فصلنامه علمی-ترویجی پدافند غیرعامل

سال سوم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۱، (پیاپی ۱۲): صص ۱۱-۲۰

نانوبیوسنسورها؛ ابزاری برای تشخیص عوامل بیولوژیک در تهدیدات بیولوژیکی و بیوتروریستی

محمدابراهیم مینایی[۱]، مجتبی سعادتی[۲]، مصطفی نجفی[۳]، حسین هنری[۳]، شهرام نظریان[۴]

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۸/۲۲
تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۰۴

چکیده

کشف و سنجش و آشکارسازی عوامل بیولوژیک نسبت به سایر تهدیدات نامتعارف، بسیار دشوار است. روش‌های تشخیص کنونی عوامل بیولوژیک دارای معایب مختلفی هستند و تنها با یک روش تشخیصی، نمی‌توان نتیجه قطعی و حتمی گرفت. کشورهای مختلف بر روی روش‌های تشخیص ژنومی متمرکز شده‌اند و همچنین به دنبال روش‌های تشخیصی جدیدی برای برطرف کردن چالش‌های موجود می‌باشند. یکی از روش‌هایی که برای تشخیص عوامل بیولوژیک کاربرد دارد و در حال حاضر مطالعات و تحقیقات وسیعی در این زمینه در حال انجام است به‌کارگیری فناوری نانوبیوسنسورها می‌باشد.

ریزحسگرهای زیستی یا نانوبیوسنسورها، یکی از پیشرفت‌های اخیر علم بیوتکنولوژی هستند که به نظر می‌رسد طی چند سال اخیر مطالعات و تحقیقات وسیعی در این زمینه انجام شده است. نانوبیوسنسورها سیستم‌های اندازه‌گیری بسیار دقیق، حساس و اختصاصی می‌باشند. نانوحسگرهای زیستی قابلیت‌هایی دارند که با بهره‌گیری از ویژگی عمل و خصوصیات ماده بیولوژیک خود یک ترکیب یا گروهی از ترکیبات مشابه را شناسایی و با آنها برهم‌کنش نموده و نتیجه را به‌صورت یک پیام الکتریکی گزارش می‌کنند. این پیام همواره با غلظت ترکیب مورد سنجش دارای تناسب کمی است. این ابزارها در گستره وسیعی از کاربردهای آنالیتیکی نظیر تشخیص‌های پزشکی و علوم آزمایشگاهی، کنترل‌های زیست محیطی، کنترل فرآیندهای صنعتی و سرانجام هشداردهنده‌های ایمنی و دفاعی کارآیی دارند.

در این مطالعه، بر روی نانوحسگرهای DNA که به تازگی توسعه یافته و در کلاس‌های مختلف ساخته شده‌اند، در زمینه اصلاح سطوح الکترود با به‌کارگیری روش طیف‌سنجی امپدانس به‌عنوان یک ابزار تشخیص، متمرکز شده و فناوری نانوبیوسنسور را برای شناسایی عوامل بیولوژیک بر اساس هیبریداسیون DNA به‌عنوان آنالیت هدف و روش‌های الکتروشیمیایی را به‌عنوان یک ابزار تشخیص، مورد مطالعه قرار خواهیم داد.

کلیدواژه‌ها: تشخیص عوامل بیولوژیک، نانوبیوسنسور، آشکارسازی عوامل بیولوژیک

۱- دانشجوی دکترای نانو بیو تکنولوژی دانشگاه جامع امام حسین(ع) - نویسنده مسئول
۲- استاد و عضو هیئت دانشگاه جامع امام حسین(ع)
۳- دانشیار و عضو هیئت علمی دانشگاه جامع امام حسین(ع)
۴- دانشجوی دکترای میکروب‌شناسی دانشگاه شاهد

مقدمه

در عصر حاضر، تهدیدات استفاده از عوامل بیولوژیک با توجه به دست‌یابی انسان به فناوری مهندسی ژنتیک و نانوبیوتکنولوژی شکل دیگری به خود گرفته است. با نگاهی به پیشینه کاربرد عوامل بیولوژیک می‌توان اهمیت و نقش آنها را در نابودی و تعدیل نیروی انسانی، کشاورزی، اقتصادی، صنعتی و درمانی یادآور گردید. موفقیت در دفاع مقابل عوامل بیولوژیک و افزایش توان دفاعی در برابر به‌کارگیری این عوامل، مستلزم توجه به چهار اصل مهم شامل کشف و سنجش، رفع و دفع آلودگی، حفاظت و ایمنی، و امداد و درمان مصدومین است. توجه روزافزون به اهمیت تهدیدات بیولوژیک و افزایش احتمال به‌کارگیری این عوامل در جنگ‌ها، عملیات‌های تروریستی و تهاجم مخفیانه، ضرورت تشخیص سریع عوامل بیولوژیک را مطرح ساخته است. عدم تشخیص سریع عامل سبب می‌گردد که وقوع حمله پس از بروز عوارض عامل عفونی یا سمی مشخص گردد که در واقع تهاجم با موفقیت صورت گرفته است. در حالی که تشخیص سریع عوامل جنگ نوین، عبارت از آگاهی در زمان کوتاهی پس از وقوع حمله و قبل از مبتلا کردن (ناتوانی یا مرگ یا آلودگی اهداف مانند انسان‌ها، منابع آب، دام‌ها و محصولات کشاورزی و غذایی) می‌باشد[۱ و ۲].

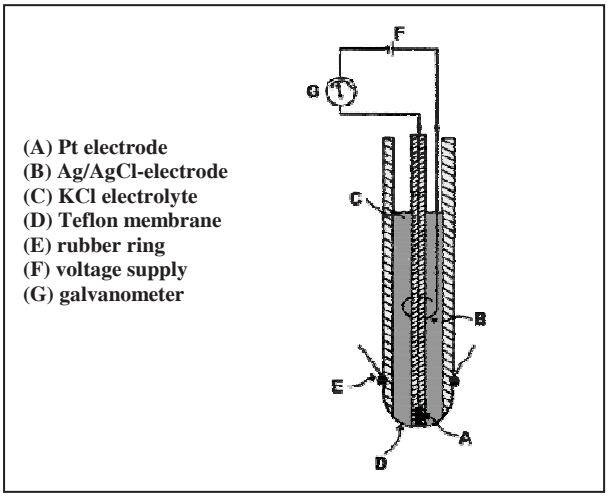
اولین اصل دفاع در برابر عوامل بیولوژیک، اجتناب از آلودگی است. اجتناب از آلودگی حملات و تهدیدات بیولوژیک، کلید اصلی دفاع و مقابله است. اگر چه پیشگیری همیشه امکان‌پذیر نیست، با این حال تمامی توجهات به دنبال راه‌هایی جهت کاهش تهدیدات هستند. اصل "اجتناب از آلودگی" به دو بخش "آشکارسازی، شناسایی و پایش" و "هشدار و گزارش‌دهی" تقسیم شده و فرآیند آشکارسازی نیز خود به سه بخش آشکارسازی نقطه‌ای، آشکارسازی دورایستا و آشکارسازی با کنترل از راه دور تقسیم می‌شود[۳ و ۴].

