اثر یون منیزیم بر انتقال دی ان ای از نانو حفره سیلیکون نیترید

بهرامی، نوید[1]

عبدالوهاب، روح اله[2]

[1]دانشکده فیزیک دانشگاه علم و صنعت ، انتهای خیابان علم وصنعت ، تهران

[2]دانشکده فیزیک دانشگاه علم و صنعت ، انتهای خیابان علم وصنعت ، تهران

چکیده

در این رساله با استفاده از شبیه سازی دینامیک مولکولی به بررسی اثر اضافه کردن یون منیزیم بر زمان جابجایی دی ان ای دو رشته ای از نانو حفره سیلیکون نیترید تحت میدان پرداخته شده است. این شبیه سازی به منظور کاهش سرعت عبور دی ان ای از نانو حفره برای افزایش دقت تشخیص نوکلوتیدها مورد بررسی قرار گرفته است. طبق نتایج بدست آمده هنگام عبور دی ان ای از نانو حفره سیلیکون نیترید بدون استفاده از محلول منیزیم، دی ان ای به سرعت از نانو حفره عبور می کند در حالی که با اضافه کردن محلول منیزیم و کاهش بار سطحی دی ان ای، زمان عبور دی ان ای از نانو حفره حدود 30 درصد افزایش می یابد و دقت تشخیص نوکلئوتیدها نیز بیشتر می شود. در این رساله از روش اعمال میدان با اعمال اختلاف پتانسیل 20 ولت برای هدایت دی ان ای دو رشته ای استفاده شده است که دی ان ای متشکل ازA_9وT_9 و قطر نانو حفره 2.4 نانومتر می باشد.

Effect of Mg^{2+} on DNA translocation in silicon nitride nanopores

Bahrami, Navid[1]
Abdolvahab, Rouhollah[2]

[1] Department of Physics,Iran University of Science and Technology, Tehran,
[2] Department of Physics,Iran University of Science and Technology, Tehran

Abstract

In this dissertation, using molecular dynamics simulations, the effect of adding Mg^{2+} on the translocation time of dsDNA from silicon nitride nanopores under the field is investigated. This simulation has been investigated to reduce the velocity of DNA passing through nanopores to increase the accuracy of nucleotide detection. According to the results, when DNA passes through a silicon nitride nanopore without using magnesium solution, the DNA passes through the nanopore rapidly, while by adding magnesium solution and reducing the surface charge of the DNA, the translocation time of the DNA through nanopore increase about 30% and the accuracy of nucleotide detection increases. In this dissertation, a field application method with a potential difference of 20 volts is used to conduct dsDNA, which DNA consists of A_9 and T_9 and a nanopore diameter of 2.4 nm.

مقدمه

هدف از توالی یابی دی ان ای دست یابی به ترتیب ساختار دی ان ای ، شامل جفت بازهای آدنین_تیمین و سیتوزین_گوانین است. توالی یابی با تکنیک هایی ارزان تر و سریع تر نقش چشمگیری در درمان بیماری و پزشکی دارد ، علاوه بر این می توان به درک بهتر ما از وراثت و همچنین تکامل زیست شناسی کمک می کند. توالی یابی دی ان ای بر پایه نانو حفره یکی از

دستاورد های مهم در زمینه توالی یابی است. نانو حفره حالت جامد به دلیل هزینه پایین و توالی عملیاتی بالا به عنوان نسل بعدی در تعیین توال دی ان ای مورد توجه قرار گرفته اند. [1]

در تعیین توالی دی ان ای، عبور مولکول دی ان ای از نانو حفره چالشی بسیار پیچیده است که تحت تاثیر عوامل متعددی چون غلظت یون در محیط[2]، ضخامت نانو حفره و قطر نانو حفره[3] قرار دارد. روش شبیه سازی دینامیک مولکولی، یک ابزار مکمل برای مطالعه عبور دی ان ای از ناو حفره ها است. در این رساله ، مطالعات محاسباتی در تعیین توالی دی ان ای با استفاده از نانو حفره سیلیکون نیترات انجام شده است.

