

قیچی های مولکولی: ابزارهای بالقوه درمانی نوین در فناوری پزشکی

دکتر هاشمی تبار، غلامرضا^{۱*} و نعیمی پور، محسن^{۲*}

۱- دانشیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد.

۲- دانشجوی دکترا بیوتکنولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد.

چکیده

با تکوین، توسعه و گسترش دامنه فن DNA نو ترکیب و کاربردهای زیاد این تکنیک در دستکاری ژن ها ظرفیت بهره گیری از این فناوری به نحو فزاینده ای افزایش یافته است. ژن درمانی در دهه اخیر رشد زیادی داشته است و در این راستا استفاده از قیچی های مولکولی که قادرند DNA را در محل خاصی برش دهند می تواند نقش بسزایی در درمان بیماریها از جمله سرطان و ایدز داشته باشد. در حال حاضر انواع مختلفی از قیچیهای مولکولی در دسترس می باشند. قیچیهای الگوبرداری شده از آنزیمهای محدودکننده، قیچیهای مولکولی chiral، Zinc Finger Nucleic acids (ZFN) و ریکامینازهای صناعی از جمله این ابزار های نوین می باشند. همه این قیچی ها هر یک به نحوی قادر به شناسایی سکانس انتخابی، برش آن و در نتیجه سرکوب بیان ژن مورد نظر می باشند. در این مقاله به بررسی قیچی های مولکولی که بعنوان یک ابزار جدید درمانی در آینده نزدیک مورد استفاده قرار خواهد گرفت، پرداخته شده است.

واژه های کلیدی: قیچی مولکولی، زیست فناوری، ژن درمانی.

مقدمه:

ساختار قیچی های مولکولی

قیچی های مولکولی مانند یک قیچی معمولی از ۳ قسمت ساخته شده اند: دسته، محور و تیغه. اندازه این قیچی ها بسیار ناچیز است. در حدود ۳nm و به اندازه کافی برای ورود به سلول کوچکند. محور قیچی شامل یک یون دو ظرفیتی آهن است که میان دو صفحه کربنی ساندویچ شده است و به قیچی اجازه چرخش و باز و بسته شدن را می دهد. ایجاد حرکت توسط دسته های قیچی است، دو دسته قیچی بوسیله مولکولی به نام azobenzene که به نور پاسخ می دهد به هم وصل شده اند. این ملکول نور را به خود جذب می کند و در پاسخ به UV فرم بلند آزونزن به فرم کوتاه تبدیل می شود، اما در پاسخ به نور مرئی عمل عکس صورت می گیرد، با تغییر متداول نور از UV به مرئی و بالعکس می توان طول آزونزن را مرتب کم و زیاد نمود، که سبب باز و بسته شدن دسته قیچی می شود و این خود باعث فعال شدن محور قیچی و نهایتاً باز و بسته شدن تیغه ها می گردد (۶).

موادوروشها

: (ZFN) Zinc Finger Nucleic acid

ZFN یکی از بهترین برش دهنده های دئوکسی ریبونوکلوئیک اسید (DNA) است. این مولکول از دو بخش تشکیل شده: ۱- بخش غیر اختصاصی که عمل کاتالیتیکی دارد. ۲- بخش اختصاصی یا Zinc Finger Protein (ZFP) می توان ZFP را به گونه ای طراحی کرد که قادر به شناسایی سکانس نوکلئوتیدی مورد نظر باشد بنابراین اختصاصیت ZFN بستگی به چگونگی طراحی ZFP دارد (۲).

این آنزیم برای شکستن DNA نیاز به دایمیزه شدن دارد. هر ZFN، ۹ جفت باز را می شناسد و نیازمند ۲ کپی از ۹ جفت باز برای دایمیزه شدن به منظور برش DNA دو رشته ای است، بنابراین در واقع ۱۸ جفت باز شناسایی می شود که این تعداد نوکلئوتید به اندازه کافی قادر است آدرس یک قطعه کاملاً اختصاصی را در سلولهای گیاهی و پستانداران بدهد. مطالعات زیادی در مورد ساختار ZFN – DNA انجام شده است، اما هنوز این اطلاعات برای طراحی ZFN هایی که قادر باشند به هر سکانس مورد نظر از DNA باند شوند کافی نیست (۵).