اصول اساسی کنترل حملات بیولوژیکی- بیوتروریستی بر شناسایی سریع و توانایی به موقع در ارائه خدمات بهداشتی- درمانی است و آگاهی از نوع و نحوه حمله بیولوژیک امکان مقابله با آن را فراهم می‌نماید. تشخیص اولیه وقوع حمله بیوتروریستی بسیار دشوار است؛ زیرا در تهدیدات بیولوژیک با موجودات زنده‌ای روبه‌رو هستیم که علاوه بر پیچیدگی مولکولی آنها نسبت به مواد شیمیایی، تمام فعالیت‌های حیاتی خود نظیر حرکت، رشد و نمو، تکثیر و تولید مثل، تغذیه، جهش و... را به تنهایی انجام می‌دهند و از طرف دیگر با حواس پنجگانه انسان مانند چشم (چشم غیر مسلح)، بویایی، چشایی و... قابل تشخیص نیستند و گسترش بیماری و قدرت انتشار آن به حدی سریع است که تا زمان تشخیص و شناسایی گسترش زیادی پیدا می کند. در صورتی که امکان تشخیص سریع و به‌موقع حملات بیولوژیک یا بیوتروریستی وجود داشته باشد با طراحی روش مناسب حفاظتی و درمانی می‌توان از شیوع بیماری عفونی به‌طور گسترده جلوگیری نمود. تقریباً تمامی کشورهای جهان به‌نوعی به‌دنبال کسب آمادگی برای مقابله با حملات بیولوژیکی می‌باشند[۲ و ۵].

با توجه به پیشرفت فناوری و به‌کارگیری تسلیحات مدرن و هوشمند در جنگ‌های امروزی و ماهیت پیچیده‌تر و مخرب‌تر آنها، انجام اقدامات دفاع غیرعامل در جهت مقابله با تهاجمات خصمانه و تقلیل خسارت ناشی از تهدیدات بیولوژیک، موضوعی بنیادی است. روش شناسایی متعارف عوامل بیولوژیک شامل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR[1])، کشت و شمارش کلنی، تکنیک‌های ایمنی و سنجش مبتنی بر فلورسانس با استفاده از مولکول های رنگی آلی می‌باشد. اما این روش‌ها دشوار، پیچیده و وقت‌گیر هستند و برخی از آنها ویژگی لازم برای ردیابی هدف را ندارند. در حال حاضر، آشکارسازی عوامل جنگ نوین در زمان واقعی و دورایستا، یک ابزار کلیدی برای دفاع و امنیت است. در بین چندین فناوری توسعه‌یافته در زمینه این چالش، هیچ‌یک لزوماً و به‌تنهایی قادر به شناسایی مؤثر این تهدیدات نیستند[۶].

تاریخچه حسگرهای زیستی یا بیوسنسورها

دانشمندی به نام لی‌لند کلارک[2] (۱۹۵۶) در بیمارستان تحقیقات کودکان یک الکترود اندازه‌گیری اکسیژن محلول در خون بیماران را طراحی کرد. او از یک الکترود استاندارد پلاتین و یک الکترود مرجع که به‌دور آن غشاء پلاستیکی تراوا نسبت به گاز پیچیده بود استفاده کرد. او میزان ولتاژ الکترود پلاتین را طوری تنظیم کرد که میزان جریان مدار، به‌میزان نفوذ اکسیژن از غشاء بستگی داشته باشد. مقدار این نفوذ به‌طور مستقیم متناسب با غلظت اکسیژن محلول است.



شکل ۱- الکترود اندازه‌گیری اکسیژن محلول در خون کلارک[۷]

1- Polymerase Chain Reaction
2- Leland Clark

در سال ۱۹۶۲، کلارک الکترود اکسیژن را بـه الکتـرود انـدازه‌گیـری گلوکز تبدیل نمود ولی سنـسور اکـسیژن را بـا لایـه‌هـایی از ژل کـه حاوی آنزیم گلوکز اکسیداز بود پوشانید و روی آن یک غـشاء دیـالیز نیمه‌تراوا قرار داد. این غشاء نیمه‌تراوا اجازه ورود گلوکز به سنـسور را می‌داد و از خارج شدن آنـزیم جلـوگیری مـی‌کـرد. همچنـین غـشاء مذکور مانع از ورود آنزیم‌هایی که گلوکز اکسیداز را تجزیه می‌کننـد، می‌شد. هر چه گلوکز بیـشتری وارد سنـسور مـی‌شـد، امـا اکـسیژن بیشتری توسط آنزیم (به‌واسطه اکسیداسیون گلوکز) مصرف می‌شـد. بدین ترتیب مقدار کاهش اکسیژن محلول نشان‌دهنده مقـدار گلـوکز محلول بود. به‌دلیل اینکه صحت ایـن روش انـدازه‌گیـری گلـوکز، بـه مقدار زیادی به میزان انتـشار گلـوکز و اکـسیژن بـه داخـل سنـسور وابسته بود و این میزان تحـت تـأثیر مقـدار اکـسیژن خـون بیمـار و تشکیل لخته روی سطح سنسور تغییر می‌کرد، هرگز از روش کلارک به‌عنوان یک روش معمول کلینیکی استفاده نشد. با ایـن حـال، ایـن روش یک مفهوم پایه برای کارهای بعـدی کـلارک و دیگـران، یعنـی سـاخت سیـستم‌هـای بیولوژیـک حـساس بـه یـک مـاده خـاص (بیوسنسورها) را به‌وجود آورد[۷].

مهم‌ترین ابتکار بعدی، ساخت سیـستمی بـرای انـدازه‌گیـری اوره در مایعات بدن بود که توسط گویلبوت[1] ساخته شد. در این روش، وی از آنزیم اوره آز استفاده کرد (آنزیمی‌کـه اوره را بـه دی‌اکـسید کـربن و آمونیاک تبدیل می‌کند)[۸].

پیـشرفت‌هـای بعـدی بیوسنـسورهـا بـا اسـتفاده از تکنیـک‌هـای ایمونولوژیک، امکان عملکرد اختصاصی بالایی را فـراهم کـرده اسـت. ایـن عملکـرد اختـصاصی کـه از طریـق شناسـایی آنتـی‌ژن توسـط آنتی‌بادی انجـام مـی‌پـذیرد، بـسیاری از فنـاوری‌هـای سنـسورهـای بیولوژیـک و شـیمیایی را دگرگـون سـاخته اسـت. در سـنجش‌هـای آنزیمی الکتروشیمیایی، به‌طور معمول یک آنتی‌ژن یا آنتـی‌بـادی بـه یـک آنـزیم چـسبانده مـی‌شـود و واکـنش آنزیمـی توسـط یـک الکتروپتانسیومتریک یا آمپرومتریک نشان داده می‌شود. آنتی‌بادی‌هـا روی الکترودهای سطحی از جنس کربن تثبیت می‌شوند و برای به‌دام انداختن آنتی‌ژن‌ها در محلول مورد آزمـایش بـه‌کـار مـی‌رونـد. ایـن الکترودهای کربنی، یکبار مصرف و قابل تعویض می‌باشـند. در پایـان پس از افزودن سوبسترای آنزیم، فعالیت واکنش به روش آمپرومتریک سـنجیده مـی‌شـود. بـا اسـتفاده از یـک سیـستم الکتروشـیمیایی کامپیوتری، حساسیت بـسیار بـالاتری بـرای ایـن سیـستم بـه‌دسـت می‌آید[۹].

مطالعات اخیر در مورد بیوسنسورها، که باعث پیشرفت‌های شگرف در این حوزه شده، تثبیت پروب DNA بر روی سطح الکترود طلا بود که یک لایه با مقیاس نانو روی سطح ایجاد می‌کنـد. الکتـرودهـای طـلا برای اولـین بـار بـا اسـتفاده از DNA توسـط روش Herne و Tarlov اصلاح شده است[۱۰].

