یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۷، شماره ۲، صفحات ۱۴۵ الی ۱۵۲ (۱۳۹۹)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

Nova Biologica Reperta 7(2): 145-152 (2020)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.7.2.145

بررسی اثر نانوذرات اکسید روی سنتز شده به روش شیمی سبز با دنا

مهناز جنگی[۱]، آزاده محمدقلی[۱] و عادله دیوسالار[۲]

[۱]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران؛ [۲]گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: آزاده محمدقلی، a.mohammadgholi@yahoo.com

چکیده. در این مطالعه از نانوذرات اکسید روی سنتزشده با عصاره پودر قهوه که دارای سازگاری با محیط زیست بوده و در انجام فرایند واکنش، هیچگونه مواد سمی و مضری تولید نمی‌کند، استفاده شده است. تعامل نانوذرات اکسید روی با DNA تیموس گوساله با استفاده از روش‌های مختلف طیف سنجی مرئی فرابنفش، فلورسانس و تکنیک دورنگ نمایی حلقوی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های طیف سنجی مرئی فرابنفش نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، شدت جذب DNA نیز افزایش می‌یابد و این افزایش در نانوذرات اکسید روی سنتزسبز در دمای اتاق و فیزیولوژیک انجام شد. نشر فلورسانس اتیدیوم بروماید نشان داد که با افزایش نانوذره اکسید روی شدت نشر کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده ورود نانوذره به ساختار DNA است. همچنین داده‌های دورنگ نمایی حلقوی نشان داد که اکسید روی سنتزشده باعث تغییر ساختاری در DNA می‌شود. نانوذره اکسید روی سنتزسبز می‌تواند به DNA متصل شده و سبب ایجاد تغییر در ساختار DNA شود که می‌تواند جایگزین نانوذره اکسید روی شیمیایی شود.

واژه‌های کلیدی. دی‌اکسی‌ریبونوکلئیک اسید، طیف سنجی مرئی فرابنفش ، عصاره پودر قهوه، غده تیموس گوساله، فلورسانس

The investigation of the effects of synthesized Zinc oxide nanoparticles on the DNA using green chemistry

Mahnaz Jangi[1], Azadeh Mohammadgholi[1] & Adeleh Divsalar[2]

[1]Departement of Biology, Faculty of Basic Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran;
[2]Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
Correspondent author: Azadeh Mohammadgholi, a.mohammadgholi@yahoo.com

Abstract. In this study, the extract of coffee powder was used to synthesize the zinc oxide nanoparticles due to the compatibility of the method with the environment and the absence of any toxic substance as the byproduct of the reaction. Then, the interaction of zinc oxide nanoparticles with calf thymus DNA was investigated by various spectroscopic methods such as UV-Visible, fluorescence and circular dichroism (CD) techniques. UV-Visible data showed that zinc oxide nanoparticles induced denaturation in DNA in a dose-dependent manner at both the room and physiologic temperatures. The results of extrinsic fluorescence emission of ethidium bromide (EB) also showed that the increase of the zinc oxide nanoparticles concentrations led to the decrease of the emission intensity of EB. This may be the consequence of the intercalation of the nanoparticles into the DNA structure. Also, CD data showed that the synthesized zinc oxide caused structural changes in the DNA. According to the results, it can be concluded that zinc oxide nanoparticles can bind with DNA and induce some structural changes in the DNA structure.

Keywords. coffee powder extract, calf thymus, deoxyribonucleic acid, fluorescence, Uv-visible

دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۶/ اصلاح: ۱۳۹۸/۰۶/۱۶/ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۵/ انتشار: ۱۳۹۹/۰۴/۱۱
Received 06.05.2019/ Revised 07.09.2019/ Accepted 16.09.2019/ Published 01.07.2020

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.6.0]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.145]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.6.0]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.145]

