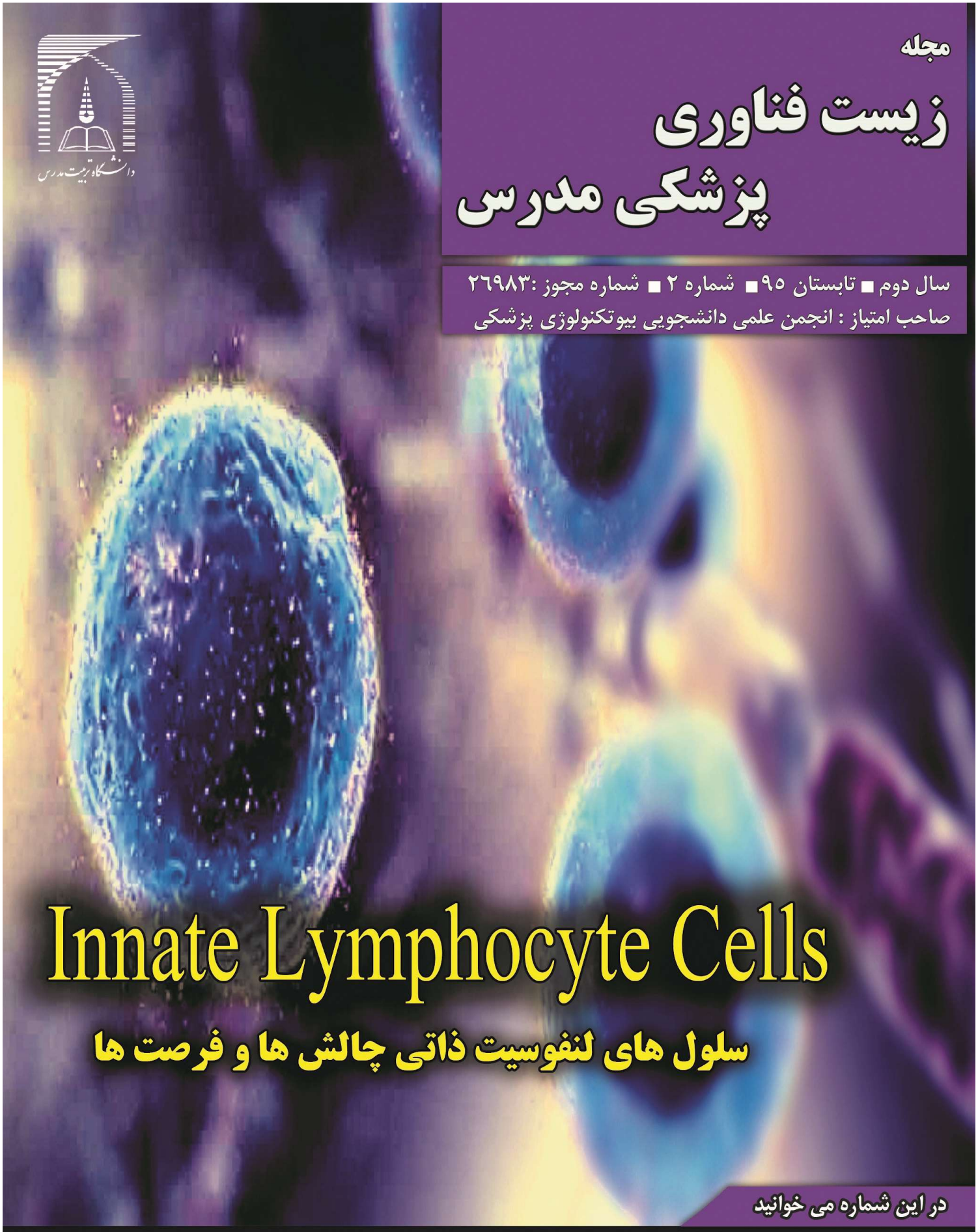
مجله

زیست فناوری پزشکی مدرس

سال دوم ■ تابستان ۹۵ ■ شماره ۲ ■ شماره مجوز :۲۶۹۸۳
صاحب امتیاز : انجمن علمی دانشجویی بیوتکنولوژی پزشکی



Innate Lymphocyte Cells

سلول های لنفوسیت ذاتی چالش ها و فرصت ها

در این شماره می خوانید

بیورکتورها و بهینه سازی کشت سه بعدی
ایمونوسنسور
داربست ها
خبر
و ...

قیمت : ۳۵۰۰۰ ریال

بسم الّله الرحمن الرحیم

فصلنامه زیست‌فناوری پزشکی مدرس

دانشگاه تربیت مدرس ــ دانشکده پزشکی

صاحب امتیاز: انجمن علمی دانشجویی زیست فناوری پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

مدیر مالی: محمود گنجی

مدیر مسئول: علیرضا فراست

ویراستار: معصومه کریمی‌بخش

سردبیر: فاطمه جهان پیما

صفحه‌آرا: اکرم پاک‌قلب

مدیر اجرایی: زهرا السادات هاشمی

شمارگان: ۱۰۰۰ جلد

هیئت تحریریه: فتانه توسلیان، الهام عبدالهی، زهرا السادات‌هاشمی، سیده ثنا سیدی پور

رایانامه: medical.biotech@modares.ac.ir

آدرس: تهران، تقاطع جلال آل احمد و بزرگراه چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی شماره ۳، گروه زیست فناوری پزشکی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

سخن سردبیر ..... پنج

مروری بر Innate Lymphocyte Cells ۱

چکیده ۱

سلول های لنفوئیدی ذاتی ۲

لنفوسیت‌های T,B با تنوع محدود شده گیرنده آنتی‌ژنی ۳

سلول‌های B-1 و سلول‌های B ناحیه حاشیه‌ای ۳

لنفوسیت‌های Tγδ ۵

مشخصه های مشترک سلول‌های NKT و T γδ ۶

سلول‌های NKT ۸

منابع ۱۰

بیوراکتورها و بهینه‌سازی کشت سه بعدی بر پایه داربست های مهندسی بافت (بخش سوم) ۱۳

بیوراکتورها در کشت سه‌بعدی ۱۳

بهینه‌سازی استفاده از داربست‌ها ۱۶

منابع ۱۸

ایمونوسنسورها ۲۰

مقدمه ۲۰

آپتامرها ۲۲
آنتی‌کالین‌ها ۲۲
فنون Molecular Imprinting (تقلید مولکولی)..... ۲۲
مبدل‌ها..... ۲۳
مبدل‌های الکتروشیمیایی..... ۲۴
مبدل‌های نوری ۲۶
روش‌های پیزوالکتریک..... ۳۰
پروتکل‌های تثبیت..... ۳۰
روش‌های جذب فیزیکی ۳۱
اتصالات کووالان ۳۱
لایه‌های خودآرایه self- assembled mololayer..... ۳۱
استفاده از نانوذرات ۳۲
بازیافت سنسورها: ۳۲
منابع ۳۳
خبر: بزرگ‌ترین پیوند صورت موفقیت‌آمیز در صورت آتش‌نشان امریکایی..... ۳۴
همایش‌های پیش‌رو ۳۸

سخن سردبیر

سپاس خدای عزوجل را که توانستیم با استعانت از درگاه کبریایی‌اش و به یاری دوستان مخلص، این شماره از نشریه زیست فناوری مدرس را با وجود سختی‌های پیش‌رو به چاپ برسانیم.

در محافل علمی و دانشگاه‌های خارج از کشور بخش علوم پایه رونق ویژه دارد. به‌گونه‌ای که در مراکز صنعتی جهت بهبود کیفیت کالاها و رسیدن به اهداف تعریف شده حضور متخصصان علوم پایه ضروری است. لذا با توجه به اینکه نشریه حاضر از ابتدا با هدف پوشش دادن به علم زیست فناوری و حواشی سیاسی، تجاری و اقتصادی مرتبط با آن شروع به کار کرده است، برآن شدیم تا با توکل بر خدا در شماره‌های آتی به مسائلی همچون وضعیت بازار محصولات زیست فناوری در ایران و جهان و نیز اخبار علمی و تولیدی زیست فناوری در ایران بیشتر بپردازیم و با افراد موفق و کارامد در این زمینه مصاحبه کنیم.

امید داریم با توجه به ارتقای روزافزون علم زیست فناوری در جهان، شاهد توسعه هرچه بیشتر حوزه‌های صنعتی و تجاری این علم در زمینه‌های مختلف سلامت، دارویی، کشاورزی،سوخت‌های زیستی و محیط زیست در کشور عزیزمان باشیم و در این مسیر از علومی همچون مهندسی ژنتیک، زیست‌شناسی مولکولی، نانوتکنولوژی، ژنومیکس و غیره بهره گیریم.

در پایان مفتخریم از شما پیشکسوتان و نوپایگان، نوآوران و محققان اعم از اعضای هیئت علمی و غیرهیئت علمی تشکر نماییم و از شما عزیزان استدعا داریم در راستای اهداف مذکور و در جهت ارتقای علمی نشریه موجود بیش از پیش ما را یاری نمایید، تا بتوانیم توانمندتر از گذشته رسالت خود را به انجام برسانیم.

و من الله التوفیق

فاطمه جهان پیما

فصلنامه زیست فناوری پزشکی
سال دوم، شماره ۴، تابستان ۱۳۹۵

مروری بر Innate Lymphocyte Cells

فتانه توسلیان[۱]، الهام عبدالهی[۲]

چکیده:

بیشتر لنفوسیت‌های T,B از اجزای سیستم ایمنی اکتسابی هستند که با گنجینه بسیار متنوعی از ویژگی‌ها (اختصاصیت) برای آنتی‌ژن‌های گوناگون شناخته می‌شوند. اگرچه جمعیت کوچک خاصی از لنفوسیت‌ها گیرنده‌های آنتی‌ژنی را بیان می‌کنند که به لحاظ ساختاری مشابه با لنفوسیت‌های T,B اشاره شده هستند، اما این گیرنده‌ها تنوع اندکی دارند. این ویژگی‌ها در سلول‌های T,B ممکن است ساختارهای بیان‌شونده‌ای، از گونه‌های میکروبی بسیار متفاوت و شایع را شناسایی کنند.