ساختار بیوسنسورها، از حسگرهای زیستی کـه در موجـودات زنـده و طبیعت وجود دارند الگوبرداری شده است. بینی توسط غشاء بویـایی (معادل غشاء بیولوژیک در حسگرها) بو را دریافـت مـی‌کنـد. سـپس پاسخ غشاء بویایی توسط سلول‌های عصب بویایی تبـدیل بـه علامـت الکتریکی شده و سراسر رشـته عـصبی را پیمـوده و جهـت تجزیـه و تحلیل به مغز می‌رسد. مغز به‌عنوان یک ریزپردازشگر عمـل نمـوده و علامت الکتریکی فوق را به ادراک (بو) مبدل می‌کند.

مبانی و اصول نانوبیوسنسورها

فنـاوری نانوبیوسنـسور در حقیقـت نـشان‌دهنـده ترکیبـی از علـوم بیوشیمی، بیولوژی مولکولی، شیمی، فیزیک، الکترونیـک و کـامپیوتر است. یک نانوبیوسنسور شامل یک حسگر کوچک و مـاده بیولوژیـک تثبیت شده بر آن می‌باشد. از آنجا که نانوبیوسنسورها ابزاری توانمند جهت شناسایی مولکول‌های زیستی می‌باشند، امروزه از آنها در علـوم مختلف پزشکی، صنایع شیمیایی، صنایع غذایی، مانیتورینگ محـیط زیست، تولید محصولات دارویی، بهداشتی و غیـره بهـره مـی‌گیرنـد. نانوبیوسنسورها ابزارهای آنالیتیکی به‌شمار می‌روند که مـی‌تواننـد بـا بهره‌گیـری از هوشـمندی مـواد بیولوژیـک، ترکیـب یـا ترکیبـاتی را شناسایی نموده، بـا آنهـا واکـنش دهنـد و بـدین ترتیـب یـک پیـام شیمیایی، نوری و یا الکتریکی ایجاد نمایند. همانگونه که ذکر گردید، اساس کار یک بیوسنسور، تبدیل واکنش بیولوژیکی به یک پیام است. نانوبیوسنسورها از سه بخش: ۱) بیورسـپتور یـا پذیرنـده زیـستی، ۲) مبدل و ۳) آشکارساز تشکیل شده‌اند[۱۱ و ۱۲].

بیورسپتورهایی که در بیوسنسورهـا مـورد اسـتفاده قـرار مـی‌گیرنـد عبارت‌اند از: ۱. آنزیم ۲. آنتی‌بادی ۳. گیرنده‌های سلولی ۴. اسیدهای نوکلئیک DNA یا RNA ۵. میکرو ارگانیسم یا سلول کامـل ۶. بافـت ۷. گیرنده‌های سنتتیک [۱۱ و ۱۲].

در این سیستم‌ها، تغییرات فیزیکی و شیمیایی در سطح بیورسپتور صورت گرفته و به انرژی قابل اندازه‌گیری تبدیل و توسط مبدل نشان داده می‌شود. همچنین هدایت سیگنال‌های فرستاده‌شده از مبدل به میکروپروسسور، تقویت، تجزیه‌وتحلیل و در نهایت، تبدیل آن به واحد غلظت توسط آشکارساز انجام می‌گیرد. انواع متداول مبدل‌های مورد استفاده در بیوسنسورها شامل: ۱) الکتروشیمیایی، ۲) نوری (لومینسانس، جذب و تشدید پلاسمون سطح)، ۳) حساس به تغییر جرم و ۴) حرارتی می‌باشند[۱۱ و ۱۲].

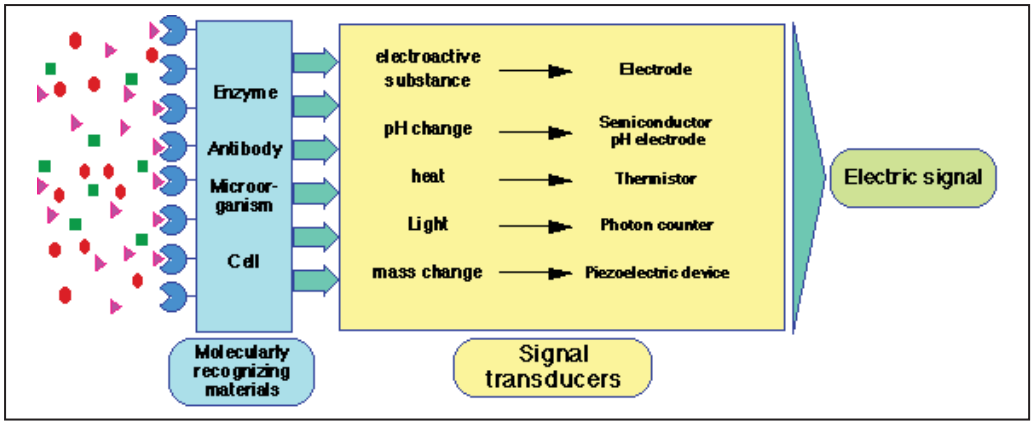
به عبارتی دیگر، یک بیوسنسور شامل یک سیستم بیولوژیکی تثبیـت شده است که در حضور آنالیت مورد اندازه‌گیری باعث تغییـر خـواص محیط اطراف می‌شود. وسیله اندازه‌گیری که به این تغییرات حـساس است، سیگنالی متناسب با میزان و یا نوع تغییرات تولید می‌نماید که متعاقباً به سیگنالی قابل فهم برای دستگاه‌هـای الکترونیکـی تبـدیل

1- Guil Baut

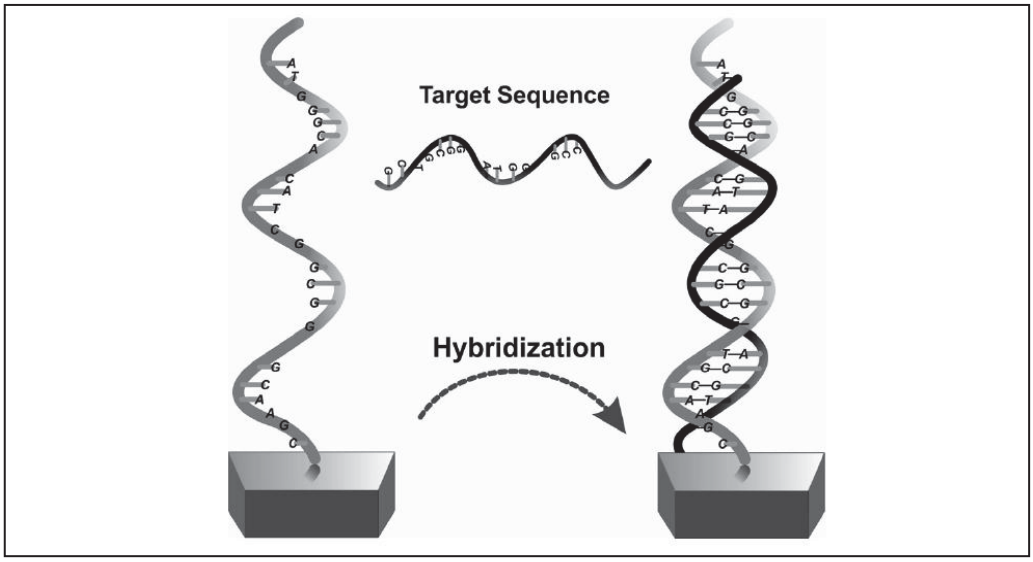
می‌گردد. اختصاصی بودن و قدرت شناسایی یک آنالیت از میان دیگر آنالیت‌های موجود در نمونه مورد آزمایش، از ویژگی‌های یک بیوسنسور می‌باشد. قابلیت انتخاب یک بیوسنسور، توسط بخش پذیرنده و مبدل آن تعیین می‌شود (شکل ۲) [۱۳].