مقدمه

نانوذرات در بسیاری از حوزه‌های پژوهشی همچون مهندسی بافت، حس‌گرهای زیستی مبتنی بر سلول، میکروآرایه‌های پرتوان و پزشکی ترمیمی کاربرد داشته است (Rezayi et al., 2004; Ankamwar et al., 2005). ابزارهای بسیار ابتدایی نانوذرات در فناوری پزشکی می‌توانند برای شناسایی بیماری و توزیع دارو و همچنین توزیع هورمون در بیماری‌های مزمن ونقص‌های سیستم بدن به‌کار روند (Cynthia & James, 1998; Das et al., 2013). ابزارهای بسیار پیشرفته‌تر، از قبیل نانوروبات‌ها به عنوان جراحان کوچک در داخل بدن عمل می‌کنند (Affrossman et al., 2006; Pandurangan et al., 2015). چنین ذراتی می‌توانند با ورود به داخل سلول‌ها ساختار آسیب دیده را تغییر دهند و درصدد ترمیم آن‌ها برآیند (Grzeda et al., 2005; Li et al., 2010). اهمیت ترکیبات فلزی و نانوذرات در پزشکی و درمان سرطان است (Andrei & Zhao, 2008). نانوذرات برای انتقال دارو، آزادسازی، هدف‌گیری سلولی و پایداری، ظرفیت‌های بارگیری متفاوتی دارند (Hosseini et al., 2016). ساختارهای میکرو و نانو سبب ایجاد تغییرات متعددی همچون هم ترازی، افزایش طول قطبیت، مهاجرت، تکثیر و بیان ژن درسلول‌ها می‌شوند (Jain et al., 2005). نانوذرات اکسید روی دارای خواص ضدباکتریایی بالا و خواص ضدویروسی بوده و از تکثیر ویروس ایدز جلوگیری می‌کند (Bhattacharya et al., 2008). همچنین اثر این نانو ذرات بر ویروس هرپس و هپاتیت B مشاهده شده است (Karimi et al., 2011). صدماتی مانند سوختگی، بریدگی پوست، جوش، زگیل، بیماری‌های قارچی و دیگر بیماری‌های پوستی را می‌توان با این نانو ذرات درمان کرد (Khan et al., 2017). از جمله خواص ویژه نانوذرات اکسید روی، می‌توان به پایداری شیمیایی بالا، ثابت دی‌الکتریک پایین، فعالیت کاتالیزوری بالا، جذب نور فروسرخ و فرابنفش و از همه مهم‌تر خاصیت ضد باکتری اشاره کرد (Hudlika et al., 2012). نانو ذرات، حساسیت، سرعت و انعطاف‌پذیری تست‌های بیولوژیکی را جهت اندازه گیری حضور یا فعالیت مواد افزایش می‌دهند (Ricci et al., 2007). ازاینرو جایگزینی روش‌های سنتز سبز اکسید روی در مقایسه با روش شیمیایی بسیار کم هزینه بوده و تولید مواد سمی و خطرناک بسیار کاهش می‌یابد (Calvert et al., 2006) در بسیاری از حوزه‌ها از جمله صنایع داروسازی، صنایع بهداشتی و آرایشی، پزشکی، خودروسازی از نانوذرات اکسید روی سنتز سبز استفاده می‌شود (Sharma et al., 2007). هم اکنون سنتزسبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از میکروارگانیسم‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها، آنزیم‌ها و عصاره‌های گیاهی کاملاً امکان پذیر شده است (Sangeetha et al., 2011). اهمیت مطالعه اثر نانوذرات اکسید روی سنتزسبز برای درمان بیماری‌های سرطانی مورد استفاده و آزمایش قرار گرفت و درواقع می‌توان نانوذرات اکسید روی سنتزسبز را برای بهبودی بعضی از بیماری‌ها استفاده کرد (Singh et al., 2011; Yanget al., 2016; Sun et al., 2005). در حال حاضر از عصاره گیاهان مانند عصاره پودر قهوه برای بیوسنتز نانوذرات اکسید روی استفاده می‌شود (Thanuja et al., 2014; Wahab et al., 2010). با در نظر گرفتن مطالب گفته شده ، هدف ازانجام این آزمایش بررسی اثر نانوذرات اکسید روی سنتزسبز بر DNA غده تیموس گوساله است. استفاده از غده تیموس گوساله به علت دارا بودن میزان بالای DNA نسبت به پروتئین این امکان را برای ما فراهم کرد تا اثرنانوذرات را بر روی DNA خالص بررسی کنیم.

موادوروش‌ها

نانوذرات اکسید روی به صورت آماده از شرکت نانو صنعتی اصفهان تهیه شد. ۵ میلی‌گرم از پودر نانوذرات اکسید روی با ۱ میلی‌لیتر محلول بافر تریس ترکیب و در یخچال نگهداری شد. DNA غده تیموس از شرکت SIGMA خریداری شد. ۴ میلی‌گرم از DNA لیوفیلیزه با ۱ میلی‌لیتر بافر تریس ۰/۱ مولار با pH ۷/۴ ترکیب و در یخچال نگهداری شد (Stephenson, 2010).

اسپکتروسکوپی UV-Vis

تغییرات طیف جذبی DNA در مقابل اضافه شدن هر سه دقیقه یکبار غلظت‌های متفاوت از نانوذرات اکسید روی در دو دمای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد در بافر تریس ۰/۱ مولار با pH ۷/۴ در محدوده طول موج ۲۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه uv-visible مدل CT8200 (echromtech, Taiwan) تحت بررسی قرار گرفت. به منظور ارزیابی پارامترهای ترمودینامیک ΔG و T_m، تغییرات جذب غلظت ثابتی از DNA در حضور غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی در حد فاصل دمایی ۹۵-۰ درجه سانتی‌گراد با کمک تحلیلpace ثبت و نمودار آن رسم شد (Green et al., 1974).

