بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه تربیت مدرس

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی ارشد

خانم فاطمه شهریاری رشته بیوتکنولوژی پزشکی پایان‌نامه کارشناسی ارشد خود را با عنوان ساخت و بررسی اثر نانوذرات PEI-PEG هدفمند شده با نانوبادی علیه HER-2 حاوی سازه ژنی بیان کننده tBid در سلولهای سرطان سینه در تاریخ ۸۹/۱۲/۲۳ ارائه کردند.
بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنند.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر فاطمه رهبری زاده	(استاد راهنما)	
دکتر حوریه سلیمانجاهی	(استادناظر)	
دکتر محمد جواد رسایی	(استاد ناظر)	
دکتر مریم نیکخواه	(استاد ناظر)	
دکتر حسین عبدل تهرانی	(نماینده تحصیلات تکمیلی)	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب فاطمه شهریاری دانشجوی رشته بیوتکنولوژی پزشکی ورودی سال تحصیلی ۱۳۸۷ مقطع کارشناسی ارشد دانشکده علوم پزشکی متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

امضا فاطمه شهریاری

تاریخ

۱۳۸۹/۱۲/۲۰

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل **پایان‌نامه کارشناسی ارشد** نگارنده در رشته **بیوتکنولوژی پزشکی** است که در سال **۱۳۸۹** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **خانم دکتر فاطمه رهبری زاده** از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ٤ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ٥ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ٤ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ٦ : اینجانب **فاطمه شهریاری** دانشجوی رشته **بیوتکنولوژی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی فاطمه شهریاری

تاریخ و امضا ۱۳۸۹/۱۲/۲۰

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه

دوره کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی پزشکی

عنوان

ساخت و بررسی اثر نانوذرات PEI-PEG هدفمند شده با نانوبادی علیه HER-2 حاوی سازه ژنی بیان کننده tBid در سلولهای سرطان سینه

نگارش

فاطمه شهریاری

استاد راهنما

دکتر فاطمه رهبری زاده

۱۳۸۹

تقدیم به :

پدر، مادر و برادرانم

که به گفته آن عزیز: وجودشان برایم همه مهر بود

و وجودم برایشان همه رنج

با سپاس از:

اساتید ارجمندم سرکار خانم دکتر رهبری‌زاده و جناب آقایان دکتر رسایی، دکتر فروزنده و دکتر تهرانی که مرا در انجام این مهم یاری فرمودند.

دوستان عزیزم سرکار خانم اصل رسولی، خانم صفریان، خانم یزدان‌بخش، خانم شاملو، خانم هنرمند و همچنین خانم طباطبایی که حضور سبزشان مایه امید و دلگرمی اینجانب بوده است.

نیز قدردان زحمات و راهنمایی‌های دوستان گرامی خانم رحیمی، خانم شریف‌زاده، خانم جعفری و خانم مینایی‌یان می‌باشم.

عمیق‌ترین احساس قدردانی و حق‌شناسی خود را به مادر و پدرم که حامیان اصلی من در زندگی بوده‌اند، تقدیم می‌کنم.

چکیده

سرطان به عنوان یکی از بزرگ ترین عوامل مرگ و میر در بسیاری از کشورهای جهان می باشد که با بالا رفتن سن جوامع، میزان بروز آن افزایش می یابد. موفقیت ژن درمانی سرطان تا حد زیادی در گرو راهکارهای اتخاذ شده جهت هدمند سازی و انتقال ژن درمانگر می باشد. نانو ذرات با بهره وری از فرمولاسیون ساده و سهولت در تولید و دست ورزی در جهت هدفمندسازی و همچنین به صرفه بودن نسبی از لحاظ تولید اقتصادی از دیدگاه تکنولوژی مطلوب به نظر میرسند. این سیستم ها با استفاده همزمان از هدفمندسازی فعال و غیر فعال اختصاصیت سلولی بالایی را با اجتناب از آسیب رساندن به سلول های سالم امکان پذیر می سازند.