سلول‌های T با گیرنده‌های آنتی‌ژنی محدود عبارت‌اند از: سلول T کشنده طبیعی غیرمتغیر (iNKT)، سلول‌های Tγδو سلول‌های درون اپی‌تلیایی دارای TCRهای αB که از زیرگروه‌های سلولی B که از آنتی‌بادی‌هایی با ویژگی‌های محدود ترشح می‌شوند و

۱- گروه ایمونولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران Tavasolian.15600@gmail.com
۲- گروه ایمونولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. Ea6112@gmail.com

شامل سلول‌های B-1 و سلول‌های B ناحیه حاشیه‌ای (Marginal zone) می‌باشند. اگرچه سلول‌های T,B عملکردهای مشابهی همانند همتایان بسیار متنوع خود دارند، اما ماهیت ویژگی‌های آنها این سلول‌ها را در دسته خاصی از لنفوسیت‌ها قرار می‌دهد که بیشتر شبیه به سلول‌های ایمنی ذاتی است تا سلول‌های ایمنی اکتسابی.

سلول‌های لنفوئیدی ذاتی

سلول‌های لنفوئیدی ذاتی (ILCs) به سه زیرگروه تقسیم می‌شوند که این سلول‌ها سایتوکاین‌های متفاوتی تولید می‌کنند که در دفاع میزبان علیه عوامل بیماری‌زای گوناگون شرکت می‌کنند و ممکن است در اختلالات التهابی متفاوتی درگیر شوند(۱). این زیرگروه‌ها مشابه با زیرگروه‌های لنفوسیت‌های CD_4^+T یعنی TH1، TH2 و TH17 هستند که سایتوکاین‌های مشابه را ترشح می‌کنند. گروه (۱) از ILCها، $IFN-\gamma$ ترشح می‌کنند و شامل سلول‌های NK سایتوتوکسیک و غیرسایتوتوکسیک هستند. گروه (۲) سلول‌های ILC مشابه با زیرگروه TH_2 از سلول‌های T کمکی CD_4^+، سایتوکاین‌های IL-5، IL-9 و IL-13 ترشح می‌کنند و عامل نسخه‌برداری GATA2 را بیان می‌کنند. این سلول‌ها از موش‌ها در برابر عفونت‌های کرمی و انگلی محافظت نموده و در ایجاد بیماری‌های آلرژی مشارکت می‌کنند. گروه (۳) از ILCها سایتوکاین‌های IL-22 یا IL-17 و یا هر دو را ترشح و عامل نسخه‌برداری $ROR\gamma t$ را بیان می‌کنند که با ویژگی‌های زیرگروه سلول‌های TH_{17} از سلول‌های T کمکی CD_4^+ مشترک می‌باشد. گروه (۳) از سلول‌های ILC در نواحی مخاطی یافت می‌شود و در دفاع بر علیه باکتری‌های خارج سلولی و همچنین در حفظ یکپارچگی سدهای اپی‌تلیالی، شرکت می‌کنند. القاءکننده‌های بافتی لنفوئیدی (LTi) (Lymphoid Tissue-inducer) گروه سوم از

ILCها هستند که علاوه بر ترشح IL-17 و IL-22، لنفوتاکسین α غشایی را بیان نموده و نیز TNF ترشح می‌کنند یعنی سایتوکاین‌هایی که برای تکامل طبیعی اندام‌های لنفاوی مورد نیاز هستند(۲).

لنفوسیت‌های T,B با تنوع محدود شده گیرنده آنتی‌ژنی

سلول‌های B-1 و سلول‌های B ناحیه حاشیه‌ای

یک زیرگروه از لنفوسیت‌های B به نام سلول‌های B-1 هستند که با تنوع محدود گیرنده آنتی‌ژن بیان می‌کنند و دارای عملکردهای منحصر به فرد هستند. این سلول‌ها از سلول‌های بنیادی خونساز (HSC) مشتق از کبد جنین منشا می‌گیرند که در جوندگان به خوبی شناخته شده‌اند. بیشتر سلول‌های B-1 موشی، مولکول CD5 بیان می‌کنند (۳). در بزرگسالان، بسیاری از سلول‌های B-1 به عنوان جمعیت خودتجدیدشونده (self-renewing) در صفاق و مکان‌های مخاطی یافت می‌شوند. سلول‌های B-1 در طی تکامل زودتر از سلول‌های B فولیکولار و مارژینال زون، بالغ می‌شوند و گنجینه نسبتاً محدودی از ژن‌های V را بیان می‌کنند و همچنین نسبت به سلول‌های B معمولی تنوع اتصالی کمتری از خود نشان می‌دهند (به دلیل آنکه TdT در کبد جنینی بیان نمی‌شود) (۴). سلول‌های B-1، به طور خود به خود آنتی‌بادی IgM ترشح می‌کنند که اغلب با پلی‌ساکاریدهای میکروبی و لیپیدها و همچنین لیپیدهای اکسید شده‌ای که در اثر پراکسیداسیون لیپیدها تولید می‌شوند، واکنش می‌دهند. گاهی اوقات این آنتی‌بادی‌ها به نام آنتی‌بادی‌های طبیعی (Natural antibodies) نامیده می‌شوند، زیرا بدون ایمن‌سازی آشکار در افراد وجود دارند و البته ممکن است که فلور میکروبی روده، منبع آنتی‌ژن‌هایی باشد که تولید این آنتی‌بادی‌ها را تحریک می‌کند

(۵). سلول‌های B-1 سبب تولید سریع آنتی‌بادی‌هایی بر علیه میکروب‌ها در بافت‌های ویژه مثل صفاق می‌شوند. در جایگاه‌های مخاطی، بیشتر از نیمی از سلول‌های ترشح‌کننده IgA در لامیناپروپریا ممکن است از سلول‌های B-1 مشتق شده باشند. سلول‌های B-1 از این نظر شبیه سلول‌هایی هستند که هر دوی آنها گنجینه‌های گیرنده آنتی‌ژنی محدودی دارند و گفته می‌شود که هر دوی آنها به آنتی‌ژن‌های شایع در حد فاصل اپی‌تیال با محیط خارجی پاسخ می‌دهند (۶).

در انسان‌ها سلول‌های شبه B-1 (B-1 like) شناسایی شده‌اند، اما CD5 مارکر، شاخص این سلول‌ها محسوب نمی‌شود به این علت که CD5 بر روی سلول‌های B انتقالی (transitional) در برخی از جمعیت‌های سلول‌های B فعال شده نیز یافت می‌شود. ناحیه حاشیه‌ای عمدتاً در مجاورت ناحیه سینوس حاشیه‌ای طحال قرار گرفته است و از لحاظ: ۱- لحاظ محدودیت تنوع، ۲- توانایی پاسخ‌دهی به آنتی‌ژن‌های پلی‌ساکاریدی و ۳- تولید آنتی‌بادی‌های طبیعی به سلول‌های B-1 شباهت دارد (۷).

سلول‌های B ناحیه حاشیه‌ای هم در انسان و هم در موش وجود دارند و IgM و کمک گیرنده را بیان می‌کنند. در موش، سلول‌های B ناحیه حاشیه‌ای فقط در طحال وجود دارند در حالی که در انسان هم در طحال و هم در گره‌های لنفی یافت می‌شوند. سلول‌های B ناحیه حاشیه‌ای به میکروب‌های موجود در خون به سرعت پاسخ می‌دهند و به پلاسماسل‌های با عمر کوتاه و ترشح کننده IgM، تمایز می‌یابند. اگرچه این سلول‌ها معمولاً در پاسخ‌های ایمنی همورال غیروابسته به سلول T در برابر عوامل بیماری‌زای گردش خون شرکت می‌کنند، اما چنین به نظر می‌رسد که این سلول‌ها توانایی واسطه‌گری برخی پاسخ‌های ایمنی وابسته به سلول T را نیز دارند (۸, ۹).

لنفوسیت‌های Tγδ

تیموسیت‌های بیان‌کننده Tγδ ، رده‌های سلولی جداگانه با یک پیش‌ساز مشترک هستند. در تیموسیت‌های جنینی، نخستین بازآرایی‌های ژن TCR در لوکوس‌های γδ رخ می‌دهد. نوترکیبی لوکوس‌های γδ با الگویی مشابه با بازآرایی‌های ژنی گیرنده‌های آنتی‌ژنی دیگر انجام می‌شود؛ با این وجود، به نظر می‌رسد که ترتیب بازآرایی‌ها، نسبت به دیگر لوکوس‌ها محدودیت کمتری دارد (۱۰). در تکامل سلول T دوگانه منفی ممکن است بازآرایی لوکوس‌های γδ در ابتدا رخ دهد. اگر سلولی موفق به بازآرایی مؤثر لوکوس‌های γ TCR و δ TCR پیش از بازآرایی مؤثر ژن β TCR شود، در رده سلولی T γδ گزینش می‌شود. این اتفاق در حدود ۱۰ درصد از سلول‌های T دوگانه منفی در حال تکامل رخ می‌دهد. حدود ۹۰ درصد از مابقی سلول‌ها، در آغاز، ژن β TCR را بازآرایی مؤثر می‌کنند. در این وضعیت، پیام رسانی Pre-TCR این سلول‌ها را برای تکامل به رده سلولی گزینش می‌کند و حذف نهایی δ TCR هنگامی که α TCR بازآرایی شود (لوکوس δ TCR در لوکوس α TCR قرار گیرد) منجر به تعهد غیرقابل برگشت به رده سلولی αβ می‌شود(۱۱).