این مطالعه شامل عبور یک دی ان ای دو رشته ای متشکل از بازهای آدنین و تیمین که از نانو حفره سیلیکون نیترات با قطر 2.4 نانومتر عبور می کند. این شبیه سازی یکبار در محلول سدیم با غلظت یک مولار انجام می شود و بار دیگر با ثابت نگهداشتن همه شرایط فقط با اضافه کردن محلول منیزیم با غلظت 0.6 مولار به محلول یک مولار سدیم شبیه سازی را دوباره تکرار میکنیم تا اثر اضافه شدن بار کاتیون بر عبور دی ان ای را مورد بررسی قرار دهیم. از اعمال میدان الکتریکی برای کشیدن دی ان ای به داخل نانو حفره استفاده شده است.

روش تحقیق

در این رساله از شبیه ساز دینامیک مولکولی نمد به منظور شبه سازی سیستم استفاده شده است. برای آماده سازی اولیه سیستم نظیر آماده کردن فایل مختصات ورودی PDB , PSF حل کردن سیستم در جعبه آب ، اضافه کردن یون به سیستم و آنالیز نتایج حاصل از شبیه سازی دینامیک مولکولی توسط نمد از نرم افزار وی ام دی و برای رستم نمودارها از اکسل استفاده شده است. همچنین از میدان نیرو چارم 27 و مدل TIP3P به ترتیب برای مدل سازی دی ان ای و آب استفاده شده است.

در شکل 1 ساختار شبیه سازی شامل سیلیکون نیترات و دی ان ای دو رشته ای قرار داده شده در جعبه آبی دیده می شود که برای وضوح بیشتر مولکول های آب حذف شده اند.در شکل 1 همچنین مراحل عبور دی ان ای از نانو حفره نشان داده شده است. قطر نانو حفره حدود 10 نانومتر قطر حفره آن 2.4 نانومتر و ارتفاع حدود 10 نانومتر دارد. ساخت نانو حفره سیلیکون نیترات توسط پکیج وی ام دی انجام شده است. هر دو سیستم ابتدا 50000 گام مینیمایز می شود. از باروستات و ترموستات برای اعمال فشار و دمای ثابت در یک اتمسفر و 297 کلوین استفاده شده است.

اعمال میدان در جهت Z است تا جهت حرکت دی ان ای در همین جهت صورت پذیرد. در روش اعمال میدان از یک اختلاف پتانسیل 20 ولتی برای شبیه سازی میدان استفاده شده است .غلظت محلول سدیم 1 مولار است و در آزمایش دوم یک محلول 0.6 مولار منیزیم به آن اضافه می شود تا اثر کاتیون بر زمان عبور دی ان ای بررسی شود.

دی ان ای دارای بار منفی است و وقتی در میدان قرار میگیرد در جهت عکس میدان شروع به حرکت میکند حضور یک یون دوبارمثبت در محیطی که دی ان ای در آن حرکت می کند سبب آن می شود که بار سطحی دی ان ای کاهش یابد و در نتیجه اثر میدان بر دی ان ای کمتر شده و زمان عبور بیشتر شود.

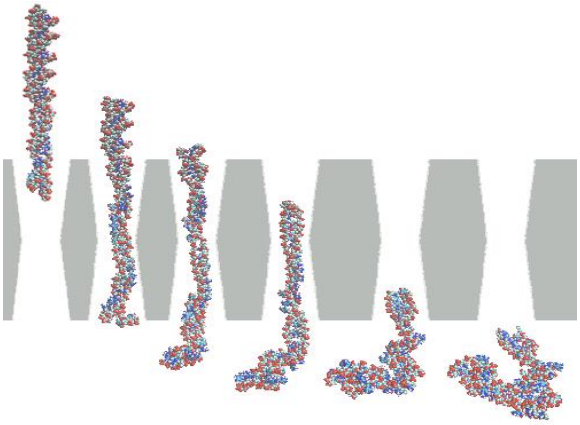
نتایج و تفسیر آن ها

در این قسمت نتایج به دست آمده از عبور دی ان ای دو رشته ای از نانو حفره سلیکون نیترات در دو حالت بدون یون منیزیم و با وجود یون منیزیم را ارائه میدهیم.