پلی اتیلن ایمین، یکی از موثرترین وکتورهای غیر ویروسی مورد استفاده در انتقال ژن می باشد. با توجه به محدودیت هایی همچون عدم اختصاصیت سلولی، برهم کنش با اجزای خون و سمیت بالا راهکارهایی جهت رفع این مشکلات صورت گرفته اند. از آن جمله پگیلاسیون یکی از روشهای رایج و موثر در این راستا می باشد که باعث ایجاد پایداری پلی پلکس در غلظت های نمکی سرم، جلوگیری از تشکیل توده و اسپونیزاسیون و همچنین کاهش سمیت پلی پلکس می شود. پگیلاسیون با افزایش طول مدت حضور پلی پلکس در جریان خون امکان هدفمند سازی غیرفعال را با استفاده از خصوصیات فیزیولوژیکی تومور، همچون پدیده نشت و احتباس تشدید شده و ریز محیط توموری فراهم می سازد. با این حال این نوع از دست ورزی دارای محدودیت هایی همچون کاهش توانایی PEI در متراکم کردن DNA، و کاهش برداشت سلولی آن به علت پوشاندن بار مثبت سطح خارجی سلول می باشد. کاربرد موفقیت آمیز اتصال ملکول های هدفمند ساز، همچون آنتی بادی ها که در عین ایجاد هدف گیری فعال و اختصاصیت سلولی باعث کاهش اثرات منفی پگیلاسیون بر فعالیت پلی پلکس می شوند صورت گرفته است. با توجه به اندازه بزرگ آنتی بادی های طبیعی و امکان ایجاد پاسخ های ایمنی، تلاش هایی در جهت کاهش اندازه آنتی‌بادی‌ها انجام گرفته‌اند. نانوبادیها،کوچکترین آنتی‌بادی‌های طبیعی که در جهت کسب عملکرد مناسب در عدم حضور زنجیره سبک تکامل یافته اند، انتخاب مناسبی در جهت هدفمند سازی نانو وکتورها می باشند. اندازه کوچک این نوع از آنتی بادی امکان ایجاد پاسخ ایمنی را تا حد زیادی کاهش می دهد. استفاده از سازه ژنی بیان کننده ژن کشنده t-Bid تحت پروموتور سرطانی MUC1 سطح سوم هدفمندسازی را درسطح رونویسی امکان‌پذیر می سازد. در این مطالعه ما پلی‌پلکس PEI/DNA حاوی سازه یاد شده را توسط نانو بادی علیه HER- 2، پروتئین غشایی که افزایش بیان آن عامل بیش از ۲۵-۳۰٪ سرطان های سینه و تخمدان است، هدفمند ساخته و اثر آن بر سلولهای هدف و طبیعی مورد بررسی قرار دادیم. نتایج حاکی از انتقال اختصاصی موثر به رده سلولی هدف بود، در حالی که بیان ناچیزی از ژن درمانگر در رده سلولی کنترل مشاهده شد.