از لحاظ نظری، تنوع گنجینه‌ی سلول γδ حتی از تنوع گنجینه‌ی سلول αβ هم بیشتر است که بخشی از آن به این دلیل است که توالی‌های شناسایی هپتامر- نونامر مجاور قطعات D سبب اتصالات D-D می‌شوند. به هر حال، به‌طور متناقض، میزان واقعی تنوع TCRهای γδ بیان شده محدود است؛ زیرا به دلایل ناشناخته، تنها از تعداد اندکی از قطعات V، D و J موجود در سلول‌های بالغ استفاده می‌شود. این تنوع محدود یادآور تنوع محدود زیر گروهِ B-1 لنفوسیت‌های B است و با این مفهوم متناسب است

که سلول‌های به عنوان نخستین خط دفاعی علیه تعداد محدودی از میکروب‌های شـایع در سدهای اپی‌تلیال عمل می‌کنند (۱۲).

مشخصه های مشترک سلول‌های NKT و T γδ

- سلول‌های γδ و سلول‌های NKT، آنتی‌ژن‌های متنوع زیادی را شناسایی می‌کننـد که بسیاری از این آنتی‌ژن‌ها، پپتیدی نیستند و توسط مولکول‌های MHC کـلاسI و II موجود برروی APCها عرضه نمی‌شوند(۱۳).
- گیرنده‌های آنتی‌ژنی بسیاری از سلول‌های γδ و NKT ، تنـوع محـدودی دارنـد و گفته شـده کـه هـر دو نـوع سـلول می‌تواننـد بـرای شناسـایی گـروه کـوچکی از آنتی‌ژن‌های میکروبی تکامل یابند. به دلیل این ویژگی، برخی بـر ایـن باورنـد کـه سلول‌های T، بین ایمنی اکتسابی و ذاتی قرار دارند(۱۴).
- هر دو نوع سلول γδ و NKT، در بافت‌های اپی‌تلیال مانند مجرای معدی- روده‌ای به وفور یافت می‌شوند.
- عملکردهای مشترک آنها شامل موارد زیر می‌باشد:
- دفاع اولیه در برخورد با میکروب‌های سـطوح اپی‌تلیـالی پـیش از آنکـه پاسـخ‌های ایمنی اکتسابی ایجاد شوند.
- نظارت بر سلول‌های تحت استرس مثل سلول‌هایی کـه مـورد آسـیب DNA قـرار گرفته‌اند یا آلوده شده‌اند و از بین بردن این سلول‌ها
- تولید سـایتوکاین‌هایی کـه پاسـخ‌های ایمنـی اکتسـابی بعـدی را تحت‌تـأثیر قـرار می‌دهند(۱۵).

در پوست موش، بیشتر سلول‌های T داخل اپـی‌درم، گیرنـده γδ را بیـان می‌کننـد. فراوانی جمعیت‌های سلولی معادل در انسان، به این اندازه نمی‌باشد و فقط در حدود ۱۰

درصد از سلول‌های T داخل اپی‌تلیال روده انسان، گیرنده γδ را بیان می‌کنند. سلول‌های γδ در اندام‌های لنفاوی نسبت به سلول‌های γδ اپی‌تلیال، TCR های متنوع‌تری را بیان می‌کنند(۱۶).

سلول‌های γδ قادر به شناسایی آنتی‌ژن‌های پپتیدی متصل به MHC نیستند و به MHC محدود نمی‌باشند. برخی از کلون‌های سلول γδ مولکول‌های کوچک فسفریله، آلکیل آمین‌ها و یا لیپیدهایی را که عمدتاً در مایکوباکتری‌ها و دیگر میکروب‌ها وجود دارند که می‌توانند توسط مولکول‌های شبه MHC کلاس I «غیرکلاسیک» (Non-classical) عرضه شوند، شناسایی می‌کنند. سایر سلول‌های γδ، آنتی‌ژن‌های پروتئینی و غیرپروتئینی را که برای عرضه شدن به پردازش یا نوع خاصی از APC نیاز ندارند، شناسایی می‌کنند. بسیاری از سلول‌های γδ توسط پروتئین‌های شوک حرارتی (HeatShock Proteins) (HSP) میکروبی فعال می‌شوند. یک فرضیه مورد قبول برای اختصاصی بودن سلول‌های γδ ، این است که سلول‌های γδ می‌توانند آنتی‌ژن‌هایی را که مکرراً با مرزهای اپی‌تلیالی بین میزبان و محیط خارج برخورد می‌کنند، شناسایی کنند (۱۷).

برخی از فعالیت‌های بیولوژیک مانند ترشح سایتوکاین‌ها و کشتن سلول‌های آلوده به سلول‌های γδ نسبت داده می‌شود اما اطلاعات اندکی درباره فعالیت این سلول‌ها در دسترس می‌باشد. فرض بر این است که این زیرگروه از سلول‌های T، پیش از فراخوانی و فعال شدن سلول‌های T اختصاصی آنتی‌ژن، باعث آغاز پاسخ‌های ایمنی علیه میکروب‌ها در اپی‌تلیوم می‌شوند (۱۸).

اما موش‌های حذف ژن شده فاقد سلول‌های γδ که از طریق اختلال هدف‌مند در ژن γ یا δ از TCR، ایجاد شده‌اند، یا هیچ نقص ایمنی ندارند یا نقص ایمنی اندکی دارند و تنها افزایش نسبتاً کمی در استعداد ابتلا عفونت با برخی از باکتری‌های داخل سلولی در آنها دیده می‌شود. جالب است که در سوریازیس که بیماری التهابی پوست است، IL-17 نقش بیماری‌زایی مهمی ایفا می‌کند و در مدل موشی به نظر می‌رسد که اولین سلول‌های تولید کننده IL-17 در ضایعات، سلول‌های γδ باشند. هنوز برخی از مسائل مشخص نشده است: اینکه آیا این وضعیت در سایر بیماری‌های التهابی نیز دیده می‌شود، چه چیزی را سلول‌های شناسایی می‌کنند و یا این‌که تا چه حد سلول‌ها در گسترش بیماری‌ها دخیل هستند (۱۹).

سلول‌های NKT

تعداد کمی از سلول‌های T، مارکرهایی را بیان می‌کنند که بر روی سلول‌های NK نیز یافت می‌شوند؛ این سلول‌ها، سلول‌های NKT نامیده می‌شوند. زنجیره‌های بیان شده توسط زیرگروهی از سلول‌های NKT ، دارای تنوع محدود هستند. در انسان این سلول‌ها به وسیله ناحیه V کد شده توسط قطعه ژنی بازآرایی شده ، بدون تنوع اتصالی (Junctional diversity) و یا با تنوع اتصالی اندک، متصل به یکی از سه زنجیره، مشخص می‌شوند. به دلیل این تنوع محدود، این سلول‌ها تحت عنوان سلول‌های NKT نامتغیر (Invariant NKT) (iNKT) نیز شناخته می‌شوند(۲۰). سایر سلول‌های NKT موجود، دارای گیرنده‌های آنتی‌ژنی متنوع می‌باشند. تمام TCRهای سلول NKT، لیپیدهای متصل به مولکول‌های شبه MHC کلاس I، به نام مولکول‌های CD1 را شناسایی می‌کنند. سلول‌های NKT و سایر سلول‌های T اختصاصی برای آنتی‌ژن لیپیدی، بلافاصله بعد از فعال شدن، قادر به تولید سایتوکاین‌هایی مانند IL-4 و IFNγ

می‌باشند که ایـن سـلول‌ها می‌تواننـد بـه سـلول‌های B ناحیـه حاشـیه‌ای بـرای تولیـد آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های لیپیدی کمک کنند(۲۱).

سلول‌های NKT در پاسخ‌های ایمنی ذاتی حفاظتی علیه بعضی از عوامـل بیمـاری‌زا مانند مایکوباکتری‌ها (که دارای دیواره‌های سلولی غنـی از لیپیـد می‌باشـند) مشـارکت می‌کنند که ممکن است سلول‌های NKT نامتغیر پاسخ‌های ایمنی اکتسابی را عمـدتاً از طریق ترشح سایتوکاین‌ها تنظیم کنند. بـا ایـن حـال، نقـش ایـن سـلول‌هـا در ایمنـی حفاظتی یا بیماری‌های انسان نامشخص است(۲۲).

منابع

1. Spits H, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, Koyasu S, Locksley RM, McKenzie AN, Mebius RE. 2013. Innate lymphoid cells—a proposal for uniform nomenclature. *Nature Reviews Immunology* 13: 145-9
2. Walker JA, Barlow JL, McKenzie AN. 2 .۰۱۳Innate lymphoid cells—how did we miss them? *Nature reviews immunology* 13: 75-87
3. Drake LY, Iijima K, Bartemes K, Kita H. 2016. Group 2 Innate Lymphoid Cells Promote an Early Antibody Response to a Respiratory Antigen in Mice. *The Journal of Immunology* 197: 1335-42
4. Hardy RR, Hayakawa K. 2015. Perspectives on fetal derived CD5+ B1 B cells. *European journal of immunology* 45: 2978-84
5. Silverman GJ. 2015. Protective natural autoantibodies to apoptotic cells: evidence of convergent selection of recurrent innate-like clones. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1362: 164-75
6. Li YS, Zhou Y, Tang L, Shinton SA, Hayakawa K, Hardy RR. 2015. A developmental switch between fetal and adult B lymphopoiesis. *Annals of the New York Academy of Sciences* ۱۵-۸ :۱۳۶۲
7. Wang H, Lin Jx, Li P, Skinner J, Leonard WJ, Morse HC. 2015. New insights into heterogeneity of peritoneal B-1a cells. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1362: 68-76
8. Cerutti A, Cols M, Puga I. 2013. Marginal zone B cells: virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes. *Nature Reviews Immunology* 13: 118-32