اسپکتروسکوپی فلورسانس

تغییرات طیف نشری اتیدیوم بروماید DNA با غلظت ۴ میلی گرم بر میلی‌لیتر با اضافه کردن ۲ میکرومولار از محلول اتیدیوم بروماید بررسی شد. سپس هر سه دقیقه یکبار تغییرات نشر با غلظت‌های متفاوت نانو ذرات اکسید روی در بافر تریس ۰/۱ مولار با pH ۷/۴ در طول موج ۶۲۰ نانومتر در دو دمای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه BioVARIAN Carry Eclipse

(Agilent, United State) ثبت شد. در طول انجام آزمایشات از کوت کوارتز با عرض یک سانتی‌متر استفاده شد.

اسپکتروسکوپی CD

DNA با غلظت ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با غلظت‌های مختلف نانو ذرات روی انکوبه شد، سپس طیف CD در محدوده طول موج ۲۰۰ تا ۳۲۰ نانومتر (Near UV و Far UV) با استفاده از کوت کوارتز با عرض یک سانتی متر و تحت جریان مداوم گاز ازت و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با کمک دستگاه AVIV 215 انجام شد.

نتایج

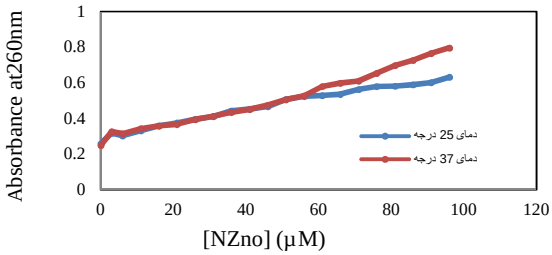
نتایج حاصل از طیف سنجی مرئی- فرابفش نشان داد با افزایش غلظت نانوذرات در محلول (۱۲۰-۰میکرومولار) شدت جذب DNA نیز افزایش یافته است (شکل۱). به منظور ارزیابی کیفیت اندازه‌گیری‌های تعادلی فرضی، انرژی آزاد باز شدن DNA (unfolding) با استفاده ازتحلیلPace تخمین زده شد. مقدار ΔG_{H2O} (انرژی آزاد گیبس دناتوراسیون DNA در۲۵ و۳۷ درجه سانتی‌گراد) برای حالت طبیعی و دناتوره شدن DNA درحضور نانوذرات اکسیدروی دناتوراسیون گرمایی به دست آمد. مقدار ΔG° برای نانوذرات اکسید روی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (KJ/mol)۵/۲۲ و در دما ی ۳۷ درجه سانتی‌گراد (KJ/mol) ۷/۷ است بنابراین DNA در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد پایدارتراست زیرا ΔG° مثبت‌تر است (شکل۲). برای به دست آوردن اطلاعات بیش‌تر در خصوص میان کش نانوذرات اکسید روی با DNA از روش دناتوراسیون حرارتی استفاده شد. منحنی دمایی DNA در حضور نانوذرات در شکل۳ نشان داده شده است. T_m مربوط به DNA برای نانوذرات اکسید روی با غلظت ۶۰ میکرومولار مقدار ۸۵/۱ درجه سانتی‌گراد است. بررسی طیف نشری فلورسانس همانند مطالعات جذبی در هر دو دمای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و۳۷ درجه با افزایش غلظت (۳، ۶، ۹، ۱۴، ۱۹، ۲۴، ۲۹، ۳۴، ۳۹، ۴۴ میکرومولار) نانوذرات اکسیدروی شدت فلورسانس اتیدیوم – DNA، کاهش می‌یابد.کاهش شدت نشر اتیدیوم –DNA در اثر تیترکردن هر سه دقیقه یکبار محلول نانوذرات اکسید روی در طول موج ماکزیمم شدت نشر ۶۲۰ نانومتر در شکل۴ نشان داده شد. طیف‌های نشری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شکل ۵ نشان داده شده است. بازده کوئیچینگ اتیدیوم - برماید توسط نانوذرات اکسیدروی را می‌توان توسط ثابت Stern –Volmer (K_{sv}) به دست آورد. F_0 برابر شدت نشر اتیدیوم -برماید–DNA در غیاب نانوذرات اکسیدروی و F برابر شدت نشر اتیدیوم برماید–DNA درحضور غلظت‌های متفاوت از نانوذرات اکسید روی است. برای نانوذرات اکسید روی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و۳۷ سانتی‌گراد مطابق شکل۶ به دست آمد. K_{sv} برای نانوذرات اکسید روی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد $5/5637\ M^{-1}$ و برای نانوذرات اکسید روی در دمای ۳۷ درجه $12/48\ M^{-1}$ به دست آمد. محاسبه پارامتر لگاریتم اتصال نانوذرات اکسید روی به DNA با کمک فرمول $\text{Log}\frac{F_0-F}{F} = \text{Log}\ K_A + n\ \text{Log}\frac{[Q]}{x}$ محاسبه شد. KA برابر ثابت اتصال n تعداد جایگاه اتصال نانوذرات به DNA است و [Q] غلظت مشخصی از نانوذرات اکسید روی است. K_A به دست آمده برای نانوذرات در دمای ۲۵درجه سانتی‌گراد برابر $1/601\ M^{-1}$ و دردمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برابر $2/345\ M^{-1}$ است (شکل ۷).