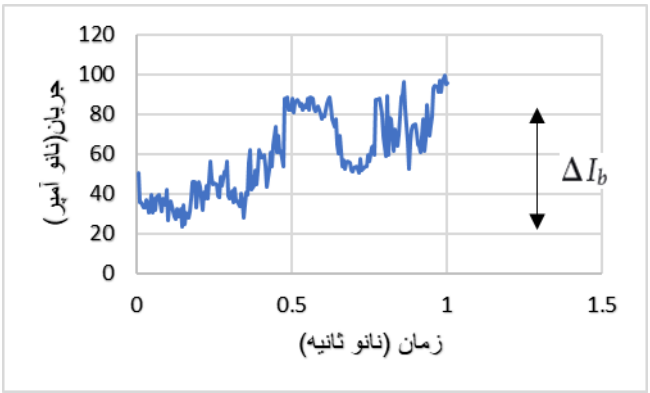
پس از به تعادل رسیدن جعبه شبیه سازی شده که متشکل از نانو حفره سیلیکون نیترات، آب ،یون سدیم کلرید و دی ان ای دو رشته ای متشکل از آدنین و تیمین فرآیند عبور از نانو حفره سیلیکون به قطر 2.4 نانومتر تحت میدان 20 ولتی که به دو سر نانو حفره به طول حدود 10 نانومتر(36 واحد سلولی از سیلیکون نیترات) و قطر حدود 10 نانومتر که به صورت 6 گوش هست اعمال می شود. در شکل 1 شش موقعیت از دی ان ای درون نانو حفره که در جهت محور zها یعنی به سمت پایین کشیده شده است نمایش داده شده است که برای سهولت مشاهده دی ان ای

،یون ها ،نانو حفره و آب از آن حذف شده است. نمودار مربوط به شدت افت جریان در طول حرکت دی ان ای در شکل 2 و3 و نمودار مربوط به تعداد نوکلیوتید عبور کرده از دی ان ای در شکل 4 و 5 نمایش داده شده است . همان طور که از شکل های 2 و 3 مشخص است شدت افت جریان تغییر چندانی نکرده است اما از مقایسه شکل 4 و 5 مشخص است که زمان عبور که در آزمایش اول حدود 0.6 نانو ثانیه بوده به تقریبا 0.9 نانو ثانیه اضافه شده است، تقریبا حدود 30 درصد اضافه شده است که با نتایج تجربی بدست آمده تطابق دارد . [2]زمان عبور به دلیل کم شدن بار سطحی منفی دی ان ای در حظور منیزیم کاهش پیدا کرده است که سبب کاهش سرعت دی ان ای می شود و در نتیجه توالی یابی دی ان ای خیلی راحت تر امکان پذیر است.