9. Magri G, Miyajima M, Bascones S, Mortha A, Puga I, Cassis L, Barra CM, Comerma L, Chudnovskiy A, Gentile M. 2014. Innate lymphoid cells integrate stromal and immunological signals to enhance antibody production by splenic marginal zone B cells. *Nature immunology* 15: 354-64
10. Hepworth MR, Monticelli LA, Fung TC, Ziegler CG, Grunberg S, Sinha R, Mantegazza AR, Ma H-L, Crawford A, Angelosanto JM. 2013. Innate lymphoid cells regulate CD4+ T-cell responses to intestinal commensal bacteria. *Nature* 498: 113-7
11. Chang Y-J, Kim HY, Albacker LA, Baumgarth N, McKenzie AN, Smith DE, DeKruyff RH, Umetsu DT. 2011. Innate lymphoid cells mediate influenza-induced airway hyper-reactivity independently of adaptive immunity. *Nature immunology* 12: 631-8
12. Spits H, Cupedo T. 2012. Innate lymphoid cells: emerging insights in development, lineage relationships, and function. *Annual review of immunology* 30: 647-75
13. Münz C, Steinman RM ,Fujii S-i. 2005. Dendritic cell maturation by innate lymphocytes coordinated stimulation of innate and adaptive immunity. *The Journal of experimental medicine* 202: 203-7
14. Mattner J, DeBord KL, Ismail N, Goff RD, Cantu C, Zhou D, Saint-Mezard P, Wang V, Gao Y, Yin N. 2005. Exogenous and endogenous glycolipid antigens activate NKT cells during microbial infections. *Nature* 434: 525-9
15. Hoyler T, Klose CS, Souabni A, Turqueti-Neves A, Pfeifer D, Rawlins EL, Voehringer D, Busslinger M, Diefenbach A. 201 .۲The transcription factor GATA-3 controls cell fate and

maintenance of type 2 innate lymphoid cells. *Immunity* 37: 634-48
16. Mjösberg JM, Trifari S, Crellin NK, Peters CP, van Drunen CM, Piet B, Fokkens WJ, Cupedo T, Spits H. 2011. Human IL-25-and IL-33–responsive type 2 innate lymphoid cells are defined by expression of CRTH2 and CD161. *Nature immunology* 12: 1055-62
17. Vivier E, Raulet DH, Moretta A, Caligiuri MA, Zitvogel L, Lanier LL, Yokoyama WM, Ugolini S. 2011. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science* 331: 44-9
18. Steinman RM, Hemmi H. 2006. Dendritic cells: translating innate to adaptive immunity. In *From Innate Immunity to Immunological Memory*, pp. 17-58: Springer
19. Takatori H, Kanno Y, Watford WT, Tato CM, Weiss G, Ivanov II, Littman DR, O'Shea JJ. 2009. Lymphoid tissue inducer–like cells are an innate source of IL-17 and IL-22. *The Journal of experimental medicine* 206: 35-41
20. Van Kaer L. 2007. NKT cells: T lymphocytes with innate effector functions. *Current opinion in immunology* 19: 354-64
21. Sada-Ovalle I, Chiba A, Gonzales A, Brenner MB, Behar SM. 2008. Innate invariant NKT cells recognize Mycobacterium tuberculosis–infected macrophages, produce interferon-γ, and kill intracellular bacteria. *PLoS Pathog* 4: e1000239
22. Liu K, Idoyaga J, Charalambous A, Fujii S-i, Bonito A, Mordoh J, Wainstok R, Bai X-F, Liu Y, Steinman RM. 2005. Innate NKT lymphocytes confer superior adaptive immunity via tumor-capturing dendritic cells. *The Journal of experimental medicine* 202: 1507-16

فصلنامه زیست فناوری پزشکی
سال دوم، شماره ۴، تابستان ۱۳۹۵

بیوراکتورها و بهینه‌سازی کشت سه بعدی بر پایه داربست های مهندسی بافت (بخش سوم)

زهرا السادات هاشمی[۱]

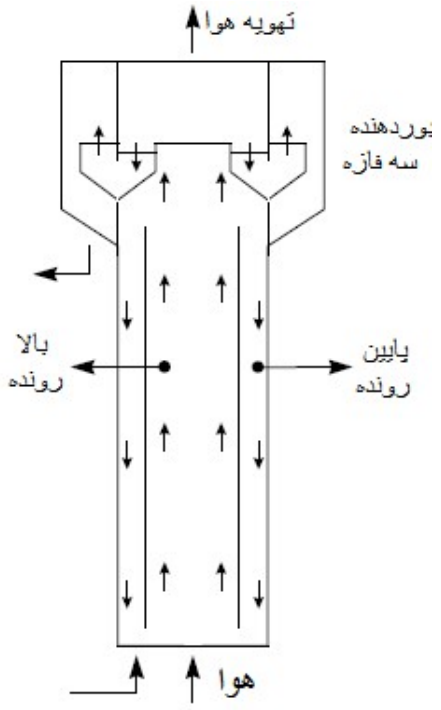
در شماره قبل درباره کاربردها، مزایا و محدودیت‌های داربست‌های مهندسی بافت صحبت کردیم. در این شماره به بیوراکتورها و بهینه‌سازی کشت سه بعدی برپایه داربست‌های مهندسی بافت می‌پردازیم.

بیوراکتورها در کشت سه‌بعدی

زمانی که به حجم زیادی از یک محصول نیاز باشد فرمانتور و بیوراکتورها مطرح می‌شوند. در تولید پروتئین و به‌ویژه آنتی‌بادی به چند کیلوگرم از محصول خالص نیاز است که برای این‌کار فرمانتورهای دو هزار لیتری (Air-lift Bioreactor) برای شرکت‌های تجاری تهیه شده است (شکل ۱) که بذر اولیه برای این فرمانتورها در حدود یک کیلوگرم و محصول نهایی طی یک دوره ۱۵ روزه ۴ کیلوگرم است. باید گفت که

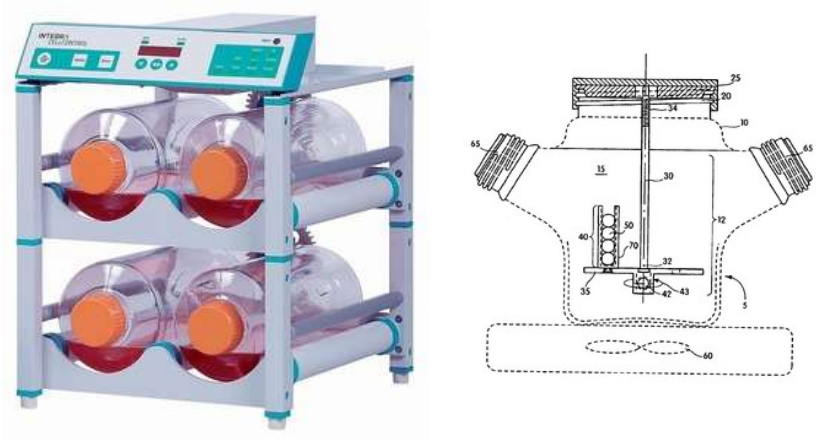
۱- دکترای بیوتکنولوژی پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی تهران.
z.hashemi87@gmail.com, z-hashemi@razi.tums.ac.ir

برای به‌دست آوردن محصولی مانند آنتی‌بادی در روش in vivo از میزبان حیوانی (موش) استفاده می‌شود که بدین‌ترتیب مسائل اخلاقی در این بخش مطرح است که راه را به سمت استفاده بیشتر از کشت سه‌بعدی در بیوراکتورها باز کرده است. در این حالت جدا از حذف مسائل اخلاقی، به نگهداری از حیوان و صرف هزینه انسانی نیست و محصول در مرحله پایین دست (Down Stream) به‌طور خالص به‌دست می‌آید و هزینه این مراحل در بخش صنعت حذف می‌شود. در راکتورهای زیستی نوع سلول دست‌ورزی شده مهم است.



شکل ۱. شمای کلی از Air lift Bioreactor (۱).

اگر سلول معلق باشد شرایط کشت آن ساده است و همواره سلول‌ها در حالت سه‌بعدی هستند. سیستم تغذیه و اکسیژن رسانی به‌طور الکترونیکی در هر لحظه بررسی و کنترل می‌شود. سلول‌های چسبنده باید روی یک سطح تثبیت شوند به‌طوری که این سطح اثر مکانیکی چرخش مواد در راکتور را کاهش دهد و باعث افزایش نسبت سطح به حجم شود. این سطوح به‌صورت دیسک‌های سلولزی متخلخل و حالتی از داربست‌های قابل تجزیه است. این دیسک‌ها به‌عنوان حامل عمل می‌کنند و سلول‌ها در آنها به دام می‌افتند. با گردش مواد در اطراف، این دیسک‌ها نیز در محیط راکتور به چرخش در می‌آیند و بدین طریق مواد غذایی در اطراف آنها بهتر گردش می‌کنند و بدین‌ترتیب سیستم گردش سه‌بعدی برقرار می‌شود. حالت دیگر استفاده از فیبرهای بلند سلولزی است که سلول‌ها در داخل آن‌ها کشت داده می‌شوند. چند عدد از این فیبرها در کنار هم قرار می‌گیرد و یک هولوفیبر (Hollow Fiber) ایجاد می‌کند. در این حالت مواد غذایی از یک سمت این محفظه فیبری وارد و از سمت دیگر خارج می‌شود. برای عدم ادغام مواد تولیدی و زاید در راکتورها از غشاهای نیمه تراوا (Membrane Base Reactor) استفاده می‌کنند؛ بدین‌ترتیب که در مرحله بالایی (Up Stream) مواد خام وارد راکتور شده، در مرحله میانی (Middle Stream) پردازش می‌شود و در مرحله پایین دست، محصول خالص به‌دست می‌آید. برای گردش مواد در اطراف سلول می‌توان از همزن استفاده کرد مانند spinner flasks (شکل ۲) یا مانند roller bottles (شکل ۳) از چرخش خود محفظه اصلی استفاده کرد. البته در راکتور شرایط می‌تواند ثابت (Static Culture) باشد به‌طوری که در طول فرآیند، مواد غذایی و زاید وارد و خارج نشود. بدین ترتیب سیستم به‌صورت بسته است (Batch System) یا راکتور می‌تواند در حالت پویا و دینامیک (Dynamic Culture) باشد. سیستم پویا با ورود مواد به داخل راکتور و نیز خروج مواد از راکتور ارتباط دارد.



شکل ۲. تصویری از **spinner flasks** (۲). تصویری از**roller bottles** (۳).