در بین بیورسپتورها، DNA برای تشخیص زیستی با توجه به پتانسیل فوق‌العاده شناسایی مولکولی آن، بسیار مناسب است. حسگرهای زیستی DNA، از اتصال ترجیحی مکمل تک‌رشته توالی اسید نوکلئیک بهره می‌برند. این سیستم معمولا به ثابت کردن پروب DNA تک‌رشته‌ای (ssDNA) روی یک سطح برای تشخیص توالی هدف DNAی مکمل خود از طریق هیبریداسیون (شکل ۳) متکی است[۱۴].

راهنماهای مولکولی[1] (MBs)، پروب‌های تک‌رشته‌ای اسید نوکلئیک هستند که دارای سه دامنه عملکردی (ساقه، حلقه، و یک جفت fluorophore/quencher) می‌باشند. بسته به حالت شکل فضایی راهنماهای مولکولی (MBs)، جفت‌های fluorophore/quencher و عوامل سیگنال‌دهنده، سیگنال‌های خاموش/ روشن تولید می‌کنند. راهنماهای مولکولی (MBs)، به‌طور گسترده در تجزیه‌وتحلیل فلورومتری[2] اسیدهای نوکلئیک استفاده می‌شوند [۱۵]. با انجام تحقیقات مختلف، پروب راهنماهای مولکولی (MBs) با مفهومی جدید توسعه یافته‌اند که از جمله، طرح‌های اخیر راهنماهای مولکولی (MBs) بدون quencher می‌باشند. در حالت ایده‌آل، ساختار راهنمای مولکولی (MB) شامل ۴-۷ جفت باز (bp) در منطقه ساقه و ۱۵-۲۵ جفت باز در منطقه حلقه با fluorophore (رنگ‌دهنده) در انتهای ´۵ و یک مولکول quencher (که ممکن است فلورسنت باشد یا نباشد) در انتهای ´۳ می‌باشد. توالی نوکلئوتیدی در منطقه حلقه با توالی هدف DNAی مورد نظر مکمل است [۱۵].



شکل ۲- اجزای اصلی بیوسنسورها: از سه بخش ۱) بیورسپتور یا پذیرنده زیستی ۲) مبدل و ۳) آشکارساز تشکیل شده‌اند



شکل ۳- نانوبیورسپتور بر اساس هیبرید DNA/DNA [۱۵]

1- Molecular Beacons (MBs)
2- Fluorometric

به‌تازگی، یک پروب سنجاق سرنشاندار تک‌رشته به‌عنوان یک ابزار تشخیصی موثر در زیست‌شناسی مولکولی، شبیه به راهنماهای مولکولی (MBs) متعارف، مطالعه شده است. هنگامی که یک رنگ دهنده (fluorophore) در حالت برانگیختگی است، انرژی آن از طریق مکانیزم اتصال دو قطبی- دو قطبی دور برد غیر تابشی به پذیرنده quencher نزدیک (معمولا کمتر از ۱۰ نانومتر) از طریق انتقال انرژی رزونانس فلورسانس، منتقل می‌شود. در مقابل، سیگنال فلورسانس زمانی که quencher در فاصله دور است، تولید می‌شود. ساقه‌ها به‌صورت مکمل برای حفظ ساختارهای سنجاق سربسته‌شده عمل می‌کنند و موجب می‌شوند که quencher در نزدیکی fluorophore با فاصله چند نانومتر بدون هیبریدیزاسیون با اهداف مکمل قرار گیرند. بنابراین، quencher فلورسانس را با بازده بالا از طریق انتقال انرژی رزونانس فلوئورسانس خاموش می‌کند (شکل ۴).

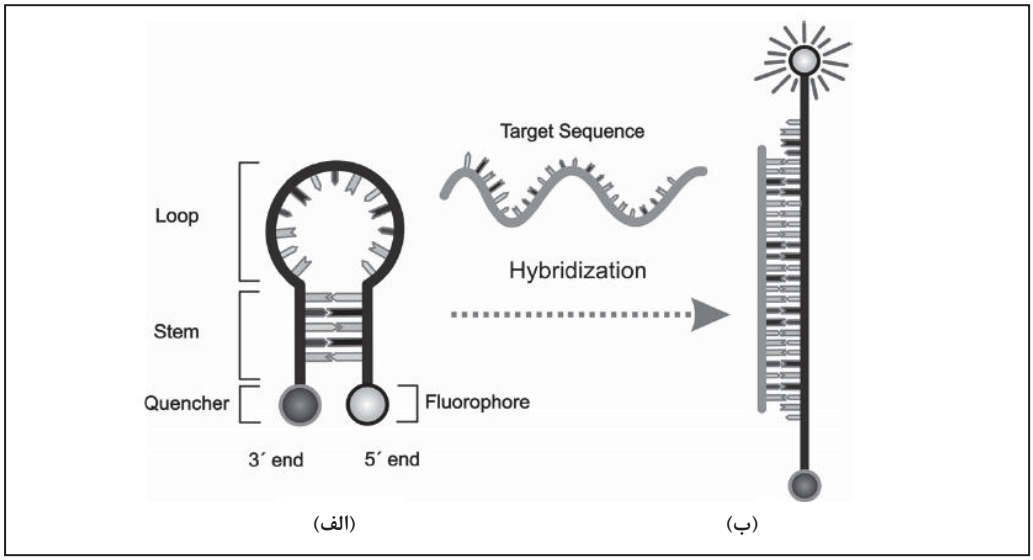
حلقه (Loop) عامل تشخیص است و می‌تواند بر اساس هیبریداسیون با هدف مکمل خود، یک تغییر کنفورماسیونی در راهنماهای مولکولی (MBs) ایجاد نماید. این تغییر، فاصله فیزیکی بین fluorophore و quencher را افزایش می‌دهد و در نتیجه، سیگنال فلورسانس ارائه می‌شود. مکانیزم سیگنال منحصر به‌فرد روشن/ خاموش در تشخیص اهداف DNA و RNA بسیار مفید است. راهنماهای مولکولی (MBs) نشاندار شده، با طیف گسترده‌ای از فلورسانس‌های رنگی متفاوت می‌توانند برای تشخیص همزمان با اهداف چندگانه در یک حلال استفاده شوند [۱۶].