کلمات کلیدی : آنتی HER-2 نانوبادی، پلی‌اتیلن ایمین PEI ، ژن‌درمانی هدفمند شده

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته ۱

۱-۱. فناوری نانو در درمان سرطان ۲

۱-۲. فناوری نانو و ژن درمانی ۴

۱-۳. حاملین ژنی کاربردی در ژن درمانی ۵

۱-۳-۱. حاملهای غیر ارگانیک ۷

۱-۳-۱-۱. نانوذرات سیلیکا ۷

۱-۳-۱-۲. نانوتیوب های کربنی ۸

۱-۳-۱-۳. نانوذرات طلا ۱۰

۱-۳-۲. حامل های ارگانیک ۱۱

۱-۳-۲-۱. لیپیدهای کاتیونی ۱۱

۱-۳-۲-۲. پلیمرهای کاتیونی ۱۸

۱-۳-۲-۲-۱. پلیمرهای زیست تجزیه پذیر biodegradable ۲۲

۱-۳-۲-۲-۲. پلیمرهای زیست تجزیه ناپذیر Non-biodegradable ۲۷

۱-۴. افزودن زنجیرهای پلی اتیلن گلیکول (پگیلاسیون) ۳۲

۱-۵. هدفمندسازی ۳۴

۱-۵-۱. هدفمندسازی غیرفعال با استفاده از اثر EPR ۳۴

۱-۵-۲. هدفمندسازی فعال ۳۸

۱-۶. گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی-۲ (ERBB2) ۴۳

۱-۷. هدفمندسازی رونویسی ۴۴

فصل دوم : مواد و روش ها ۴۵

۲-۱. مواد ۴۶

۲-۱-۱. بافرها و محلولها ۴۶

۲-۱-۱-۱. بافرهای الکتروفورز DNA ۴۶
۲-۱-۱-۲. بافر فسفات سالین(PBS) ۴۷
۲-۱-۱-۳. بافرهای تخلیص پری پلاسمیک ۴۷
۲-۱-۱-۴. بافرها و محلول های SDS-PAGE ۴۸
۲-۱-۱-۵. بافر انتقال ایمنوبلاتینگ ۵۰
۲-۱-۱-۶. محلول IPTG (0.1M) ۵۰
۲-۱-۱-۷. معرف برادفورد ۵۰
۲-۱-۲. محیط های کشت ۵۱
۲-۱-۲-۱ محیط کشتLB ۵۱
۲-۱-۲-۲. محیط کشت LB آگار ۵۱
۲-۱-۲-۳. محیط کشت 2XYT ۵۱
۲-۱-۲-۴. محیط کشت M9 ۵۲
۲-۱-۲-۵. محیط کشت TB ۵۲
۲-۱-۲-۶. محیط کشت SOC ۵۳
۲-۱-۲-۷. محیط ذخیره سازی‌باکتری ۵۳
۲-۱-۲-۸. محیط کشت سلول DMEM ۵۳
۲-۱-۲-۹. محیط فریزینگ سلولها ۵۴
۲-۱-۳. آنتی بیوتیک ها ۵۴
۲-۱-۴. کیت ها ۵۴
۲-۲. سلول های یوکاریوتی ۵۴
۲-۳. وسایل ۵۴
۲-۴. دستگاه ها ۵۵
۲-۵. روش کار ۵۵
۲-۵-۱. سابکلونینگ قطعه VHH از وکتور pComb3X حاوی VHH در وکتور بیانی pSJ ۵۵

۲-۵-۱ -۱. کشت باکتری حاوی پلاسمید ۵۵
۲-۵-۱-۱-۱. تخلیص پلاسمید ۵۵
۲-۵-۱-۱-۲. الکتروفورز پلاسمید تخلیص شده بر ژل آگارز ۵۶
۲-۵-۲. آماده سازی قطعه insert (VHH) ۵۶
۲-۵-۳. تهیه باکتری مستعد شده برای واکنش الکتریکی ۵۷
۲-۵-۴. ترانسفکشن الکتریکی ۵۸
۲- ۶. بیان و تخلیص نانوبادی علیه HER-2 ۵۹
۲-۶- ۱. کشت انبوه باکتری حاوی نانوبادی ۵۹
۲-۶-۲. تخلیص پری پلاسمیک ۵۹
۲-۶-۳. تخلیص با کیت ستون نیکل ۶۱
۲-۷. بررسی نانوبادی ۶۱
۲-۷-۱. ایمونوبلاتینگ ۶۱
۲-۷-۲. الیزا جهت تایید فعالیت نانوبادی علیه HER-2 ۶۱
۲-۸. تهیه نانوذرات پلی پلکس PEI/DNA ۶۲
۲-۸ -۱. تهیه کمپلکس های PEG-PEI/DNA ۶۳
۲-۸-۲. پوشاندن نانوذرات تهیه شده با heterobifunctional PEG (Mal-PEG-NHS) ۶۴
۲- ۸-۳. اندازه گیری زتا پتانسیل و اندازه ذرات پلی پلکس های هدفمند ۶۵
۲-۸-۴. تست تایید حضور پلاسمید در پلی پلکسهای ساخته شده DNA retardation assay ۶۵
۲-۹. بررسی اثر نانوذرات Nb-PEG-PEI/DNA بر سلولهای هدف و کنترل ۶۶
۲-۹-۱. انتقال سازه ژنی tBid به داخل سلول های هدف و کنترل با نانوذرات PEI-PEG هدفمند ۶۶
۲-۹-۲. شمارش سلول های زنده و مرده ۶۷
۲-۹-۳. انجام Real time PCR ۶۷
فصل سوم : نتایج و یافته ها . ۷۱
۳-۱. ساب کلونینگ ژن Anti-HER-2 VHH ۷۲