بهینه‌سازی استفاده از داربست‌ها

برای افزایش کارایی و بهینه‌سازی عملکرد داربست روی سطح آن تیمارهایی انجام می‌شود. با کمک این تغییرات امکان تکثیر و نفوذ سلول‌ها بیشتر می‌شود. خواص سطحی داربست یعنی آب‌گریز یا آب‌دوست بودن آن ناشی از ترکیب شیمیایی موجود در داربست است. این خواص ممکن است برای القای قدرت چسبندگی سلول به صورت انتخابی و نیز برای مهاجرت و تکثیر سلول‌ها یا حتی رهاسازی عوامل رشد از داربست مناسب نباشد(۴). فعال شدن سطح داربست با جذب فیزیکی یا تغییرات شیمیایی همراه است. گاهی برای افزایش اتصال سلول‌ها به سطح داربست موادی مانند پلی- ال- لیزین، کلاژن و پروتئین‌های چسبنده سطح سلول (فیبرونکتین، لامینین، ویترونکتین) را به سطح ماتریکس پلیمری متصل می‌کنند (۵-۶). از پلی- ال- لیزین برای کشت سلول‌های غضروفی استفاده می‌شود (۷). به‌منظور متعادل نمودن برهم‌کنش سلول و

ماتریکس و نیز پایدار نگه داشتن لایه سلولی روی داربست از مولکول‌های زیستی فعال استفاده می‌شود. این مولکول‌ها را می‌توان با پیوند کوالانسی به سطح داربست متصل کرد که این سلول‌ها با گیرنده‌های سطحی خود این مولکول‌ها را شناسایی و با کمک آنها روی داربست جای‌گیری می‌کنند. این مولکول‌ها می‌توانند ماکرومولکول‌های مشتق از مواد طبیعی مانند کلاژن، ژلاتین، هپارین، هیالورونیک اسید یا پپتیدهای کوچک حاصل از پروتئین‌های اتصالی سلول مانند تری پپتید آرژینین- گلایسین- آسپارتیک اسید یا حتی مواد قندی مانند گالاکتوز و لاکتوز باشند (۴, ۸).

منابع

1. (NTUA) NTUoA. Air Lift or Bubble Column Reactors. 2011; Available from: http://www.metal.ntua.gr/~pkousi/e-learning/bioreactors/page_11.htm.
2. Upton TM, Flickinger JT. Cell culture spinner flasks. Google Patents; 2006.
3. Exhibition TVI. Modular laboratory cell culture device. 2011; Available from: http://www.directindustry.com/prod/ibs-integra-biosciences/modular-laboratory-cell-culture-devices-39224-414788.html.
4. Lutolf M, Hubbell J. Synthetic biomaterials as instructive extracellular microenvironments for morphogenesis in tissue engineering. Nature biotechnology. 2005;23(1):47-55.
5. Nuttelman C, Mortisen D, Henry S, Anseth K. Attachment of fibronectin to poly (vinyl alcohol) hydrogels promotes NIH3T3 cell adhesion, proliferation, and migration .Journal of biomedical materials research. 2001;57(2):217-23.
6. Bhati R, Mukherjee D, McCarthy K, Rogers S, Smith D, Shalaby S. The growth of chondrocytes into a fibronectin coated biodegradable scaffold. Journal of biomedical materials research. 2001;5.۸۲-۷۴:(۱)۶
7. Atashi A, Nadri S, Hafizi M, Soleimani M. Role of poly-l-lysine-coated plates and fetal calf serum concentration in sheep chondroprogenitor cell culturing. Journal of Artificial Organs. 2009;12(2):118-22.

8. Hersel U, Dahmen C, Kessler H. RGD modified polymers: biomaterials for stimulated cell adhesion and beyond. Biomaterials. 2003;24(24):4385-415.

فصلنامه زیست فناوری پزشکی
سال دوم، شماره ۳، بهار ۱۳۹۵

ایمونوسنسورها

سیده ثنا سیدی‌پور[۱]

مقدمه

حسگر (sensor) وسیله‌ای است که می‌تواند حضور ماده مورد تجزیه (analyte) را در نمونه تشخیص داده و آن را به صورت کمّی اندازه‌گیری کند. حسگر شامل یک سیستم تشخیص به نام گیرنده یا پذیرنده جزء اصلی تشخیص‌دهنده یون‌ها یا مولکول‌های هدف، یک مبدل (transducer) و یک سیستم قرائت (readout system) است. در حسگرهای زیستی، پذیرنده یک عنصر زیستی است که با روش‌های مختلف روی مبدل تثبیت می‌شود. این عضو زیستی برای برهمکنش‌های زیستی و آشکارسازی آنالیت از گزینش‌پذیری (selectivity) بالایی برخوردار است (در سیستم‌های زیستی بین گیرنده و لیگاند مربوط به آن برهمکنش اختصاصی وجود دارد).

در تحقیقات و تشخیص‌های بالینی تشخیص دقیق و حساس بیومارکرها اهمیت دارد. از میان روش‌های مختلف اندازه‌گیری بیومارکرها، ایمونواسی از فنون زیستی برتر برای شناسایی آنالیت‌ها در نمونه‌های خون و مایعات بدن است. این تست‌ها کاربرد گسترده‌ای در تشخیص بیماری، ایمنی موادغذایی و آنالیز محیط دارند. در تشخیص، ایمونوسنسورها دستگاه‌های تحلیلی کوچک با حساسیت بسیار بالا هستند که بر مبنای

[۱]- دکترای تخصصی نانوتکنولوژی، دانشگاه رازی کرمانشاه

تخصیش آنتی‌بادی- آنتی ژن کار می‌کنند. اگر آنتی‌بادی با بخش‌هایی از آنتی‌بادی به عنوان المنت بیولوژیکی در سنسور به کار رود، سنسور را ایمونوسنسور می‌نامند.

ایمونوسنسورها براساس واکنش اختصاصی بین آنتی ژن/ آنتی‌بادی کار می‌کنند.

آنتی‌بادی‌ها پروتئین‌های سیستم ایمنی هستند که با قدرت تشخیص بالا به شناسایی آنتی ژن‌های بیگانه می‌پردازند.

تمایل اتصال و شناسایی آنتی ژن/ آنتی‌بادی بسیار بالا و از نوع غیر کووالانت است.

در طراحی ایمونوسنسورها می‌توان از ۴ بخش آنتی‌بادی استفاده کرد:

۱. اتصال رسپتور Fc مانند پروتئین A یا G یا پروتئین ترکیبی نوترکیب G/A بر روی سطح؛

۲. اتصال سایر بخش‌های اتصالی به ساختار. برای مثال اتصال بیوتین به بخش Fc برای اتصال به سطح پوشانده شده با استرپتاویدین؛

۳. استقرار حامل جامد از طریق اکسیداسیون بخش کربوهیدراتی در قسمت CH2 از دومینFc ؛

۴. اتصال فراگمنت‌های Fab یا Fv به سطح از طریق گروه سودفیدریل در بخش انتهای C.

۵. واکنش‌های شیمیایی مختلفی برای تثبیت آنتی‌بادی روی سطح جامد انجام می‌شود. اتصال بین آنتی‌بادی یا بخش‌های کربوهیدراتی آن به ماده سطح جامد (سیلیکا، اکسیدهای Taیا Ti، پلاستیک‌ها، سفاروز، فیلم‌های فلزی) از طریق گلوتاردهید، کربودی آمید، استر سوکسینامید، مالئین ایمید و اکسیدهای گالاکتوز برقرار می‌سود.

به جز آنتی‌بادی‌ها، می‌توان از آنالیت‌های جایگزین دیگری به عنوان بخش بیولوژیک در ایمونوسنسورها استفاده کرد. این آنالیت‌ها شامل:

آپتامرها

۱. توالی اختصاصی اولیگونوکلئوتیدی تک رشته DNA یا RNA که قادر به شناسایی مولکول هدف اختصاصی خود با قدرت تمایل هستند.

اولیگونوکلئوتیدهای اتصالی به لیگاند، قادر به تقلید خواص آنتی‌بادی هستند و کاربردهای وسیعی در ابزارهای تشخیصی دارند. آپتامرها با شناسایی مولکول هدف خود می‌توانند دور آن فولد شوند که شیارهای پیچیده‌ای برای شناسایی ساختار هدف خود دارند. آپتامرها نسبت به آنتی‌بادی‌ها مزایای بسیاری دارند؛ از جمله سهولت در سنتز، پایداری شیمیایی، سهولت تثبیت آنها روی سطوح سنسور. علاوه بر این می‌توان آنها را با کیفیت بالا و به صورت تکرارپذیر تولید و مورد استفاده قرار داد.

آنتی‌کالین‌ها

لیپوکالین از خانواده پروتئین‌ها است که برای ذخیره‌سازی و انتقال ترکیبات آلی حساس شیمیایی یا آبگریز استفاده می‌شود. یک مثال از این دسته پروتئین‌ها پروتئین اتصالی به رتینول در فیزیولوژی انسان است.

پروتئین اتصالی به بیلین از خانواده لیپوکالین، میتواند از لحاظ ساختاری دچار تغییر شکل فضایی شود و به آنتی ژن‌های بالقوه‌ای مانند دیگوکسین متصل گردد.

به طور کلی این خانواده از پروتئین‌های اتصالی دارای ساختار حفاظت شده بشکه بتا هستند که شامل ۸ رشته بتا پاراللی است که به دور یک هسته مرکزی تاپ خورده‌اند. از این ساختار می‌توان به عنوان جایگاه اتصال اختصاصی به لیگاند استفاده کرد.

فنون Molecular Imprinting (تقلید مولکولی)

فنی بر مبنای تهیه مواد جاذب پلیمری با انتخاب از پیش تعیین شده برای ماده یا گروهی خاص و یا آنالوگ‌های ساختاری و عملکردی است که بر مبنای برقرای اتصالات

عرضی مونومرهای مواد پلاستیکی مثل استیرن‌ها و methacrylics است که برهم کنش با لیگاندهای قالب برای ایجاد برهمکنش‌هایی با انرژی اندک را ممکن می‌کنـد. پـس از برقراری پلیمریزاسیون، مولکول هدف مورد نظر درون ساختار قالب براسـاس پیونـدهای کووالان یا غیر کووالان به دام می‌افتد.