تثبیت پروب‌های DNA بر روی الکترود طلا

توانایی بی‌حرکت کردن پروب‌های DNA بر روی لایه‌های طلا در تراکم مطلوب نسبت به سطح، به‌عنوان کلیدی در توسعه طیف گسترده‌ای از حسگرهای زیستی DNA می‌باشد. به‌منظور ساخت یک بیوسنسور پایدار، باید جزء بیولوژیکی به طرز خاصی به مبدل‌ها متصل گردد، به چنین فرآیندی تثبیت گفته می‌شود. برای انجام واکنش تثبیت، پنج روش زیر ارائه شده است[۱۷]:

- جذب سطحی[۱]
- ریزپوشینه‌سازی[۲]
- محبوس‌سازی[۳]
- پیوند عرضی[۴]
- پیوند کووالانسی[۵]

یکی از پیشرفت‌های مناسب انجام شده، به‌کارگیری تک‌لایه‌های خودتجمعی[۶] (SAMs) برای تثبیت مولکول‌های زیستی می‌باشد. SAMها به‌عنوان بسترهایی برای تثبیت بیوآنالیت‌ها و برای ساخت حسگرهای زیستی با کارایی بالا و زمان پاسخ کوتاه، جریان پس‌زمینه کاهش یافته و بهبود تکرارپذیری، مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این زمینه، تک‌لایه‌های خودتجمعی DNA تیوله در بسترهای طلا در طول سال‌های اخیر مورد توجه بیشتری قرار گرفته‌اند؛ چون این بسترها سطح DNA منظم‌تر با کنفورماسیون عمودی هم‌تراز به سطح الکترود را نشان داده اند. از آنجا که رشته‌های DNA دارای بار منفی هستند، کاتیون‌های چند ظرفیتی می‌توانند به لحاظ الکترواستاتیکی در صفحه DNA به دام بیفتند. علاوه‌بر این، مشخص شده که طلای تیوله در حرارت دامنه جذب در ده‌ها کیلوکالری بر مول کاملا پایدار است. تثبیت DNAی در سطح، نقش مهمی در عملکرد نانو حسگر DNA دارد[۱۸- ۲۰].



شکل ۴- الف) حالت سنجاق سر راهنمای مولکولی با زوج fluorophore/quencher، ب) هیبرید پروب با DNAی هدف [۱۵]

1- Adsorption
2- Microencapsulating
3- Entrapment
4- Cross Linking
5- Covalent Bond
6- Self Assembled Monolayers (SAMs)

یکی از نکاتی که در ساخت نانوبیوسنسورها باید مورد توجه قرار گیرد، تراکم سطحی DNA بر روی الکترود است. تراکم پروب در سطح برای به‌دست آوردن حداکثر درصد تغییر در مقاومت انتقال شارژ با هیبریداسیون بهینه‌سازی شده است. بالاتر از آستانه تراکم پروب سطحی $۲/۵\times۱۰^{۱۲}$ پروب در هر سانتی‌متر مربع، دافعه الکترواستاتیک از DNAهای دارای بار منفی، مقاومت انتقال شارژ را تعدیل می‌کند و اجازه می‌دهد تا هیبریداسیون شناسایی شود. در زیرتراکم آستانه هیچ تغییری در مقاومت انتقال شارژ با تراکم پروب یا با هیبریداسیون رخ نمی‌دهد[۲۱].

در مطالعات انجام شده، مرکاپتوهگزانول[1]، نه تنها به «ایستادن»[2] اولیگونوکلئوتیدهای DNA در سطح کمک می‌کند، بلکه موجب پیکربندی هیبریداسیون DNA نیز شده و همچنین مانع جذب غیر اختصاصی مولکول‌های DNAی ناخواسته می‌شود[۲۲]. سنسورهای DNAی الکتروشیمیایی بر اساس SH-DNA/MCH قادرند تا اهداف DNA با ویژگی توالی بالا در نمونه DNAی خالص را شناسایی کنند[۲۳]. پارک[3] و همکارانش (۲۰۰۴) گزارش داده‌اند که کونفورماسیون اولیگونوکلئوتیدهای تیوله بر روی سطح طلا را می‌توان با تیمار MCH کنترل نمود[۲۴]. MCH جذب بر اساس پیوند غیر کووالانسی به سطح را جابجا می‌کند و کانفورماسیون اولیگونوکلئوتید بر روی سطح طلا را تغییر می‌دهد[۲۵]. بسیاری از مطالعات، تأثیر غلظت MCH و زمان واکنش بر توانایی هیبریداسیون Au-DNA که به‌تازگی گزارش شده است، نشان می‌دهد که جذب غیر اختصاصی اولیگونوکلئوتید بر روی سطح طلا کاهش یافته است[۲۴]. در این زمینه، لی[4] و همکارانش (۲۰۰۶) نشان دادند که جذب شیمیایی مرکاپتوهگزانول روی سطح طلای اصلاح‌شده HS-ssDNA منجر به جهت‌گیری مجدد اولیگومرها در موقعیت درست‌تر و در نتیجه، افزایش پاسخ می‌شود[۲۶]. به‌تازگی گزارش شده است که تراشه‌های DNA بر اساس آرایه‌های پروب DNAی محدودشده به سطح، نقش مهمی در توسعه توالی DNA و فناوری‌های نقشه‌برداری ژن، برنامه‌های کاربردی و بالینی پزشکی قانونی دارند[۲۷].

انتخاب مبدل مناسب

به‌طور کلی، حسگرهای زیستی مبتنی بر جفت شدن یک عامل مشخص بیولوژیکی به همراه یک مبدل فیزیکی، برای تبدیل اطلاعات بیولوژیکی به یک سیگنال قابل تشخیص، متناسب با غلظت آنالیت‌ها می‌باشند. سیگنال ممکن است به علت تغییرات به‌وجود آمده نظیر تغییر در غلظت پروتون، انتشار و یا جذب گازها (به‌عنوان مثال، آمونیاک یا اکسیژن)، جذب یا انعکاس تابش نور، انتشار گرما و تغییرات جرم تولید شود[۱۵].

در گزارشات مختلف، هیبریداسیون DNA با استفاده از تکنیک‌ها و دستگاه‌های متفاوت بررسی شده است [۲۸]. با این حال، آزمایشات ژنتیکی نیازمند توسعه آسان، سریع و دستگاه‌های ارزان برای گزارش رویداد هیبریداسیون می‌باشند. با مطالعات انجام‌شده در بین انواع مبدل‌ها، حسگرهای زیستی برپایه الکتروشیمیایی، برای هیبریداسیون DNA مناسب هستند و مبدل‌های الکتروشیمیایی، برای تشخیص رویداد هیبریداسیون مورد استفاده قرار گرفته‌اند. حساسیت بالای دستگاه ابزار مبدل الکتروشیمیایی و توانایی‌های بالقوه آن برای حداقل برق مورد نیاز، آنها را برای تولید در مقیاس بزرگ برای این کاربرد برتری داده است[۲۹].

حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی به خاطر این که هدایت الکتروشیمیایی تشخیص سریع، ساده و کم‌هزینه برای توالی اسید نوکلئیک خاص دارند، مزایای بیشتری نسبت به بسیاری از دستگاه‌های موجود بر اساس طرح‌های نوری دارند، [۳۰]. از این‌رو، حسگر زیستی الکتروشیمیایی هیبریداسیون DNA با حد تشخیص پایین و حساسیت بالا برای تشخیص توالی DNAی خاص بسیار مطلوب است [۳۱ و ۳۲].

در حال حاضر، دو تکنیک اصلی، بالقوه هیبریداسیون DNAی پروب-هدف را نشان می‌دهند: ۱) رزونانس پلاسمون سطحی (SPR) [۳۳] و ۲) طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) [۳۴]. پیش از این، طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) برای تشخیص هیبریداسیون رشته‌های DNAی هدف با پروب‌های DNAی چسبیده بر روی سطوح الماس و سیلیکون مطالعه شده است[۳۵ و ۳۶]. تشخیص الکتروشیمیایی فعل و انفعالات پروتئین‌ها توسط Jacquot و همکاران با استفاده از پذیرنده شیمیایی نورون سیلیکون-اکسید- فلز (CvMOS) بررسی شده است[۳۷]. گروه Willner روی اندازه‌گیری امپدانس برای سنجش DNA و سایر مولکول‌های زیستی نیز کار کرده است[۳۸ و ۳۹].

