ‌التحصیل کارشناسی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا تهران

سلول‌های کشنده طبیعی (NK) گلبول‌های سفید خونی هستند که سلول‌های آلوده و بیمار، از جمله سلول‌های سرطانی را از بین می‌برند. این سلول‌ها حتی بدون این‌که از قبل، در معرض پاتوژن قرار بگیرند، می‌توانند با سلول‌های بیمار مبارزه کنند. به دلیل توانایی ذاتی آن‌ها برای از بین بردن سلول‌های سرطانی، ایمونوتراپی‌های مبتنی بر سلول‌های NK مورد مطالعه قرار گرفته است. با این وجود، چالش‌های متعددی وجود دارد، مانند نفوذ محدود آن‌ها به سلول‌های تومور، ماندگاری پایین و طول عمر کم سلول‌های NK در داخل بدن.

محققان تا به امروز، چندین پروتئین مهندسی‌شده طراحی کرده‌اند که به صورت انتخابی، به سلول‌های NK و سلول‌های سرطانی مورد نظر متصل شده و باعث می‌شوند که این دو، در نزدیکی هم قرار گیرند. همچنین، از نانوذرات هم می‌توان به عنوان بستری برای اتصال سلول‌های کشنده طبیعی و سلول سرطانی استفاده کرد.

محققان مؤسسه ملی علم و فناوری اولسان (UNIST)در کره جنوبی، نانوپهپادهایی[1] را به نام « NKeND» طراحی و ایجاد کرده‌اند که سلول‌های کشنده طبیعی را درگیر کرده و آن‌ها را به سمت سلول سرطانی و نابودی آن، هدایت می‌کند. در این مطالعه، محققان از باکتری Aquifex aeolicus یک پروتئین قفس‌مانند و در مقیاس نانو به نام «AaLS» را به دست آوردند که به عنوان بستری برای تحویل هدفمند نانوپهپادهای NKeND به کار می‌رود.



شکل ۱: هدایت سلول‌های کشنده طبیعی به سمت سلول سرطانی توسط NKeND

https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1748013223003249

محققان NKeND ها را بر روی سلول‌های SK-OV-3، یک رده‌ی سلولی سرطان تخمدان با بیان بیش از حد HER2، و سلول‌های MDA-MB-468، یک رده‌ی سلولی سرطان سینه با بیان بیش از حد EGFR، آزمایش کردند. مشاهده شد NKeND ها که با رنگ فلورسنت نشان‌دار شده بودند، به سلول‌های سرطانی هدف و سلول‌های NK انسانی متصل شده و سلول‌های NK فعال شدند.

تا به حال، تلاش‌های زیادی برای استفاده از قدرت سلول‌های کشنده طبیعی جهت ایجاد درمان‌هایی علیه سرطان صورت گرفته است اما اکنون، با کمک این فناوری می‌توان سلول‌های NK را هدایت کرده و به طور مؤثرتر با سرطان مبارزه کرد.

منابع:

۱. Nanodrones

تشخیص سرطان ریه با ساده‌ترین امکانات!

الهام ریاضی فرادنبه، دانشجوی کارشناسی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا (س) تهران

منبع : https://statnano.com/news/73305/Inhalable-Sensors-Could-Enable-Early-Lung-Cancer-Detection

با استفاده از فناوری جدیدی که در MIT توسعه یافته است، تشخیص سرطان ریه می‌تواند به آسانی استنشاق حسگرهای نانوذرات و سپس انجام آزمایش ادرار که نشان می‌دهد آیا تومور وجود دارد یا خیر، انجام شود.در این پلتفرم جدید تشخیص سرطان ریه، نانوسنسورهای بارکد شده با DNA که به صورت بیوسنسورهای مبتنی بر فعالیت (ABNs[1]) بوده و می‌توانند از طریق یک نبولایزر یا دستگاه تنفسی جذب شوند، با یک تست ادرار ساده‌ی مبتنی بر کاغذ ترکیب شده است. این تست برای تشخیص مولکول‌های DNA مصنوعی استفاده می‌شود که در اینجا حضور پروتئین‌های خاص مرتبط با سرطان ریه را نشان می‌دهند.

این تیم پیشنهاد می‌کند که این فناوری که به نام PATROL (نانوحسگرهای آئروسل‌پذیر در نقطه مراقبت، با بارکدهای الیگونوکلئوتیدی پاسخگو به تومور[2]) شناخته می‌شود، توانایی این را دارد که جایگزین یا مکمل روش فعلی برای تشخیص سرطان ریه باشد؛ به ویژه در کشورهای با درآمد کم و متوسط که دسترسی گسترده‌ای به CT اسکن ندارند، تأثیر قابل توجهی دارند.

