

عنوان مقاله:

طراحی و ساخت زیست حسگر الکتروشیمیایی مبتنی بر فتوپروتئین آکوئورین به منظور رصد یون کلسیم

محل انتشار:

ششمین کنگره عناصر کمیاب ایران (سال: 1398)

تعداد صفحات اصل مقاله: 1

نویسندگان:

میلاذ امیری - دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تحقیقات تهران، ایران، تهران

امید طبائی - انستیتو الکتروشیمی دانشگاه تهران، ایران، تهران

مهرناز ابراهیمی - انستیتو الکتروشیمی دانشگاه تهران، ایران، تهران

هانیه جعفری - دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تحقیقات تهران، ایران، تهران

رضا حسن ساجدی - دانشکده علوم زیستی، گروه بیوشیمی دانشگاه تربیت مدرس، ایران، تهران

پرویز نوروزی - انستیتو الکتروشیمی دانشگاه تهران، ایران، تهران

خلاصه مقاله:

یون کلسیم در مسیرهای انتقال پیام، انقباض ماهیچه، فرایند لقاح، آپوپتوز، متابولیسم سلولی و انعقاد خون نقش داشته و برای برخی از آنزیمها به عنوان کوفاکتور عمل میکند. با توجه به اهمیت این یون، رصد و دنبال کردن تغییرات غلظت و جریان آن در سلول و مایعات بیولوژیکی میتواند درک درستی از فیزیولوژی و عملکرد سلول در پاسخ به عوامل مختلف را ارائه دهد، همچنین در صنعت و مهندسی آب اندازه گیری یون کلسیم بسیار حائز اهمیت میباشد زیرا یکی از شاخص های سختی آب یون کلسیم می باشد. از اینرو از روشهای مختلفی برای اندازه گیری کلسیم از جمله روش رنگ سنجی، استفاده از پروب اختصاصی فلورسانس، نشر بیولومینسانس فتوپروتئینهای وابسته به کلسیم و الکتروود حساس به کلسیم (calcium ion-selective electrode) استفاده میشود. با توجه به اینکه فتوپروتئین آکوئورین در ساختار خود دارای 4 موتیف EF-hand میباشد که 3 تا از آنها جایگاه اتصال اختصاصی به یون کلسیم را فراهم می نمایند، Bioreceptor کلسیم در بیوسنسور مورد مطالعه ما میباشد. در این پژوهش توالی کدکننده فتوپروتئین آکوئورین در pET28a که از قبل کلون شده بود به روش شیمیایی به میزبان E. coli (سویه BL21 (DE3)) انتقال داده شد و بیان پروتئین با القای IPTG صورت گرفت و با استفاده از کروماتوگرافی تمایلی نیکل خالصسازی و سپس دیالیز در غظت بهینه EDTA انجام شد. به منظور ساخت بیوسنسور الکتروشیمیایی، الکتروود طلا به روش شیمیایی و اعمال ولتامتری چرخهای تمیز شد. سپس به منظور تشکیل SAM (self-assemble monolayer) از (MUA/MPA) مرکاپتوپروپیونیک اسید/مرکاپتودکانوئیک اسید با نسبت حجمی (7,3) استفاده شد. برای فعال کردن گروه های کربوکسیلیک اسید مرحلهی قبل از واکنش (EDC/NHS) دی متیل آمینو پروپیل n اتیل کربودی آمید/ن-هیدروکسی سوکسینیمید به ترتیب با غلظتهای 0,4 و 0,1 مولار به مدت 1 ساعت استفاده شد و در ادامه مرحله تثبیت فتوپروتئین بر روی سطح الکتروود صورت گرفت. برای پوشش و انسداد نقاط فعال نشده از 1% BSA استفاده گردید. تمامی مراحل کار با استفاده از تکنیک ولتامتری چرخه ای که تغییرات سطح الکتروود را نشان میدهد ضبط گردید. برای رصد کردن یون کلسیم از غلظت 1 نانومولار CaCl₂ به روش لکه گذاری به مدت 30 دقیقه استفاده شد. کاهش پیک اکسید و احیا مربوط به ولتامتری چرخه ای نشاندهنده حس شدن و شناسایی زیستی یون کلسیم با این روش میباشد.

کلمات کلیدی:

فتوپروتئین های وابسته به کلسیم، آکوئورین، بیوسنسور الکتروشیمیایی، ولتامتری چرخه ای