حسگرهای DNA براساس نانومواد

انواع نانومواد مانند نانوذرات، نانوسیم‌ها و نانولوله‌ها برای ساخت سنسورهای DNA استفاده می‌شوند. در این بخش، ما به‌طور خلاصه حسگر طیف سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) مبتنی بر DNAی ساخته شده با استفاده از نانومواد را بررسی می‌کنیم. نانوذرات فلزی برای افزایش سیگنال‌های امپدانس توسط افزایش تعداد مولکول‌های DNAی کاوشگر بی‌حرکت‌شده مورد استفاده قرار می‌گیرند. گروه Xu و Fang نشان دادند که نانوذرات CdS می‌توانند برای تقویت سیگنال در سنسورهای DNA بر اساس امپدانس استفاده شوند[۴۰]. DNAی هدف نشاندارشده با نانوذرات CdS با DNA

1- 6-Mercapto-1-hexanol (MCH)
2- “Stand” up
3- Park
4- Lee

پروب اصلاح‌شده آمین که به‌طور کووالانسی با تک‌لایه مرکاپتو استیک اسید در سطح طلا متصل شده، هیبرید می شود. ارزش RCT برای شاخص اکسیداسیون و کاهش $[Fe(CN6)]^{3-/4-}$ به‌طور قابل ملاحظه‌ای در هیبریداسیون هدف مکمل، به علت چگالی بالای شارژ منفی، بلوکه کردن فضا و خواص نیمه‌هادی نانوذرات CdS، افزایش می‌یابد که محدوده تشخیص را تا $۱/۴۳ \times ۱۰^{-۱۰}$ مولار کاهش می‌دهد. همچنین، نانوذرات طلای ته‌نشین‌شده بر روی الکترود طلا به‌عنوان یک پلت فرم برای تثبیت DNAی پروب تیوله‌شده استفاده شد[۴۱].

ابتکار استفاده از نانومواد در حسگرهای الکتروشیمیایی و بیوسنسورها قطعا مزایایی نظیر: کاهش پتانسیل بیش از حد بسیاری از واکنش‌های الکتروشیمیایی تحلیلی، حصول اطمینان از برگشت‌پذیری برخی از واکنش‌های رودکس - که در الکترودهای اصلاح نشده غیر قابل برگشت است - و یا فرصت‌های برچسب‌زنی جدید نظیر قابلیت‌های شناسایی چندتایی را ایجاد می‌کند. ذرات نانومتری دارای رفتار شیمیایی مشابه به مولکول‌های کوچک هستند و می‌توانند به‌عنوان برچسب‌های الکتروشیمیایی خاص مورد استفاده قرار گیرند[۴۲- ۴۴].

از مزایای استفاده از نانومواد در سنسورهای امپدانس می‌توان به: افزایش سطح منطقه سنسور، اتصال و هدایت الکتریکی بیشتر و دسترسی به مواد شیمیایی و الکتروکاتالیست‌ها اشاره کرد. نانوذرات فلزی می‌توانند برای افزایش مقدار مولکول‌های زیستی تثبیت‌شده بر روی الکترود مورد استفاده قرار گیرند. به‌دلیل گستره سطحی بسیار بالای آن، از طلای کلوئیدی برای افزایش تثبیت DNA روی الکترود طلا استفاده می‌شود تا حد تشخیص حسگر زیستی DNAی الکتروشیمیایی کاهش یابد[۴۵].

نتیجه‌گیری و بحث

با توجه به منازعات و درگیری‌های اخیر توسط کشورهای سلطه‌طلب از طرفی، و پیشرفت‌های بیوتکنولوژی در جهت به‌کارگیری عوامل بیولوژیک به‌عنوان یک سلاح از سوی دیگر، ضرورت ایجاد آمادگی برای دفاع و مقابله با تهدیدات بیولوژیک را بیشتر می‌کند. در این صورت، اقدامات پیش‌گیرنده و تشخیص و شناسایی سریع برای دفاع در برابر عوامل بیولوژیک، اهمیت زیادی پیدا می‌کند.

نانوبیوسنسورها سیستم‌های اندازه‌گیری بسیار دقیق، حساس و اختصاصی می‌باشند و وجود بیورسپتورهای کاملا اختصاصی، علت ویژگی‌های منحصر به‌فرد این سیستم‌های اندازه‌گیری می‌باشد. در حقیقت، اساس شناسایی و سنجش ترکیبات در این سیستم‌ها، اتصال ویژه آنالیت مورد اندازه‌گیری به سنسور توسط بیورسپتورها می‌باشد. اهمیت این اجزاء در عملکرد بسیار اختصاصی آنها نسبت به آنالیت خاصی است که بدین وسیله از مداخله مواد مزاحم که موجب عدم کارایی بسیاری از روش‌های اندازه‌گیری است، جلوگیری می‌کند. جزء بیولوژیک ممکن است واکنش سوبسترا را کاتالیز کند یا به‌طور انتخابی به سوبسترا متصل شود[۴۶ و ۴۷].

نانوحسگرهای زیستی معمولاً قابلیت‌هایی دارند که با بهره‌گیری از ویژگی عمل و خصوصیات ماده بیولوژیک خود، یک ترکیب یا گروهی از ترکیبات مشابه را شناسایی و با آنها برهم‌کنش نموده و نتیجه را به صورت یک پیام الکتریکی گزارش می‌کنند. این پیام همواره با غلظت ترکیب مورد سنجش، دارای تناسب کمیتی است. این ابزارها در گستره وسیعی از کاربردهای آنالیتیکی نظیر تشخیص‌های پزشکی و علوم آزمایشگاهی، کنترل‌های زیست محیطی، کنترل فرآیندهای صنعتی و سرانجام هشداردهنده‌های ایمنی و دفاعی کارآیی دارند. این روش‌ها همچنین می‌توانند در شناخت مکانیسم برخی بیماری‌ها و اختلالات، در امر تشخیص، درمان، عوارض آنها و شناسایی علل و زمینه‌های به‌وجود آورنده آنها و نیز در سایر علوم مرتبط نظیر داروسازی، سامانه‌های پیشرفته دارورسانی و شناسایی داروهای جدید و ارزیابی فعالیت بیولوژیک آنها فعالیّت نمایند [۴۸].

ریزحسگرهای زیستی یا نانوبیوسنسورها، یکی از پیشرفت‌های اخیر علم بیوتکنولوژی است که به نظر می‌رسد طی چند سال اخیر مطالعات و تحقیقات وسیعی در این زمینه انجام شده است. این تحولات با افزایش نیاز به ابزارهای اندازه‌گیری که بتواند به‌طور پیوسته تغییر فرآیندهای بیولوژیک را بررسی کند توأم شده است.

حسگر DNA بر اساس طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS)، دستگاهی است که تغییرات ایجادشده در خصوصیات بین الکترود و الکترولیت ناشی از هیبریداسیون DNA، تغییرات کنفورماسیونی، یا آسیب‌های DNA را به صورت یک سیگنال الکتریکی شناسایی می‌کند. در اکثر حسگرهای DNA، DNAی هدف را برای تشخیص باید با fluorophore، دانه‌های مغناطیسی، یا آنزیم‌ها برچسب‌دار (لیبل‌دار) کرد [۴۹ و ۵۰]. در مقابل، حسگرهای DNA بر اساس تشخیص EIS، بدون برچسب هستند[1] و بنابراین، دارای مزایایی از جمله، هزینه کم، سادگی، سهولت، دقت و حساسیت مطلوب و قابلیت کوچک‌سازی می‌باشند و از این‌رو به‌طور گسترده‌ای در تشخیص عوامل بیولوژیک مورد استفاده و توجه قرار گرفته‌اند[۵۰].