دانشمندان این پروژه پیشنهاد کردند که این فناوری می‌تواند برای تشخیص سایر اختلالات و عفونت‌های ریوی نیز مورد استفاده قرار گیرد. از طریق ادغام اجزای مختلف تکنولوژیکی، یک رویکرد غیرتهاجمی «استنشاق و تشخیص» برای تشخیص دقیق سرطان ریه در مراحل اولیه ایجاد شده است که نیازی به پرسنل پزشکی آموزش دیده، درمان طولانی مدت، یا آزمایشگاه‌های تشخیصی متمرکز ندارد. PATROL امکان گسترش پتانسیل خود را برای دستیابی به تشخیص سریع اختلالات و عفونت‌های مزمن ریوی فراهم می‌کند.

نویسندگان خاطرنشان کردند که مرگ و میر ناشی از سرطان ریه در کشورهایی با شاخص توسعه بالا (HDI[3]) در حال کاهش است و این تا حدی به دلیل پیشرفت در ابزارهای تشخیص زودهنگام و درمان سریعتر است. در مقابل، مرگ‌ومیر نامتناسب بالای سرطان ریه در کشورهای با درآمد کم و متوسط(LMIC[4]) که ممکن است دسترسی محدودی به تصویربرداری پزشکی وجود داشته باشد، مشاهده می‌شود. به علت عدم وجود امکانات مناسب، تشخیص زودهنگام اتفاق نمی‌افتد و این عدم دسترسی به فناوری است که یکی از چالش‌های اصلی در رسیدگی به نابرابری‌های سلامت سرطان را نشان می‌دهد.

در سراسر جهان، سرطان در کشورهای با درآمد کم و متوسط به مرور زمان رایج‌تر خواهد شد؛ اپیدمیولوژی سرطان ریه در سطح جهان نشان می‌دهد که آلودگی و سیگار این پدیده را تحت تأثیر قرار می‌دهند، بنابراین دسترسی به این نوع فناوری در این محیط‌ها، می‌تواند تأثیر به سزایی داشته باشد.

پلتفرم نانوسنسور، شامل نانوذرات پلیمری با پوشش گزارشگر بارکد DNA است. زمانی که سنسور با یک آنزیم پروتئاز خاص برخورد می‌کند، از ذره جدا می‌شود. برخی از پروتئازها در تومورها به طور معمول بیش از حد فعال هستند. گزارشگرهای جدا شده در نهایت در ادرار تجمع پیدا می‌کنند و از بدن دفع می‌شوند.

نسخه‌های قبلیِ سنسورها، که برای دیگر مناطق سرطانی

۱. activity-based biosensors

۲. point-of-care aerosolizable nanosenors with tumor-responsive oligonucleotide barcodes

۳. high development index

۴. low-dose computed tomography

مانند کبد و تخمدان هدف‌گذاری شده بودند، برای تزریق وریدی طراحی شده بودند. برای تشخیص سرطان ریه، محققان می‌خواستند یک نسخه ایجاد کنند که قابلیت تنفس را داشته باشد؛ برای دستیابی به این هدف، دو فرمولاسیون از ذرات خود را ایجاد کردند: یک محلول که می‌تواند ائروسولیز شود و با یک نبولایزر ارائه شود، و یک پودر خشک که می‌تواند با استفاده از یک دستگاه تنفسی ارائه شود. نانوسنسورهای پروتئاز می‌توانند برای تحویل کارآمد به ریه از طریق ائروسول از محلول‌های آبی یا ادغام در ذرات خشک میکروسل، ساخته شوند.

زمانی که این ترکیبات جذب شده به ریه می‌رسند، در بافت جذب می‌شوند؛ جایی که هر پروتئاز ممکن است وجود داشته باشد. سلول‌های انسان ممکن است صدها پروتئاز مختلف را بیان کنند، و برخی از آن‌ها در تومورها به طور معمول بیش از حد فعال هستند، جایی که به سلول‌های سرطانی کمک می‌کنند تا با برش پروتئین های ماتریکس خارج سلولی (ECM[۵]) از محل اصلی خود فرار کنند. این پروتئازهای مرتبط با سرطان، بارکدهای DNA ویژه پروتئاز را از ذرات نانوحسگر جدا می‌کنند و سپس بارکدها در جریان خون گردش می‌کنند تا در ادرار دفع شوند.