طیف‌سنجی CD یکی ازروش‌های بسیار مفید برای تشخیص تغییرات در مورفولوژی DNA درهنگام میان کنش بین مولکول‌ها با DNA است. با افزایش غلظت نانوذرات به DNA و مقایسه طیفCD آن‌ها با طیف DNA طبیعی می‌توان به میزان تغییر ساختاری DNA در اثر این میان کنش پی برد. طیف CD در محدوده طول موج ۲۰۰ تا ۳۲۰ نانومتر درحضور غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی (۰، ۳، ۶، ۱۱، ۱۶، ۲۱، ۲۶، ۳۱ میکرومولار) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تحت بررسی قرارگرفت. در بررسی نانوذرات اکسیدروی تغییرات در هردو باند مثبت و منفی در طیف CD، DNA مشاهده می‌شود (شکل ۸). همچنین تغییرات ساختاری DNA در میان کنش با نانوذرات اکسید روی در غلظت‌های بالا دچار یک شیفت در باند مثبت، ناحیه مربوط به Stacking بازها می‌شود.

بحث

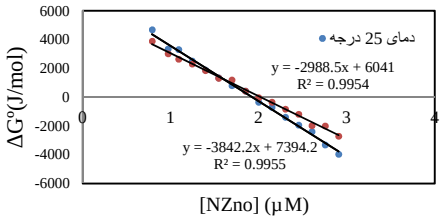
نانوذرات موادی هستند که ابعاد آن‌ها بین۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر است. این اندازه بسیار کوچک، ویژگی خاصی مانند سطح بسیار زیاد و واکنش پذیری بالا به آن‌ها می‌دهد (Jegadeeswaran et al., 2012). تاکنون تحقیقات زیادی در جهت شناسایی بررسی اثرات برهم کنش فلزات و نانوذرات با DNA غده تیموس انجام شده است. در مطالعه‌ای بر همکنش کمپلکس‌های نیکل (II) دارای لیگاندهای آروماتیک مسطح با DNA غده تیموس بررسی شد. این مطالعه نشان داد که این کمپلکس‌ها می‌توانند DNA را در غلظت‌های بسیار کم، غیرطبیعی کنند. مطالعه طیف سنجی و دینامیک مولکولی برهمکنش کمپلکس-های پالادیوم (II) از لیگاندهای فنانترولین و مشتقات گلایسین با DNA غده تیموس گوساله (CT-DNA) انجام شده است که نتایج نشان داد برهم کنش این کمپلکس‌ها با DNA از نوع اینترکلیشن است (Eslami Moghadam et al., 2015).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.6.0]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.145]



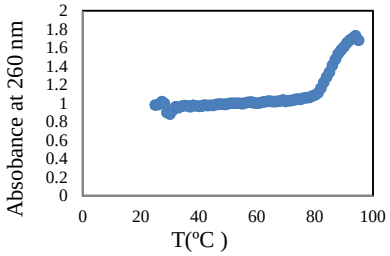
شکل۱-طیف جذبی مرئی – فرابنفش DNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر در دمای ۲۵و ۳۷ درجه سانتی‌گراد که با افزایش غلظت نانو ذرات، شدت جذبDNA افزایش می‌یابد.

Fig. 1. Visible absorption of DNA at 260 nm and at 25 and 37 °C, the increase of nano-particle concentration increased the absorption of DNA.



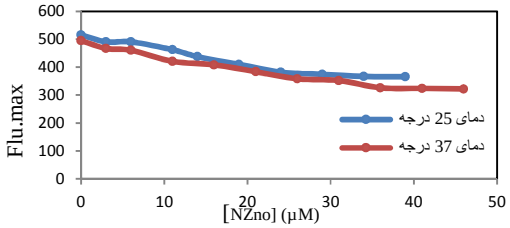
شکل۲- محاسبه پایداری ترمودینامیکی DNA در حضور نانوذرات اکسید روی در دمای ۲۵ و ۳۷درجه سانتی‌گراد.

Fig. 2. Calculation of thermodynamic stability of DNA at 25° C and 37 °C.



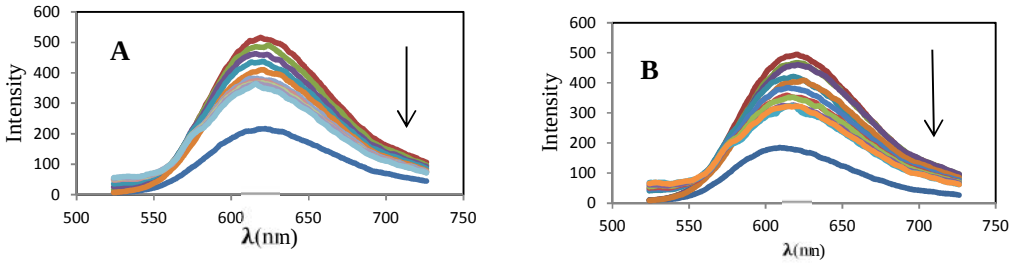
شکل۳- دناتوراسیون حرارتی DNA در حضور نانوذرات اکسید روی.