: (ARcut) Artificial restriction cutter

قیچی DNA یی به نام artificial restriction cutter طراحی شده است که قادر به برش DNA ژنومیک اشرشیاکلی در محل های انتخابی می باشد. این قیچی از دو بخش اصلی سافته شده است: ۱- یک جفت PNA ۲- شیلات سلینوم ۴ ظرفیتی (Ce(IV) EDTA). هنگامی که PNA به یک قسمت از DNA دو رشته ای حمله می کند موجب تکه رسته ای شدن قسمت کوتاهی از DNA می شود. به عبارتی بر حسب اینکه پپتید نوکلئیک اسید (PNA) از چه نوکلئوتیدهای تشکیل شده باشد با نوکلئوتیدهای مکمل در هر رشته از DNA پیوند برقرار کرده و باعث جدایی نوکلئوتیدهای اطراف می شود. بدین طریق زمینه برای هیدرولیز DNA توسط شیلات سلینوم مساعد می گردد و عمل هیدرولیز با کمک آنزیم محدود کننده موجود در DNA ARcut صورت می گیرد. بنابراین با تغییر نوکلئوتیدهای PNA می توان محل هدف را به صورت انتخابی تعیین نمود. می توان از این روش نیز برای ژن درمانی استفاده نمود. ARcut قادر است DNA متیله شده را نیز برش دهد، در صورتی که آنزیم های محدود کننده ی طبیعی چنین توانایی را ندارند (۷).

باکتریها برای محافظت از خود در برابر ویروسها از اندونوکلازهای محدود کننده استفاده می کنند، اندونوکلازهای محدود کننده آنزیمهایی هستند که بطور اختصاصی توالی خاصی از DNA را شناسایی و برش می دهند (۱). با جایگزین بخش اختصاصی آنزیم با مکمل سکانس مورد نظر می توان از این آنزیم ها به عنوان قیچی های مولکولی استفاده کرد. در این صورت این قابلیت فراهم خواهد شد که DNA به صورت اختصاصی در محل خاص برش داده شود (۳).

برای درمان بیماری ایدز قیچی جدیدی طراحی شده است که قادر به شناسایی سکانس HIV می‌باشند. این قیچی در واقع یک ریکامبیناراست که به صورت طبیعی در باکتریوفاژها وجود دارد و Cre نامیده می‌شود و پس از ۱۲۰ سیکل تولیدی، این آنزیم به ریکامبینازی به نام Tre تبدیل می‌شود که از این آنزیم برای درمان ایدز استفاده می‌شود البته این روش هنوز در مراحل آزمایشگاهی به سر می‌برد (۴).

نتایج و بحث

با وجود پیشرفت‌های انجام شده در زمینه قیچی‌های مولکولی هنوز این فناوری نیاز به مطالعه، بررسی و تحقیقات گسترده‌ای دارد تا در آینده بتوان قیچی‌های هوشمند با کارایی بالا طراحی کرد که در سکانس‌های مورد نظر ما برش ایجاد کند و بتوان به عنوان یک ابزار درمانی قوی برای درمان بیماری‌هایی از جمله سرطان و ایدز در سطح کلینیکی استفاده نمود.

References:

1. Alferd P. and Albert J. (2001) Structure and function of type II restriction endonucleases, *Nucleic Acid Research*, vol. 29, No. 18. 3705-3727.
2. Cynthia H., Yohei Y., Daisuke U., *et al.* (2003). Engineering proteins that bind, move, make and break DNA. Elsevier Science Ltd. 371-378.
3. David S., Goodsell (2002). Stem Cells the molecular perspective: restriction endonucleases. *Stem cell* 20;190-191 DoI:10.1634/stem cells. 20-2-190
4. Indrani S., Llona H., Joachim H, Frank B. (2007). HIV kicked out: fundament for a new therapy establishedscience, june, 29th
5. Sundar D., Mala M., Karthikeyan K., *et al.* (2005). Zinc finger nucleases: custom-designed molecular scissors for genome engineering of plant and mammalian cells. *Nucleic Acids Research*, 2005, Vol. 33, No. 18 doi: 10.1093/nar/gki912 . 5978-5990.
6. Takahiro M., Kazushi K., Yuka K. and Takuzo A. (2003). Light-Driven Open-Close Motion of Chiral Molecular Scissors. Department of chemistry and Biotechnology, School of Engineering, The University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Tokyo 113-8656, japan 2003.
7. Yoji Y., Kazuyuki M. and Makoto K. Oxford University Press Yuichiro A., Yoji Y. and Makoto K. (2006) Oxford University Press Highly active artificial restriction enzymes composed of Ce(IV)/EDTA and PNA bearing phosphate group Relationship between the promotion by phosphate and the structure of invasion complex. *Nucleic acids Symposium series No. 50* doi: 10.1093/nass/nrII27



Molecular Scissors Phenomenon: A Potential Powerful Medical Tool in Medical Technology

Hashemi Tabar, G. R^{1}, and Naemipour. M^{2*},**

1- Department of Pathobiology

2- Ph. D student of biotechnology,

Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Abstract

The field of molecular genetics and recombinant DNA technology is expanding exceptionally. Development of molecular scissors has opened a new gate in the field of medical technology. Molecular scissors are able to break specifically double stranded DNA domains and repress the expression of target genes. Various molecular scissors are available, including scissors derived from restriction enzymes, chiral molecular scissors, ZFNs and artificial recompsens. These molecular tools are potentially able to be utilized for the treatment of diseases, including cancer and AIDS. In this short article, different aspects of molecular scissors technology will be presented.

Key words: Molecular scissors, Biotechnology, Gene therapy.