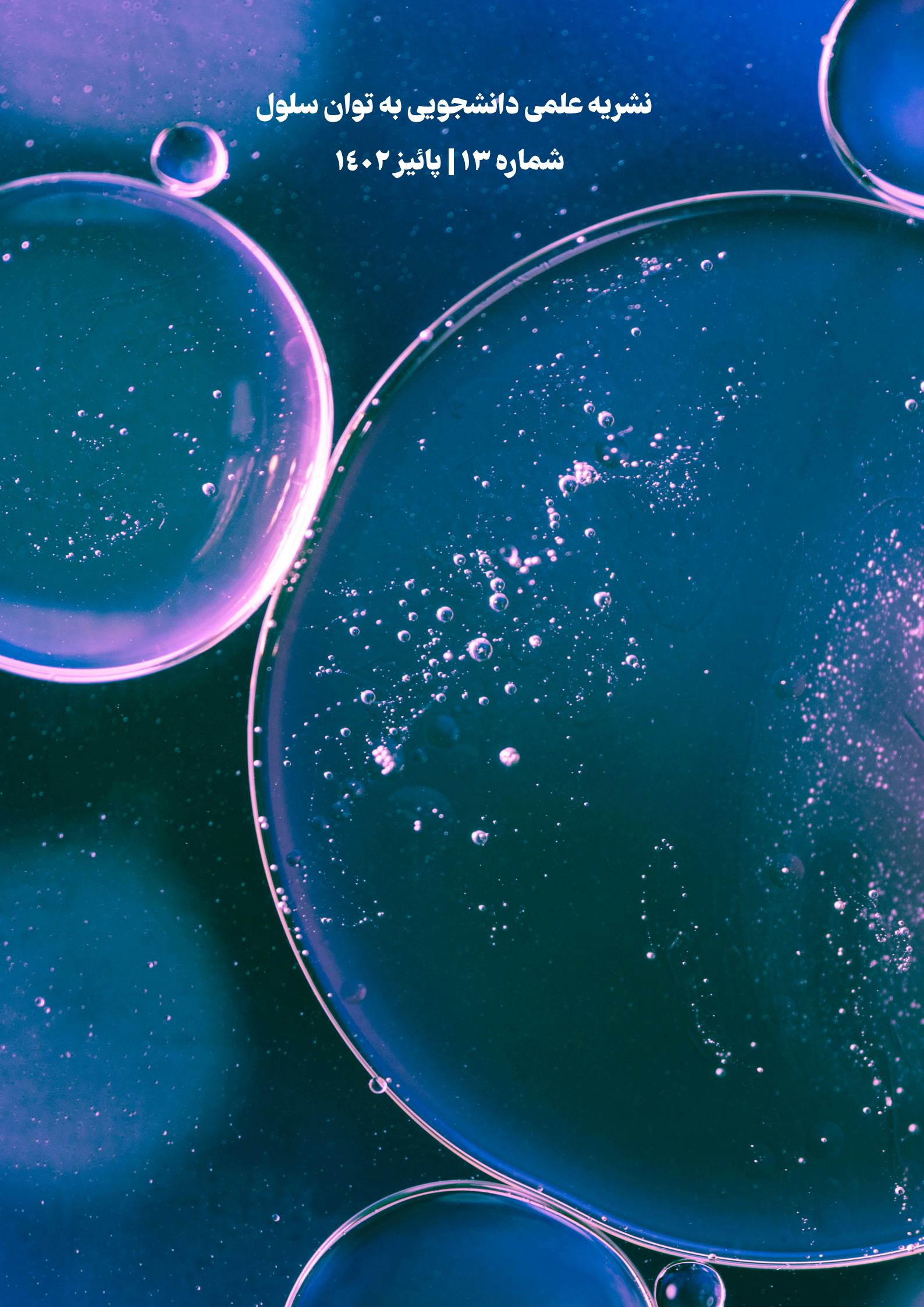
در نسخه های قبلی این فناوری، محققان از طیف سنجی جرمی برای تجزیه و تحلیل نمونه ادرار و شناسایی بارکدهای DNA استفاده کردند. با این حال، طیف‌سنجی جرمی به تجهیزاتی نیاز دارد که ممکن است در مناطق کم منبع در دسترس نباشد، بنابراین برای فناوری PATROL، محققان کاری کردند که به بارکدها اجازه می‌دهد با استفاده از یک نوار تست کاغذی ساده روی یک خواننده‌ی قابل حمل، شناسایی شوند. هیچ پیش‌درمانی یا پردازش نمونه ادرار مورد نیاز نیست و نتایج را می توان حدود ۲۰ دقیقه پس از به دست آوردن نمونه خواند.

آن‌ها با خلاصه‌کردن فناوری خود در مقاله Science Advances، به این نتیجه رسیدند که PATROL، به عنوان یک پلتفرم تشخیصی (Point-of-Care) POC که نشانگرهای زیستی سنتزی قابل استنشاق ماژولار و تست‌های نمونه‌برداری چندپارامتره را یکپارچه می‌کند، می‌تواند با نیازهای زیرساخت کم، به‌طور غیرتهاجمی، فعالیت پروتئولیتیک غیرمنظم که با سرطان ریه در مراحل اولیه در ارتباط است را تشخیص دهد.

در بخش‌هایی از جهان که دسترسی محدود به سی‌تی‌اسکن وجود دارد، فناوری PATROL می‌تواند نقش چشمگیری در غربالگری سرطان ریه داشته باشد. همینطور این فناوری می‌تواند برای طبقه بندی بیماران و کمک به پزشکان در انتخاب بهترین روش درمانی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع:

۵. extracellular matrix



نشریه علمی دانشجویی به توان سلول

شماره ۱۳ | پائیز ۱۴۰۲