نانوبیوسنسورها می‌توانند جایگزین بسیار مناسب روش‌های سنتی تشخیص عوامل بیولوژیک باشند و یکی از نویدبخش‌ترین راه حل‌ها برای رفع مشکلات مربوط به: سادگی، سریع بودن، تکرارپذیری و کم‌هزینه بودن آشکارساز چند عاملی برای عوامل بیولوژیک باشند[۵۱]. بنابراین، نانوبیوسنسورها می‌توانند در تشخیص عوامل بیولوژیک بسیار مفید بوده و چالش‌های موجود در پیش روی آشکارسازی عوامل بیولوژیک را تا حد زیادی برطرف نمایند.

1- Label-Free

مراجع

۱. مینایی، محمدابراهیم؛ حسین‌زاده، مهدی؛ باقری‌پور، محمدجواد؛ تاثیر پدافند غیرعامل در حوزه پدافند جنگ نوین (NBC). فصلنامه پدافند غیرعامل. سال دوم، شماره سوم، ص ۴۶-۳۷. (**۱۳۹۰**).

۲. مینایی، محمدابراهیم؛ عوامل جنگ نوین ۲ (عوامل بیولوژیک)- مرکز برنامه‌ریزی و تألیف کتاب‌های درسی معاونت آموزش و نیروی انسانی ستاد مشترک سپاه. (**۱۳۸۷**).

3. Denirev Plamen A., Feldman Andrew B., Lin Jeffrey S., Chemical and Biological Weapons: Current Concepts for Future Defenses, Johns Hopkins APL Technical Digest, Volume 26; (**2005**).
4. Ko, H. W., "Countermeasures Against Chemical/ Biological Attacks in the Built Environment," Johns Hopkins APL/Tech. Dig. 24(4), 360–367; (**2003**).
5. Albert J. Mauroni, senior policy analyst working on military chemical and biological defense policy issues, A Counter-WMD Strategy for the Future, Parameters; (**2010**).
6. .Sanvicens N.,. Pastells C.,. Pascual N,. Marco M., Nanoparticle-basedbiosensors for detection of pathogenicbacteria, .TrAC Trends in Analytical Chemistry .Volume 28, Issue 11, Pages 1243–1252; (**2009**).
7. Clark L. C., The enzyme electrod, in A. P. F. Turner, I. Karube and G. S. Wilson (Eds), Biosensoers: Fundamentals and Application, Oxford University Press, Oxford, Chap. 1, pp. 3-12; (**1987**).
8. Guilbaut G. G., Montalvo J., J. Am. Chem. Soc., 91, 2164; (**1969**).
9. Bartlett P. N., and Caruana, Electrochemical immobilisation of enzmes. Part V. Microelectrodes for the detection of glucose oxidase immobilised in a poly (phenol) film, Analyst, 117, 1287; (**1992**).
10. Herne T. M, Tarlov M. J. Characterization of DNA probes immobilized on gold surfaces. J. Am. Chem. Soc. 119, 8916-8920; (**1997**).
11. Park J. Y, Park S. M. DNA Hybridization Sensors Based on Electrochemical Impedance Spectroscopy as a Detection Tool. Sensors. 9, 9513-9532; (**2009**).
12. Liu J, Cao Z, Lu Y. Functional nucleic acid sensors. Chem. Rev. 109, 1948-1998; (**2009**).
13. Carrascosa L. G, Moreno M, A´ lvarez M, Lechuga L. M. Nanomechanical biosensors: a new sensing tool. Trends in Analytical Chemistry. Vol. 25, No. 3; (**2006**).
14. A.Sassolas, B.D.Leca-Bouvier, L.J.Blum, DNA biosensors and microarrays.Chem.Rev. 108 109-139; (**2008**).
15. Ezzati J, Dolatabadi N, Mashinchian O, Ayoubi B, Jamali A. A, Mobed A, Losic D, Omidi Y, Guardia M, Optical and electrochemical DNA nanobiosensors. Trends in Analytical Chemistry. Vol. 30, No. 3; (**2011**).
16. Youngmi Kim, DoSung Sohn and Weihong Tan , Molecular Beacons in Biomedical Detection and Clinical Diagnosis, Int J Clin Exp Pathol 1, 105-116; (**2008**).
17. Vijayalakshmi Velusamy, Khalil Arshak, Catherine F. Yang, Lei Yu, Olga Korostynska, Catherine Adley, Comparison Between DNA Immobilization Techniques on a Redox Polymer Matrix, American Journal of Analytical Chemistry, 2, 392-400; (**2011**).
18. Martins, M.C.L., Fonseca, C., Barbosa, M.A., Ratner, B.D., Albumin adsorption on alkanethiols self-assembled monolayers on gold electrodes studied by chronopotentiometry. Biomaterials 24, 3697–3706; (**2003**).
19. Barrias, C.C., Martins, M.C.L., Sل Miranda, M.A.C., Barbosa, M.A., Adsorption of a therapeutic enzyme to self-assembled monolayers: effect of surface chemistry and solution pH on the amount and activity of adsorbed enzyme. Biomaterials 26, 2695–2704; (**2005**).
20. Onoe, H., Matsumoto, K., Shimoyama, I.J., Member associate IEEE Three dimentional micro-self-assembly using hydrophobic interaction controlled by self-assembled monolayers. Microelectromech. Syst. 13, 6003–6011; (**2004**).
21. Renu Singh, G. Sumana, Rachna Verma, Seema Sood, M.K. Pandey, Rajinder K. Gupta, B.D. Malhotra, DNA biosensor for detection of Neisseria gonorrhoeae causing sexually transmitted disease, Journal of Biotechnology 150 357–365; (**2010**).
22. Steel, A.B., Levicky, R.L., Herne, T.M., Tarlov, M.J., Immobilization of nucleic acids at solid surfaces: effect of oligonucleotide length on layer assembly. Biophys. J. 79, 975–981; (**2000**).
23. Petrovykh, D.Y., Kimura-Suda, H., Tarlov, M.J., Whitman, L.J., Quantitative characterization of DNA films by X-ray photoelectron spectroscopy. Langmuir 20, 429–440; (**2004**).
24. Park, S., Brown, K.A., Hamad-Schifferli, K., Changes in oligonucleotide conformation on nanoparticle surfaces by modification with mercaptohexanol. Nanoletters 4, 1925–1929; (**2004**).
25. Liu, T., Tang, J., Han, M., Jianga, L., A novel microgravimetric DNA sensor with high sensitivity. Biochem. Biophys. Res. Commun. 304, 98–100; (**2003**).
26. Lee, C.Y., Gong, P., Harbers, G.M., Grainger, D.W., Castner, D.G., Gamble, L.J., Surface coverage and structure of mixed DNA/Alkylthiol monolayers on gold: characterization by XPS NEXAFS, and fluorescence intensity measurements. Anal. Chem. 78, 3316–3325; (**2006**).
27. S. P. A. Fodor, J. L. Read, M. C. Pirrung, L. Stryer, A. T. Lu, and D. Solas, "Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis," Science, Vol. 251, No. 4995, pp. 767–773; (**1991**).
28. D. J. Lockhart and E. A.Winzeler, "Genomics, gene expression and DNA arrays," Nature, vol. 405, no. 6788, pp. 827–836; (**2000**).
29. E. Paleˇcek and M. Fojta, "Detecting DNA hybridization and damage," Analytical Chemistry, Vol. 73, No. 3; (**2001**).
30. Palecek, E., Fojta, E., Detecting DNA hybridization and damage. Anal. Chem. 73, 74A–83A, (**2001**).
31. Chang, Z., Fan, H., Zhao, K., Chen, M., He, P.G., Fang, Y.Z., Electrochemical DNA biosensors based on palladium nanoparticles combined with carbon nanotubes. Electroanalysis 20, 131–136; (**2008**).
32. Kavanagh, P., Leech, D., Redox polymer and probe DNA tethered to gold electrodes for enzyme-amplified amperometric detection of DNA hybridization. Anal. Chem. 78, 2710–2716; (**2006**).
33. L. He, M. D. Musick, S. R. Nicewarner et al., "Colloidal Auenhanced surface plasmon resonance for ultrasensitive detection of DNA hybridization," Journal of the American Chemical Society, Vol. 122, No. 38, pp. 9071–9077; (**2000**).