Fig. 3. DNA denaturation in the presence of nano-particles.



شکل۴ -طیف نشری فلورسانس DNA در طول موج ۶۲۰ نانومتر در دمای ۲۵ و۳۷درجه سانتی‌گراد.

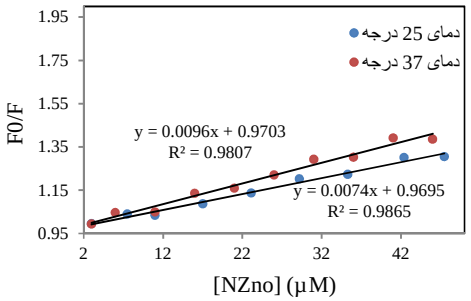
Fig. 4. Fluorescence emission spectra of DNA at 620 nm at 25°C and 37°C.



شکل۵-نمودار(A) طیف نشری فلورسانس DNA در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و نمودار (B) طیف نشری فلورسانس DNA در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد.

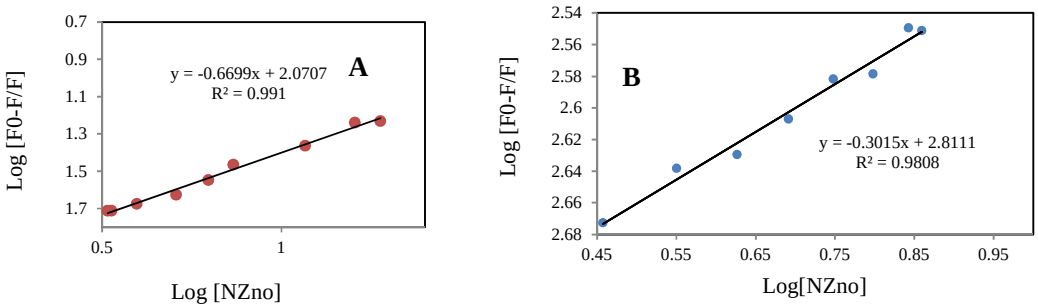
Fig. 5. A. Fluorescence emission spectra of DNA at 25 °C. **B.** the fluorescence emission spectra of DNA at 37 °C.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.6.0]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.145]



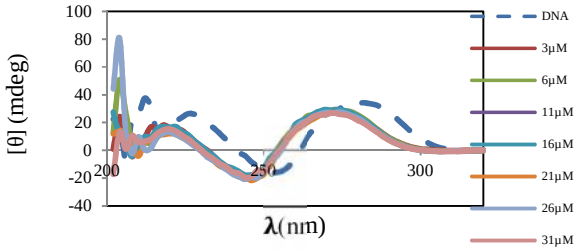
شکل۶- نمودار (K_{sv}) دردمای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد.

Fig. 6. Ksv graph at 25 and 37 °C.



شکل۷- (A) لگاریتم تغییرات طیف نشری DNA دردمای ۲۵درجه سانتی‌گراد و (B) لگاریتم تغییرات طیف نشری DNA دردمای ۳۷درجه سانتی‌گراد.

Fig. 7. **A.** Logarithm of changes in intensity of DNA emission at 25ºC. **B.** Logarithm of changes in intensity of DNA emission at 37 ºC.



شکل -۸- طیف CD ساختار DNA در حضور غلظت‌های (۳، ۰، ۶، ۱۱، ۱۶، ۲۱، ۲۶، ۳۱ میکرومولار) نانو ذرات اکسید روی.

Fig. 8. CD of DNA in the presence of nano-particle (0, 3, 6, 11, 16, 21, 26, 31µM).

علاوه بر این، بر هم کنش کمپلکس‌های پالادیوم (II) با DNA در غلظت‌ها و دماهای بالاتر بیش‌تر بود. در نهایت پارامترهای ساختاری به دست آمده از شبیه سازی (MD) نشان داد که این کمپلکس‌ها پیوند هیدروژنی مولکولی را کاهش داده و با CT-DNA اینترکلیت شدند. در این پژوهش بررسی برهم‌کنش نانوذرات اکسید روی سنتزسبز با DNA تیموس گوساله انجام شد. بدین منظور از تکنیک طیف سنجی مرئی- فرابنفش استفاده شده است. افزایش شدت جذب درطول موج ماکزیمم ۲۶۰ نانومتر نشان دهنده میان کنش لیگاندها با مولکول DNA و تشکیل یک کمپلکس جدید با مارپیچ دورشته‌ای DNA است. تغییرات مشاهده شده در طیف جذبی DNA در حضور غلظت‌های متفاوت نانوذرات اکسید روی سنتزسبز در ماکزیمم طول موج جذبی DNA (۲۶۰ نانومتری) نشان‌دهنده میان کنش این نانوذرات با DNA است که به تشکیل کمپلکس جدیدی از مارپیچ دورشته‌ای DNA منجر می‌شود. افزایش شدت جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر نشان می‌دهدکه بین بازهای آلی DNA و نانوذرات اکسیدروی سنتزسبز میانکنش وجود دارد که این اتصال به تغییرات درکنفورماسیون DNA منجر می‌شود. نتایج به‌دست‌آمده از طیف‌های فلورسانس کاهش زیادی در شدت نشر اتیدیوم برماید DNA با اضافه کردن غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدروی سنتز سبز نشان می‌دهد که کاهش شدت نشر می‌تواند بیانگر رقابت نانوذره اکسیدروی سنتزسبز با اتیدیوم برماید در