در تقسیم‌بندی دیگر، می‌توان ایمونوسنسورها را به ۲ دسته تقسیم کرد:

۱. **ایمونوسنسورهای مستقیم یا بدون برچسب:** این ایمونوسسنورها قـادر بـه شناسایی تغییرات فیزیکی در طول تشکیل کمپلکس‌های ایمنی هستند.

۲. **ایمونوسنسورهای غیرمستقیم یا نشاندار شده**: ایـن نـوع ایمونوسنسـورها برای تولید سیگنال براساس عوامل نشاندار مورد استفاده قرار می‌گیرند کـه بـر این اساس از روش‌های شناسایی سیگنال متعدد استفاده قرار می‌شود.

۳. نشانگرهایی که بطور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند عبارت‌اند از:

- آنزیم‌ها: شامل پراکسیداز ، گلـوکز اکسـیداز، آلکـالین فسـفاتاز، کاتـالاز و لوسیفراز،
- ترکیبات فعال الکترواکتیو،
- نشانگرهای فلورسنت: رودامین، فلورسـین، Cy5 و ترکیبـات ruthenium diamine

۱- مبدل‌ها

مانند سایر سنسورها کاربر از مبدل‌های مختلفی برای تبدیل سیگنال بیولوژیکی بـه علائم قابل خواندن مورد استفاده می‌کند.

مبدل‌های الکتروشیمیایی: اندازه‌گیری سیگنال الکتریکی که نشان‌دهنده تغییرات ناشی از برهمکنش بین آنتی ژن- آنتی بادی است. از جمله مبـدل‌های الکتروشـیمیایی

مورد استفاده، مبدل‌های آمپرومتریک برای اندازه‌گیری تغییرات جریان، پتانسیومتریک برای اندازه‌گیری تغییرات پتانسیل الکترود یا تغییرات ولتاژ، کانداکتومتریک برای اندازه‌گیری تغییر در مقاومت و هدایت است.

مبدل‌های نوری: در این دسته از مبدل‌ها یا یک سیگنال نوری تولید می‌شود (برای مثال رنگ یا فلورسانس) و یا تغییرات در خواص نوری محیط انجام واکنش پس از برقراری واکنش آنتی‌ژن- آنتی‌بادی اندازه‌گیری می‌شود.

مبدل‌های پیزوالکتریک: تشکیل کمپلکس آنتی‌ژن- آنتی‌بادی در سطح، موجب افزایش جرم سطح در مقایسه با آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی تنها می‌شود که بررسی و تشخیص این اختلاف جرم توسط مبدل‌های پیزوالکتریک مثل quartz crystal balance و cantilever انجام می‌شود.

۱-۲: مبدل‌های الکتروشیمیایی

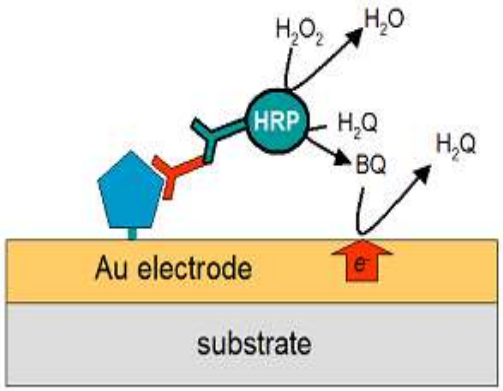
۱ـ۱ـ۲ : مبدل‌های آمپرومتریک:

این روش شاید معمول‌ترین روش الکتروشیمیایی به کار رفته در بیوسنسورها باشد که براساس رابطه خطی موجود بین غلظت آنالیت و شدت جریان عمل می‌کند. این مبدل‌ها براساس اندازه‌گیری جریان تولید شده توسط واکنش الکتروشیمیایی در ولتاژ ثابت عمل می‌کنند.

رایج‌ترین فرم ایمونوسنسورهای آمپرومتریک در تست تشخیصی، الایزا است که در آن گونه‌های احیا شده توسط آنزیم‌های احیاکننده (آنزیم‌های نشانه) به یک جریان قابل اندازه‌گیری تبدیل می‌شوند. هدف از انجام این تست شناسایی حضور آنتی بادی در سرم به دنبال تشکیل کمپلکس آنتی‌ژن – آنتی‌بادی است.

راهبرد معمول برای تثبیت آنتی‌ژن روی سطح الکترود رسانا مثل الکترود طلا توسط مولکول‌های لینکر مثل تیول‌های آمینو یا کربوکسیلیک اسید انجام می‌شود. گروه تیول

اتصال محکمی به سطح الکترود طلا پیدا می‌کند و یک لایه خودآرایه برای گروه‌های آمینو یا کربوکسیل در انتهای زنجیره‌های هیدروکربنی کوچک برای اتصال پروتئین‌های هدف به وجود می‌آورد. طی انجام انکوباسیون با سرم مثبت که به‌طور معمول ۳۰ تا ۶۰ دقیقه طول می‌کشد، برهمکنش بین آنتی‌ژن و آنتی‌بادی انجام می‌شود. یک انکوباسیون ثانویه با محلول حاوی آنتی‌بادی anti-human Ig نشاندار شده با انزیم احیا مثل horseradish peroxidase انجام می‌شود. تشکیل کمپلکس آنتی‌ژن –آنتی‌بادی بعد از افزودن سوبسترای آنزیم نشاندار و تشکیل واسطه اکسید و احیا صورت شناسایی می‌شود.



۲ـ۱ـ۲: مبدل‌های پتانسیومتریک:

اساس کار این مبدل‌ها بر مبنای اندازه‌گیری تغییرات پتانسیل در سطح الکترود بعد از اتصال اختصاصی آنتی‌ژن و آنتی‌بادی است.

این روش مبتنی بر اندازه‌گیری پتانسیل یک پیل در جریان صفر است. این پتانسیل با لگاریتم غلظت ماده مورد سنجش متناسب است. بر این مبنا چندین روش برای انجام آن وجود دارد:

۱. **پتانسیل Trans-membrane:** این مبدل بر مبنای تجمع پتانسیل عبوری از عرض غشای حساس عمل می‌کند. الکترودهای یونی (ISE)Ion-selective electrodes از غشاهای یونی انتخابی استفاده می‌کنند که بین نمونه و سطح سنسور جدایی بار ایجاد می‌کنند. بر این مبنا، آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی تثبیت شده روی غشا به ترکیب مربوطه در نمونه متصل می‌گردد و تغییرات پتانسیل باری روی غشای نیمه تراوا اندازه‌گیری می‌شود.

۲. **پتانسیل الکترود:** این مبدل نیز شبیه به سنسور پتانسیلی غشای ترانس است. روی سطح الکترود واکنش مربوط به اتصال آنتی‌ژن-آنتی‌بادی انجام می‌شود که موجب تغییر در پتانسیل الکترود بر مبنای غلظت آنالیت در نمونه می‌شود.

۳. **مبدل اثر میدان Field-effect transistor:** یک دستگاه نیمه‌هادی برای بررسی تغییرات سطح الکترود است. دسته‌ای از ترانزیستورها هستند که مبنای کار کنترل جریان در آنها توسط یک میدان الکتریکی انجام می‌شود. ترانزیستورهای اثر میدان دارای سه پایه سورس، درین و گیت هستند که پایه گیت، جریان عبوری از درین به سورس را کنترل می‌نماید. تشکیل کمپلکس آنتی‌ژن آنتی‌بادی در پایانه گیت موجب تغییر پتانسیل بین سورس و درین می‌شود.

۲-۲: مبدل‌های نوری

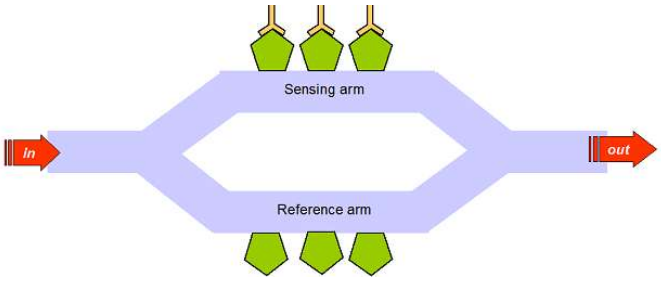
برهمکنش آنالیت-رسپتور می‌تواند منجر به تغییر در خواص نوری نظیر شدت یا فرکانس جذب و نشر، فرکانس رزونانس الکترون‌های سطحی، زاویه شکست و غیره گردد. بیوسنسورها می‌توانند از انواع مختلف اسپکتروسکوپی با ثبت ویژگی‌های

اسپکتروشیمیایی مختلف استفاده کنند: جذب، فلورسانس، فسفرسانس، رامان، رزونانس الکترون سطحی، شکست، پخش و ... .

مزایای مبدل‌های نوری عبارت‌انـد از: فشـردگی، انعطـاف‌پـذیری، مقاومـت در برابـر نویزهای الکتریکی، ابعاد کوچک پروب، استفاده از مقادیر بسیار اندک نمونه.

- تداخل *Interferometry*

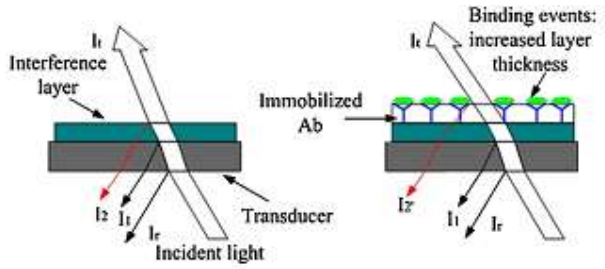
زمانی که یک واکنش ایمنی در سطح wave guide انجام می‌شود، موجب تغییـر در شاخص انکسار در سطح می‌شود و به موجب آن شاخص موثر انکساری تغییر می‌کند. در شکل زیر، در تداخل سنج Mach–Zehnder (MZI)، یک تولیدکننده نـور بـین دو بـازو شکافته می‌شود و پس از طی مسافت مشخصـی دوبـاره بـا هـم تـداخل پیـدا میکننـد. به‌واسطه بروز واکنش ایمونولوژیک در سطح سنسور، در ضریب شکست نور تفاوت ایجاد می‌شود. به‌واسطه واکنش ایمونولوژیک، در این فاصله، مسیری که نور طـی مـی‌کنـد در مقایسه با نور هدایتی در بازوی مرجع دچار تغییر فاز می‌شود.