34. C. Xi, M. Balberg, S. A. Boppart, and L. Raskin, "Use ofDNA and peptide nucleic acid molecular beacons for detection and quantification of rRNA in solution and in whole cells," Applied and Environmental Microbiology, vol. 69, no. 9, pp. 5673–5678; (**2003**).
35. W. Yang, J. E. Butler, J.N. Russell Jr., and R. J.Hamers, "Interfacial electrical properties of DNA-modified diamond thin films: intrinsic response and hybridization-induced field effects," Langmuir, Vol. 20, No. 16, pp. 6778–6787; (**2004**).
36. W. Cai, J. R. Peck, D. W. van der Weide, and R. J. Hamers, "Direct electrical detection of hybridization at DNA-modified silicon surfaces," Biosensors and Bioelectronics, vol. 19, no. 9, pp. 1013–1019; (**2004**).
37. B. C. Jacquot, N. Mu˜noz, D. W. Branch, and E. C. Kan, "Non-Faradaic electrochemical detection of protein interactions by integrated neuromorphic CMOS sensors," Biosensors and Bioelectronics, Vol. 23, No. 10, pp. 1503–1511; (**2008**).
38. E. Katz and I. Willner, "Probing biomolecular interactions at conductive and semiconductive surfaces by impedance spectroscopy: routes to impedimetric immunosensors, DNAsensors, and enzyme biosensors," Electroanalysis, Vol. 15, No.11, pp. 913–947; (**2003**).
39. E. Sharon,R. Freeman, T. V. Ran, and I.Willner, "Impedimetric or ion-sensitive field-effect transistor (ISFET) aptasensors based on the self-assembly of au nanoparticle-functionalized supramolecular aptamer nanostructures," Electroanalysis, Vol. 21, No. 11, pp. 1291–1296; (**2009**).
40. Xu, Y.; Cai, H.; He, P.G.; Fang, Y.Z. Probing DNA hybridization by impedance measurement based on CdS-oligonucleotide nanoconjugates. Electroanalysis, 16, 150-155; (**2004**).
41. Zhang, K.; Ma, H.; Zhang, L.; Zhang, Y. Fabrication of a sensitive impedance biosensor of DNA hybridization based on gold nanoparticles modified gold electrode. Electroanalysis, 20, 2127-2133; (**2008**).
42. Ambrosi, A., Casta~neda, M. T., De la Escosura-Mu~niz, A., & Merkoc¸i, A. (Eds.).. Gold nanoparticles a powerful label for affinity electrochemical biosensors. Chapter 6 at "Biosensing using nanomaterials e Bionano" (1st Ed). Wiley-Interscience; (**2009**).
43. De la Escosura-Mu~niz, A., Ambrosi, A., & Merkoc¸ i, A.. Electrochemical analysis with nanoparticle-based biosystems. Trends in Analytical Chemistry, 27(7), 568e584; (**2008**).
44. De la Escosura-Mu~niz, A., & Merkoc¸i, A. Electrochemical detection of proteins using nanoparticles: applications to diagnostics. Expert Opinion on Medical Diagnostics, 4(1), 21e37; (**2010**).
45. Ian I. Suni, methods for electrochemical sensors using nanomaterials, Trends in Analytical Chemistry, Vol. 27, No. 7; (**2008**).
46. Pumera M, S´anchez S, Ichinose I, Tan g J. Electrochemical nanobiosensors. Sensors and Actuators B 123. 1195–1205; (**2007**).
47. Carrascosa L. G, Moreno M, A´ lvarez M, Lechuga L. M. Nanomechanical biosensors: a new sensing tool. Trends in Analytical Chemistry. Vol. 25, No. 3; (**2006**).
48. [48] Gruhl F. J, Rapp B. E, Länge K. Biosensors for Diagnostic Applications. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. (**2011**).
49. Liu J, Cao Z, Lu Y. Functional nucleic acid sensors. Chem. Rev. 109, 1948-1998; (**2009**).
50. Niu S. Y, Li Q. Y, Ren R, Zhang S. S. Enzyme-enhanced fluorescence detection of DNA on etched optical fibers. Biosens. Bioelectron. 24, 2943-2946; (**2009**).
51. Briza Perez-Lopeza,b and Arben Merkoc¸I, Nanomaterials based biosensors for food analysis applications, Trends in Food Science & Technology 22 625-639; (**2011**).

The Nano-Biosensors Tools for Detecting Biological Agents in Bioterrorism and Biological Threats

M. E. Minaei[1]

M. Saadati[2]

M. Najafi[3]

H. Honari[3]

Sh. Nazarian[4]

Abstract

It is very difficult to identify and detect of biological agents than other unconventional threats. There are several disadvantages with current diagnostic methods and it is not possible to reach definite and certain results using only one method. Different countries have focused on genome detection methods and they are looking for new diagnostic methods to overcome the existing challenges. One of the methods used for the detection of biological agents and at present comprehensive studies and research are done in this field is employing nano-biosensor technology. The nanobiosensore is one of the recent advances in the science of biotechnology and it seems that in recent years many studies have been done in this field. The nanobiosensors are very accurate measurement sensitive and specific systems. The nanobiosensors have the features that by using its properties and characteristics of their biological material can detect a compound or group of similar compounds and interact with them and the results are reported as an electrical message. This message has always low proportion with the diagnosed compound density. These tools are efficient in a wide range of analytical applications including medical diagnostic and laboratory sciences, environmental controls, industrial process control and finally the safety and defensive warning systems.

In this study, we focused on the newly developed DNA nanobiosensors that were made in different classes and modified electrode surfaces using impedance spectroscopy technique as a diagnostic tool and nanobiosensores technology for the detection of biological agents based on DNA hybridization as the target and electrochemical methods as a diagnostic tool, will also be studied.

Key Words: *Biological Agents Diagnosis-Nanobiosensors- Biological Agents Detection*

1- Imam Hossein Comprehensive University, Doctoral Candidate of Biotechnology - Writer in Charge
2- Imam Hossein Comprehensive University, Instructor and Academic Member
3- Imam Hossein Comprehensive University, Associate Professor and Academic Member
4- Shahed University, Doctoral Candidate of Bicrobiology