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.6.0]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.145]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.6.0]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.145]

اتصال به DNA باشد. به عبارت دیگر می‌توان نتیجه گرفت که کاهش نشر اتیدیوم برماید اینترکلیت شده و جدا شدن آن از ساختار دورشته‌ای DNA و قرارگرفتن آن توسط نانوذرات اکسیدروی سنتزسبز است که سبب فرایند خاموشی فلورسانس می‌شود. با استفاده از داده‌های به دست آمده می‌توان گفت که نانوذرات اکسیدروی سنتزسبز به صورت اینترکلیت شده به DNA دورشته‌ای متصل می‌شود. به عبارت دیگرکاهش نشر فلورسانس اتیدیوم برماید DNA یکی از روش‌های مهم درک مکانیسم میان کنش سایر مولکول‌ها به DNA است. از طیف فلورسانس کمپلکس اتیدیوم برماید- DNA مشخص می‌شود که آیا کمپلکس مورد نظر با DNA میانکنش داشته است یا خیر. اگر کاهش شدت نشرفلورسانس با تزریق‌های اولیه قابل توجه باشد احتمال می‌رود که کمپلکس مورد نظر جایگزین اتیدیوم برماید شده و با جفت بازهای DNA به صورت اینترکلیشن پیوند خورده است. اگر کاهش شدت طیف فلورسانس اتیدیوم-DNA با غلظت‌های بالایی از کمپلکس امکان‌پذیر باشد احتمالاً ازطریق پیوند با شیارهای DNA میان کنش دارد. پس به کمک فرضیه فوق و معادله Stern-volmer می‌توان K_{SV} را به عنوان ثابت اتصال نانوذرات اکسید روی به DNA در نظر گرفت و بدین ترتیب میزان تمایل پیوند این نانوذرات به DNA را اندازه گرفت. مقادیر K_{SV} محاسبه شده نشان می‌دهد که برای نانوذرات اکسید روی سنتزسبز بالا بوده پس می‌توان نتیجه گرفت که نانوذره سنتز سبز اتصال محکم‌تر و قوی‌تری با DNA دارد. نتایج به دست آمده از طیف CD ساختار دورشته‌ای DNA با نانوذرات اکسیدروی اطلاعات مفیدی را از نحوه میان‌کنش این نانوذرات با DNA را می‌دهد. در بررسی نانوذرات اکسید روی سنتزسبز تنها تغییر کمی در چرخش بازها مشاهده می‌شود که به تغییر جذب در باند ۲۸۰ نانومتری مربوط به Stacking منجر می‌شود و آشفتگی در هردو باند آشکاراست. رفتار دمایی DNA در حضور کمپلکس‌ها می‌تواند اطلاعاتی درباره تغییرات ساختاری DNA در هنگام افزایش دما و همچنین اطلاعاتی درباره قدرت پیوند کمپلکس‌ها به DNA می‌دهد و نشان می‌دهد که در هنگام افزایش دما دو رشته DNA به تدریج از یکدیگر باز شده و تبدیل به یک رشته می‌شود که دراین هنگام یک اثر هایپکرومیک درطیف جذبی بازهایDNA در دمای ۲۵ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد رخ می‌دهد. به‌منظور شناخت این روند انتقال دمایی و دمای ذوب (T_m) که به عنوان دمایی که در آن نیمی از جفت بازهای کل موجود در ساختار DNA از یکدیگر باز می‌شود ، تعریف می‌شود. با افزایش T_mدمای ذوب DNA در حضور نانوذرات اکسیدروی سنتزسبز می‌تواند پایداری ساختار DNA را نشان دهد که خود می‌تواند نشان‌دهنده اثرپیوند اینترکلیشن نانوذرات اکسید روی سنتزسبز با DNA است زیرا افزایش Tm و پایداری، یکی از عوامل پیوند با مولکول‌ها با DNA از نوع اینترکلیشن است. پژوهشگران اثرنانوذرات اکسیدروی بر تولید پیگمان سودوموناس آئرو جبینوزا را بررسی کردند و مشاهده کردند نانوذرات اکسیدروی اثر مهاری بر این باکتری و تولید پیگمان آن را داشت که با افزایش غلظت نانوذره، تولیدپیگمان کاهش یافت (Nakhaei Moghaddam et al., 2016). بنابراین از نانوذرات اکسیدروی می‌توان برای پیشگیری و یا کمک به درمان عفونت‌های سودوموناس آئروجینوز استفاده کرد. ارزیابی کمی و کیفی فعالیت ضد باکتریایی اسانس دارچین و نانوذرات اکسیدروی علیه لیستریا مونوشیتوژنز بررسی شده است (Ojagh et al., 2018) که این مطالعه نشان داد که اسانس دارچین و نانوذرات اکسیدروی، اثر ضدمیکروبی قوی علیه لیستریا مونوسیتوژنز دارند. به‌طوری‌که نانوذرات اکسیدروی اثرکشندگی باکتریایی را نشان می‌دهند. ارزیابی سمیت حاد نانوذرات اکسیدروی برعملکرد بیوشیمیایی سرمی کبد درموش سفید آزمایشگاهی بررسی شده است (Heidarnejad et al., 2015) که نتایج نشان داد سطح حاد نانوذرات اکسید روی سمی است و اثر مضرشان را برکبد از طریق افزایش پارامترهای سرمی و بیوشیمیایی کبد نشان می‌دهد لذا در استفاده از این نانوذرات باید احتیاط لازم صورت پذیرد. بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به روش سبز و تغییرات بیان ژن کاتالاز در سلول‌های سرطان کبدی انسان (HEP62) بررسی شده است که این مطالعه نشان داد نانوذرات اکسید روی سنتز شده به روش سبز دارای فعالیت مهارکنندگی رادیکال است. هم چنین با افزایش غلظت نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به روش سبز بیان ژن کاتالاز در مقایسه با ژن کنترل افزایش یافت. بنابراین نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به روش سبز دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی است (Khaligh et al., 2016).