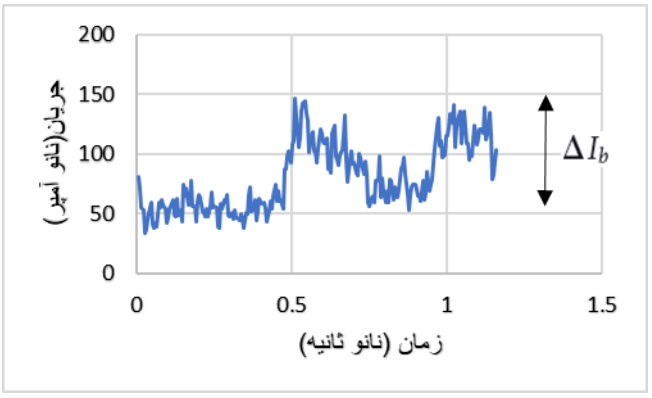
جدولها و شکل ها



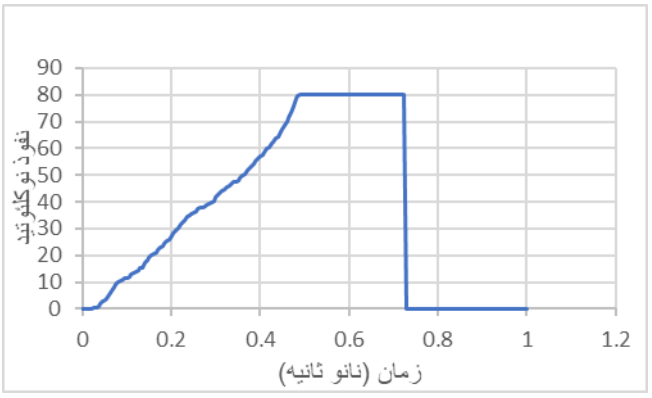
شکل 1 : مراحل عبور دی ان ای از نانو حفره سیلیکون نیترات



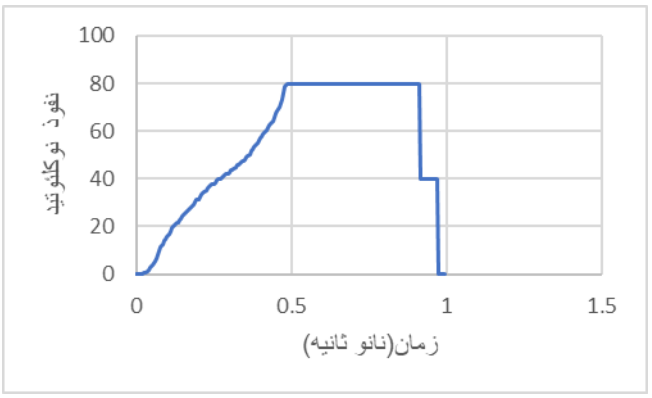
شکل 2: نمودار جریان بر حسب زمان برای حالت بدون Mg



شکل 3: نمودار جریان بر حسب زمان با Mg



شکل 3: نمودار نفوذ دی ان ای درون نانو حفره بر حسب زمان بدون حظور Mg^{2+}



شکل 3: نمودار نفوذ دی ان ای درون نانو حفره با وجود Mg^{2+}

نتیجه گیری

با توجه به اینکه در هنگام توالی یابی دی ان ای در حضور نانو حفره کنترل سرعت دی ان ای و کاهش سرعت آن یک چالش مهم و جدی محسوب می شود افزودن یونی که بتواند بار سطحی دی ان ای را کاهش دهد یک روش کار آمد برای کنترل سرعت دی ان ای محسوب می شود. البته استفاده از یون های دو ظرفیتی مانند منیزیم و کلسیم و یون های سه ظرفیتی مانند آلومینیوم و کبالت به دلیل عدم حرکت دی ان ای دارای محدودیت می باشد.

مرجع‌ها

[1] Ulrich F. Keyser*,Controlling molecular transport through nanopores,http://rsif.royalsocietypublishing.org/ on February 15, 2015.(doi:10.1098/rsif.2011.0222)

[2] J. Uplinger ,B. Thomas,R. Rollings,D. Fologea ,D. McNabb,J. Li,K+, Na+, and Mg2+ on DNA translocation in silicon nitride nanopores, Electrophoresis 2012, 33 ,3448–3457.

[3] P. G. .Debendetti and E.. H. Stanley; “Supercooled and Glassy Water”; *Physics Today* **56**, No. 3 (2003) 40-46.