- طیف سنجی تداخلی انعکاسی *Reflectometric interference spectroscopy (RIFS)*

یکی از فنون بازتابی است که در ایمونوسنسورهای مستقیم کاربرد دارد. یک پرتو نور سفید از چندین لایه بازتاب‌شونده عبور می‌کند و منعکس می‌شود. شـعاع‌های مـنعکس شده دریافت شده و یک طیف تداخلی مشخص ایجاد می‌کند. اتصال آنتی‌بادی به سطح

موجب تغییر طیف بازتاب می‌شود. بنابراین، برهمکنش بین آنتی‌بادی و آنتی‌ژن در محلول به صورت real-time اندازه‌گیری می‌شود.



- مجموع فلورسنت بازتاب داخلی *Total internal reflection fluorescence (TIRF)*

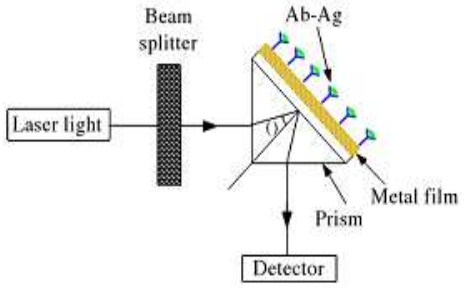
این فن بر مبنای استفاده از طول موج ناپایدار در یک میدان مغناطیسی است که به خارج از سطح دو محیط مختلف با ضریب شکست کمتر، گسترش می‌یابد. این میدان زمانی ایجاد می‌شود که نور از یک زاویه خاص به دو محیط با ضریب شکست‌های مختلف منعکس شود. مولکول‌هایی با ویژگی‌های فلورسنت در حالت بازگشت از فرم تحریک شده، طول موج فلورسنت از خود ساطع می‌کنند. با استفاده از تکنیک طیف‌سنجی موج ناپایدار مانند بازتاب داخلی کلی فلورسنت میتوان حساسیت حسگر را افزایش داد. زمانی که نور با بازتاب داخلی کلی در راهنمای نوری انتقال داده شود، یک میدان ناپایدار در مرز بین راهنما و محیط خارجی تشکیل شود. عمق نفوذ این میدان، تابعی از طول موج است. بنابراین، اگر راهنمای نوری با یک محلول فلورسنت در تماس باشد، فقط آنهایی که درون میدان ناپایدار هستند توسط نور تحریک خواهند شد. در این روش، نشانگرهای فلورسنت در رابطه با بازتاب داخلی نور در ایمونوسنسورهای الایزا مانند، مورد استفاده قرار می‌گیرند. نمونه‌های نشاندار شده متصل نشده در محلول، تحریک نمی‌شوند و در ایجاد سیگنال زمینه نقشی نخواهند داشت.

- رزونانس پلاسمون سطحی Surface plasmon resonance (SPR)

ایمونوسنسورهای SPR شامل تثبیت آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی توسط ماتریکسی روی سطح نازک طلا است که روی سطح شیشه‌ای منعکس‌کننده قرار دارد. تعامل آنتی‌ژن و آنتی‌بادی روی سطح موجب تغییر در ضریب شکست و به عنوان تغییر در شدن نور استنباط می‌شود. اصل تشخیصی در این روش بر مبنای تشخیص تغییرات در ضریب شکست در محیط محلول نزدیک به سطح سنسور است که دچار تغییرات ناشی از اتصال آنتی‌ژن و آنتی‌بادی به هم است. این کار به نوبه خود ناشی از تغییر غلظت محلول در سطح سنسور است.

SPR نسبت به انواع حسگرهای زیستی در زمینه تطبیق‌پذیری و قابلیت بررسی برهمکنش‌ها بدون نیاز به نشانگرهای بیومولکولی دارای مزایای ذاتی است. از دیگر ویژگی‌های آن قابلیت کوچک‌سازی، ابزاری دقیق، قابل حمل، دقت تشخیص بسیار بالا و خودکار بودن است.

از جمله معایب این ایمونوسنسورها حساسیت نسبت به اختلالات ناشی از تغییر ضریب شکست و حساسیت حرارتی است.



۳-۲: روش‌های پیزوالکتریک

اندازه‌گیری تغییرات کوچک در جرم، ناشی از برهمکنش آنالیت-بیورسپتور، شکل دیگری از تبدیل مورد استفاده در بیوسنسورهاست. اساس این روش بر کریستال‌های پیزوالکتریک استوار است. این کریستال‌ها در اثر اعمال سیگنال الکتریکی در فرکانسی مشخصی مرتعش می‌شوند. فرکانس نوسان به فرکانس الکتریکی به‌کار رفته و جرم کریستال بستگی دارد. بنابراین، زمانی که جرم به‌واسطه اتصالات شیمیایی افزایش می‌یابد فرکانس نوسانی کریستال تغییر می‌کند که تغییر حاصل به روش الکتریکی اندازه‌گیری و برای تعیین جرم افزوده استفاده می‌شود. در فنون دیگر حساس نسبت به جرم از اندازه‌گیری میزان خمش کانتیلور، ناشی از برهمکنش رسپتور- لیگند، برای آنالیز استفاده می‌شود.

در بسیاری از موارد می‌توان از سنسورهای پیزوالکتریک برای تشخیص آفت‌کش‌ها و سموم، بدون نیاز به نشانگرهای گران‌قیمت یا خطرناک استفاده کرد.

از جمله مزایای این سنسورها: خروجی Real-time، حساسیت بالا، سهولت در استفاده و مقرون به صرفه بودن است.

از مشکلات این سنسورها: مدت زمان طولانی برای ایجاد یک لایه پایدار به علت تغییرات در ویسکوزیته است.

از جمله مزایای میکروکانتیلیورها برای ایمونوسنسورها قابلیت مینی‌توریزه کردن این سنسورها و هزینه پایین آنهاست.

۳: پروتکل‌های تثبیت

تثبیت آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی روی مبدل یا ماتریکس پشتیبانی یک گام کلیدی در بهینه‌سازی عملکرد یک ایمونوسنسور از لحاظ پاسخ، حساسیت، دقت در عمل، ثبات و قابلیت استفاده مجدد است.

راهبردهای تثبیت به‌طور کلی به دو دسته روش‌های فیزیکی و شیمیایی تقسیم می‌شود.

۳-۱: روش‌های جذب فیزیکی

بر مبنای تعامل نیروهای وان در والس و الکتروستاتیک بین آنتی‌ژن/ آنتی‌بادی با مبدل است.

از مزایای تثبیت با این روش: سرعت بالا، سادگی در حالی که اشکال اصلی آن تثبیت تصادفی و اتصالات ضعیف است.

اما بطور کلی جذب فیزیکی به علت اینکه تحت تاثیر تنش‌های مکانیکی و محیطی قرار می‌گیرد، توصیه نمی‌شود.

۳-۲: اتصالات کووالان

اتصال آنتی‌ژن/ آنتی‌بادی به سطح مبدل از طریق برقراری اتصالات کووالان پایدار بین گروه‌های عاملی آنتی‌بادی و مبدل است.

این فرایند موجب افزایش ثبات آنتی‌بادی و کاهش فعالیت آنتی‌ژن/ آنتی‌بادی و در نهایت کاهش استفاده مجدد آن می‌شود.

استفاده از مراحل بلاکینگ برای کاهش اتصالات غیراختصاصی استفاده شود.

۳-۴: لایه‌های خودآرایه self- assembled mololayer

تشکیل SAM توسط انجام واکنش‌های شیمیایی خودبه‌خود روی سطح الکترودی مانند طلا. ایجاد چنین لایه‌ای از طریق زنجیره طولانی n-alkylthiols گروه‌های عاملی الی که توسط گروه‌های تیول به راحتی می‌توانند به سطح الکترود طلا متصل شوند. این لایه‌ها را می‌توان حدود ۱۲۰ دوره مورد استفاده قرار داد.

۴-۴: استفاده از نانوذرات:

علاوه بر روش‌های مرسوم، از ترکیبات جدید مانند نانوذرات برای تثبیت آنتی‌بادی در ساختار ایمونوسنسورها استفاده می‌شود. نانوذرات به عنوان سطح جامد با توجه به نسبت سطح به حجم بسیار بالای نانوذرات و زیست سازگار بودن‌شان در سنسورها مورد استفاده قرار می‌گیرند. از برهمکنش‌های زیستی مثل برهمکنش استرپتاویدین/ بیوتین برای تثبیت آنتی‌بادی روی سطح نانوذره استفاده می‌شود.

ویژگی‌های این روش: تمایل بالای بیوتین/ استرپتاویدین و ماهیت اتصالی غیرکووالان آنها به این سیستم‌ها اجازه می‌دهد که بارها شست و شو شود و مورد استفاده مجدد قرار گیرد.

۴: بازیافت سنسورها:

یکی از ویژگی‌های سنسور مناسب، قابلیت استفاده مجدد آن بعد از هر بار استفاده است.

روش‌های مختلفی برای دستیابی به سطوح تجدیدپذیر سنسور وجود دارد.

۱. شکستن اتصال آنتی‌ژن/ آنتی‌بادی و استفاده مجدد از معرف ایمونولوژیک تثبیت شده روی سطح جامد،

۲. حذف کمپلکی آنتی‌ژن- آنتی‌بادی از سطح پشتیبان و تثبیت ماده ایمونولوژیک تازه.

در راهبرد اول، باید با دقت کافی محلولی را انتخاب کرد که باند بین آنتی‌ژن و آنتی‌بادی را از بین ببرد بدون اینکه اتصال بین آنتی‌بادی و سطح پشتیبان از بین برود. در روش دوم، با استفاده از محلول‌های مختلف در pHهای شدید و غلظت‌های نمکی بالا باید سطح را از مواد ایمونولوژیک پاک کرد.