نتیجه‌گیری

بنابراین طبق نتایج به دست آمده می‌توان از نانوذرات اکسید روی سنتزسبز به جای نانوذرات اکسید روی شیمیایی برای درمان بیماری‌های غده تیموس به عنوان دارو پیشنهاد کرد و از طرف دیگر به دلیل میان‌کنش نانوذرات اکسیدروی شیمیایی با ماکرومولکول حیاتی سلول (DNA) باید به اثرات جانبی ایجاد شده در اثراستفاده روز افزون آن برای انسان و محیط زیست نیز توجه کرد.

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقاتی بیوشیمی- بیوفیزیک دانشگاه تهران، دانشگاه خوارزمی و دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی برای همکاری در این تحقیق قدردانی می‌نماییم.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.6.0]

[DOI: 10.52547/nbr.7.2.145]

REFERENCES

Affrossman, S., Agheli, H., Robertson, M. & Dalby, M. 2006. Osteoprogenitor response to semi-ordered and random nanotopographies. Biomaterials 27: 2980-2987.

Ajloo, D., Eslami Moghadam, M., Ghadimi, K., Ghadamgahi, M., Saboury, A., Divsalar, A., Sheikh Mohammadi, M. & Yousefi, Kh. 2015. Synthesis, characterization, spectroscopy, cytotoxic activity and molecular dynamic study on the interaction of three palladium complexes of phenanthroline and glycine derivatives with calf thymus DNA. J. Inorganica Chimica Acta 4: 144-160.

Andrei, V. & Xin Zhao, Z. 2008. Imaging of zinc oxide nanoparticle penetration in human skin in vitro and in vivo. Biomedical 13: 1-9.

Ankamwar, B., Damle, C., Ahmad, A. & Sastry, M. 2005. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Emblicaofficinalis fruit extract, their phase transfer and transmetallation in an organic solution. Nanosci. Naonotechnol. l5: 1665-1776.

Bhattacharya, R. & Mukherjee, P. 2008. Biological properties of naked metal nanoparticles. Adv. Drug Deliv. Rev. 60: 289-306.

Cynthia, B. & James, M. 1998. Oxidative nucleobase modifications leading to strand scission. Chem. Rev. 98: 1109-1152.

Das, D., Nath, C., Phukon, P. & Dolui, K. 2013. Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity colloids surf. Biointerfaces 5: 511-556.

Saboury, A., Mansouri Torshizy, H., Saeedifar, M., Divsalar, A. 2011. Binding studies of a novel antitumor palladium (II) complexes to calf thymus DNA. J. Nucleos. Nucleot. Nucl. Acid 30: 405-422.

Tomaszewska-Grzeda, A., Lojkowski, W., Godlewskib, M., Yatsunenko, S., Drozdowicz-Tomsia, K., Goldys, E.M. & Phillips, M.R. 2005. Growth and Characterization of ZnO Nanoparticles. Acta Physica polonica A 108: 897-902.

Greene, R.F. & Pace, C.N. 1974. Urea and guanidine hydrochloride denaturation of ribonuclease, lysozyme, αchymotrypsin, and β-lactoglobulin. J. Bio. Chem. 249: 5388-5393.

Hosseini, M., Shareghi, B., Saboury, A. & Davar, F. 2016. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles and their effect on the stability and activity of proteinase K. RSC. Adv. 6: 42313-42323.

Hudlikar, M., Joglekar, H., Dhaygude, M. & Kodam, K. 2012. Latex-mediated synthesis of ZnS nanoparticles. J. Nanoparticle Res. 14: 855-865.

Heidarnejad, S., Fatahian Dehkordi, R. & Ameri, A. 2014. ZnO nanoparticles effects on male rat gonad histology and its effect on blood serum sex factors. J. Shahrekord Univ. Med. Sci. 16: 65-71.

Jain, K. 2005. Nanotechnology in clinical laboratory diagnostics. Clinica Chimica Acta 3: 37-54.

Khan, S., Ansari, A.A., Abdulla,M., Al-Obaid, O., &Ahmad, R. 2017. In vitro evaluation of cytotoxicity, possible alteration of apoptotic regulatory proteins, and antibacterial activity of synthesized copper oxide nanoparticles. Colloids Surf. B 153: 320-326.

Khaligh, F., Namvar, F. & Vesal, M. 2016. Evaluation of antioxidant properties of zinc oxide nanoparticles synthesized by green method and catalase gene expression changes in human liver cancer cells (HepG2). Sci. J. Ilam Univ. Med. Sci. 24: 71-82.

Karimi, J., Kazemi, H., Mohsenzadeh, S. & Safavi, A. 2011. Iosynthesis of gold nanoparticles using dried flowers extract of *Achillea wilhemsii* plant. J. Nanomater. Biostructures 6: 1011-1017.

Li, J., Guo, D., Wang, X. & Chen, B. 2010. The photodynamic effect of different size ZnO nanoparticles on cancer cell proliferation in vitro. Nanoscale Res. Lett. 5: 1063-1071.

Marmur, J. & Doty, P. 1962. Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its thermal denaturation temperature. J. Mol. Bio. 5: 109-118.

Nakhaei Moghaddam, M. & Najafi, M. 2016. Effect of zinc oxide nanoparticles on the pigment production of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginos*. Sci. J. Ilam Univ. Med. Sci. 5: 1-10

Ojagh, S., Hosseini, H., Ghaemi, E., Irajian, G.H. & Abdollahzadeh, E. 2018**.** Quantitative and qualitative evaluation of antibacterial activity of cinnamon essential oil and znO nanoparticles against listeria. J. Fisheries Sci. Tech. 7:49-55.

Pandurangan, M., Veerappan, M. & Kim, H. 2015. Cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles on antioxidant enzyme activities and mRNA expression in the cocultured C2C12 and 3T3-L1 cells. Appl. Biochem. Biotechnol. 175: 1270-1280.

Ricci, L., Lombardi, D., Pilozzi, E., Biffoni, M., Todaro, M., Peschle, C. & DeMaria, R. 2007. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. Nature 445: 111-115.

Salata, OV. 2004. Application of nanoparticles in biology and medicine. J. Nanobiotechnology. 2: 1-6.

Sharma, N., Sahi, V., Nath, S., Parsons, J., Gardea-Torresdey, J. & Pal, T. 2007. Synthesis of plant-mediated gold nanoparticles and catalytic role of biomatrix- embedded nanomaterials. Technol. 41: 5137-5142.

Sun, R., Chen, R., Chung, N., HoC-Lin, C. & Che, C. 2005. Silver nanoparticles fabricated in Hepes buffer exhibit cytoprotective activities toward HIV- I infected cells. Chem. Commun. 40: 5059-5061.

Sangeetha, G., Rajeshwari, S. & Venckatesh, R. 2011. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Aloe barbadensis* Miller leaf extract: Structure and optical properties. Materials Res. Bull. 46: 2560-2566.

Singh, R., Shukla, V., Yadav, R., Sharma, P., Singh, P. & Pandey, A. 2011. Biological approach of zinc oxide nanoparticles formation and its characterization. Adv. Mat. Lett. 2: 313-317.

Stephenson, F.H. 2010. Calculations for molecular biology and biotechnology a guide to mathematics in the laboratory. Second Edition. 13: 45-51.

Thanuja, Y., Pandiyarasan, V., Shanmugapriya, P., Anusuya, T. & Vairavaraja, P. 2014. Synthesis and characterization of znO nanoparticles: A green chemistry approach. Asian J. Adv. Basic Sci. 3: 94-101.

Wahab, R., Soon Kim, Y., Mishra, A., Yun, S. & Shik Shin, H. 2010. Formation of znO micro-flowers

prepared via solution process and their antibacterial activity. Nanoscale Res. Lett. 5: 1675-1681

Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, H. & Xi, Z. 2016. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. J. Appl. Toxicol. 29: 69-78.

*****

How to cite this article:

Jangi, M., Mohammadgholi, A. & Divsalar, A. 2020. The investigation of the effects of synthesized Zinc oxide nanoparticles on the DNA using green chemistry. Nova Biologica Reperta 7: 145-152. (In Persian).

جنگی، م.، محمدقلی، آ. و دیوسالار، ع. ۱۳۹۹. بررسی اثر نانوذرات اکسید روی سنتز شده به روش شیمی سبز با دنا. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۱۵۲-۱۴۵.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.6.0]

[DOI: 10.52547/nbr.7.2.145]