برای بازیافت آنتی‌بادی باید از محلول‌های اسیدی یا بازی، گوانیدیوم کلراید یا شوک‌های یونی که به‌طور بالقوه برای اتصال آنتی بادی مضر هستند، استفاده کرد.

منابع

1- Lin J, Ju H. Electrochemical and chemiluminescent immunosensors for tumor markers. Biosensors and Bioelectronics. 2005 Feb 15;20(8):1461-70

2- Jiang X, Li D, Xu X, Ying Y, Li Y, Ye Z, Wang J. Immunosensors for detection of pesticide residues. Biosensors and Bioelectronics. 2008 Jun 15;23(11):1577-87.

3- Luppa PB, Sokoll LJ, Chan DW. Immunosensors—principles and applications to clinical chemistry. Clinica Chimica Acta. 2001 Dec 31;314(1):1-26.

4- Moina C, Ybarra G. Fundamentals and applications of immunosensors. Advances in immunoassay technology. 2012:65-80.

5- Azam MS, RAHMAN MR, LOU Z, TANG Y, RAQIB SM, JOTHI JS. Review: Advancements and application of immunosensors in the analysis of food contaminants. Nusantara Bioscie. 2014 Nov;6(2):186-95.

6- Lee TH, Lee SW, Jung J, Ahn J, Kim MG, Shin YB. Signal amplification by enzymatic reaction in an immunosensor based on localized surface plasmon resonance (LSPR). Sensors. 2010 Mar 12;10(3):2045-53.

7- Ansari AA, Alhoshan M, Alsalhi MS, Aldwayyan AS. Prospects of nanotechnology in clinical immunodiagnostics. Sensors. 2010 Jul 7;10(7):6535-81.

8- Mitchell J. Small molecule immunosensing using surface plasmon resonance. Sensors. 2010 Aug 4;10(8):7323-46.

9- Willander M, Khun K, Ibupoto ZH. Metal oxide nanosensors using polymeric membranes, enzymes and antibody receptors as ion and molecular recognition elements. Sensors. 2014 May 16;14(5):8605-32.

فصلنامه زیست فناوری پزشکی
سال دوم، شماره ۳، بهار ۱۳۹۵

خبر

"بزرگ‌ترین پیوند صورت موفقیت‌آمیز در صورت آتش‌نشان امریکایی"

گردآورنده: زهرا السادات هاشمی

در سپتامبر ۲۰۱۱،هاردیسون و سه آتش‌نشان دیگر در حال عملیات نجات یک زن از درون خانه‌ای در حال سوختن بودند که سقف خانه فرو ریخت. اگرچه هاردیسون با حبس نفس خود توانست ریه‌اش را نجات دهد اما صورت، سر، گردن و نیم‌تنه بالای بدن وی دچار سوختگی درجه سه شد و گوش‌ها، لب‌ها، بخش زیادی از بینی و تقریبا همه بافت پلک چشم او از بین رفت.

در سال ۲۰۱۵، پس از سال‌ها درمان و بستری شدن در بیمارستان و انجام بیش از ۷۰ عمل جراحی، تیمی شامل ۱۰۰ جراح و متخصص پزشکی به رهبری دکتر ادواردو

رودریگز، رئیس بخش جراحی پلاستیک‌هانس‌جورج ویس در مرکز پزشکی لانگون دانشگاه نیویورک یک عمل پیوند صورت بی‌سابقه روی‌هاردیسون انجام دادند که از همه تلاش‌های پیشین پیچیده‌تر بود. این عمل پیوند صورت، ۲۶ ساعت به طول انجامید که در جریان عمل جراحی بیش از ۱۰۰ فیزیولوژیست، پرستار، تکنسین و پزشک شرکت داشتند.

اکنون پس از یک سال، هاردیسون با چهره‌ای کامل به جامعه بازگشته است. بیشتر اجزای صورت و سر پاتریک‌هاردیسون بر اثر این حادثه به شدت سوخته بود، به حدی که دیگر قابل شناسایی نبود اما پس از انجام جامع‌ترین عمل پیوند صورت جهان، چهره وی کاملا تغییر کرده است به‌طوری که پزشکان با بی‌سابقه خواندن آن، امیدوارند در آینده بتوانند نتایج مشابهی را بر روی موارد این‌چنینی شاهد باشند.

Patrick Hardison
Face Transplant Recipient

به دلیل شدت جراحات هاردیسون، پزشکان هیچ چارچوبی برای اجرای پیوند در دست نداشتند، از این‌رو آنها برای سازگار کردن اندام این آتش‌نشان با اهداکننده، بر مدل‌سازی پیشرفته سه‌بعدی و راهنماهای برش چاپی سه‌بعدی تکیه کردند.

نتایج اولیه بسیار چشمگیر بود. اکنون پس از گذشت یک سال از بهبود و چندین عمل دیگر برای تنظیم پلک چشمها و لب‌ها، برداشتن لوله تغذیه شکمی‌و لوله تنفس نای، اصلاح پیشانی، چشم‌ها، چانه و گوش‌ها،هاردیسون می‌تواند فعالیت‌هایی مانند شنا و رانندگی را که قبلا ناممکن می‌نمود، از سر بگیرد.

استفاده از ساختار استخوان صورت همراه با چانه اهدایی به سلول‌های بنیادی طبیعی مغز استخوان هاردیسون اجازه داد تا چهره پیوندی پس از جراحی، سریع‌تر و بهتر ترمیم شود. این اندام توسط یک دوچرخه‌سوار ۲۶ ساله آمریکایی اهدا شده که در اثر حادثه دوچرخه‌سواری جان خود را از دست داده بود.

پاتریک‌هاردیسون درباره عمل جراحی گفته است: "آنها چیزی بیش از یک چهره جدید و یک زندگی جدید به من اهدا کرده‌اند."

منبع: در مجله Plastic and Reconstructive Surgery مقالات دکتر Eduardo D. Rodriguez به تفصیل بخش‌های مختلف عمل توضیح داده شده است.

همایش‌های پیش‌رو

هفدهمین کنگره بین المللی
میکروب شناسی ایران
دانشکده پزشکی ،دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲ تا ۴ شهریور ۱۳۹۵ ،تهران ،ایران
تشخیص و تایپینگ- اپیدمیولوژی بیماری های عفونی
مکانیسم های بیماری زایی در بیماری های عفونی
بیماری های خودایمن و عفونت های باکتریایی
اعتبار بخشی درآزمایشگاه میکروب شناسی
میکروب شناسی غذایی- آب و فاضلاب
زئونوزها و میکروب شناسی دامپزشکی
بیماری های عفونی نوپدید و بازپدید
مقاومت آنتی بیوتیکی
بیونکنولوژی میکروبی
عفونت های بیمارستانی
واکسن های میکروبی
میکروب شناسی بالینی
Tel:+98-21-88632456
E-mail:congress@ismcongress.ir
Website:http://ismcongress.ir

ROYAN

International Twin Congress

Aug 31 - Sept 2,2016-Tehran,Iran

12th Congress on Stem Cell Biology & Technology

- Stem Cell Technology
- Regenerative Medicine
- Personalized Medicine
- iPS Cell Technology
- Disease Modeling
- ATMPs
- Stem Cell Based Cell Therapy
- Tissue Engineering
- Cancer Stem Cell

17th Congress on Reproductive Biomedicine

- Embryology
- Andrology
- Infertility & ART
- Reproductive health & epidemiology
- Reproductive physiology & immunology
- Reproductive imaging
- Reproductive genetics & PGD
- Menopause
- Ethics
- Animal biotechnology

Abstract Submission:
Dedline is May 10th ,2016
Please submit your abstracts online via www.royancongress.com
Abstracts received by email, fax or on paper will be ignored.

Workshops:
There will be some theoretical, practical and hands-on workshops beside the congress, which will be announced in details at congress website.

Social Programs:
Iran is a country famous for its ancient history, cultural heritage and enormous tourism resources. Every year, we arrange pre and post congress tours to some historical cities of Iran like Isfahan, Shiraz, Yazd and Kashan, which give the participants the opportunity to see the beauty of Iran's unique landscape.

Registration:
Registration will be online through congress website.

Visit IRAN, Ancient Country, Rich History & Cultural Heritage

Congress Secretariat: P.O. Box: 16635-148, Tehran, Iran
Phone: +98(21)23562757 Fax: +98(21)23562178
Email: info@royancongress.com Website: www.royancongress.com

International Conference on

Medicine, Public Health and Biological Sciences

MPHBS - 2016

کنگره بین المللی
علوم پزشکی،
بهداشت عمومی و علوم زیستی

3 - 4 September, 2016
Tehran - Iran

Topics:

- Stem-cell Therapy — سلول های بنیادی
- Nanobiotechnology — نانوبیوتکنولوژی
- Biological Sciences — علوم زیستی
- Paramedical Medicine — پیراپزشکی
- Rehabilitation Medicine — توانبخشی
- Laboratory Sciences — علوم آزمایشگاهی
- Cognitive Neuroscience — اعصاب شناختی
- Basic Science and Clinical Medicine — علوم پایه و بالین پزشکی

Best Presentations Award

Best Papers Award

Best Posters Award

Conference Homepage:
http://casrp.co.uk/conferences/index.php/MPHBS/MPHBS
Email: MPHBS@casrp.co.uk

Executive secretariat: Physiology research center of Semnan university of medical sciences, the 5th KM of Damghan road.
Tell: 02333654207 and 09120734654

Important Dates:
Abstract Submission: December 15, 2015
Decision on abstract Acceptance: April 30, 2016
Registration: 30 August, 2016
Congress: 3- 4 September, 2016

Sponsored by: CASRP Publishing Company
72, High Street, Haslemere, Surrey, GU272-LA, UK.

آدرس : تهران – خیابان جلال آل احمد – پل نصر – دانشگاه تربیت مدرس – دانشکده پزشکی شماره ۳

گروه بیوتکنولوژی پزشکی