۳-۱-۱. تخلیص پلاسمید بیانی pSJ ۷۲
۳-۱-۲. تکثیر ژن نانوبادی علیه HER-2 ۷۳
۳-۱-۳. gel extraction ژن نانوبادی و پلاسمید بیانی pSJ پس از برش آنزیمی ۷۴
۳-۱-۴. ترانسفورماسیون ۷۵
۳-۱-۵. هضم تأییدی پلاسمید ساب کلون شده ۷۶
۳-۱-۶. نتیجه توالی خوانی ۷۷
۳-۱-۷. بیان و تخلیص پروتئین نانوبادی ۷۸
۳-۱-۸. وسترن ایمنوبلاتینگ ۷۹
۳-۱-۹. بررسی غلظت نانوبادی ۷۹
۳-۱-۱۰. الایزا ۸۰
۳-۲. ساخت و بررسی نانوذرات ۸۰
۳-۳. تست تأیید حضور سازه در نانوذرات به روش DNA Retardatioan Assay ۸۲
۳-۴. ترانسفکشن سلولهای هدف و شاهد با پلی پلکسهای آماده شده ۸۳
۳-۵. تایید عملکرد نانوذرات حاوی سازه ژنی ۸۳
۳-۵-۱. شمارش سلول ها ۸۳
۳-۵-۲. نتیجه بررسی عملکرد نانوذرات حاوی سازه ی درمانی در سطح رونویسی (نتایج Real time PCR) ۸۵
فصل چهارم: بحث ، نتیجه گیری و پیشنهادها ۹۴
۴-۱. بحث و نتیجه گیری ۹۵
۴-۲. پیشنهادها ۱۰۴
فهرست منابع ۱۰۵
چکیده انگلیسی ۱۲۴

فهرست نمودارها

نمودار ۳-۱. نتایج الیزا ۸۰

نمودار ۳-۲. تعداد سلولهای زنده و مرده در رده سلولی SKBR3 ..... ۸۴

نمودار ۳-۳. تعداد سلولهای زنده و مرده روی رده سلولی NIH3T3 ..... ۸۵

نمودار ۳-۴ . نتایج محاسبات در دو رده سلولی SKBR3 و NIHT3T ۹۳

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱. لیپیدهای کاتیونی. ساختار انواع لیپیدهای کاتیونی شرح داده شده نمایش داده شده است. ۱۳

شکل ۱-۲. نمایش ساختار لاملار و هگزاگونال معکوس. ۱۵

شکل ۱-۳. پلیمرهای کاتیونی. ۱۹

شکل ۱-۴. انواع مسیرهای اندوسیتوزی ۲۰

شکل ۱- ۵. نمودار نرخ رشد ارجاعات مقاله ها به موضوع EPR. ۳۵

شکل ۱-۶. تصاویر SEM از سیستم مویرگی در بافت سالم و سرطانی. ۳۶

شکل ۱-۷. مقایسه اندازه نانوبادی. ۴۱

شکل ۳-۱. نتایج تخلیص پلاسمید. ۷۲

شکل ۳-۲. نتایج PCR قطعه ژنی ۷۳

شکل ۳-۳. نتایج تخلیص از ژل پس از هضم آنزیمی. ۷۴

شکل ۳-۴. نتایج Colony PCR روی کلونهای ترانس فورم شده. ۷۵

شکل ۳-۵. نتیجه هضم تأییدی. ۷۶

شکل ۳-۶. نتیجه توالی خوانی پلاسمید ساب کلون شده . ۷۷

شکل ۳-۷ . SDS – PAGE پس از شتستشوی پروتئین از ستون نیکل. ۷۸

شکل ۳-۸. وسترن ایمنوبلاتینگ. ۷۹

شکل ۳-۹. نتایج بررسی اندازه ذرات. ۸۱

شکل ۳-۱۰. نتایج Gel Retardation Assay. ۸۲

شکل ۳-۱۳. نمودار استاندارد ژن بتااکتین. ۸۶

شکل ۳-۱۴. نمودار تکثیر منحنی استاندارد ژن بتااکتین. ۸۷

شکل ۳-۱۵. نمودار استاندارد ژن t-Bid ۸۸
شکل ۳-۱۶. نمودار تکثیر منحنی استاندارد ژن t-Bid ۸۹
شکل ۳-۱۷. نمودار تکثیر ژنی در رده سلولی..... ۹۰
شکل ۳-۱۸. نمودار تکثیر ژنی در رده سلولی NIH3T3..... ۹۱

فصل اول

مقدمه و

مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱. فناوری نانو در درمان سرطان

دستاوردهای دو دهه‌ی اخیر، به خصوص پیشرفت‌های به دست آمده در علـم بیولـوژی مولکـولی موجب درک بهتری از بیولوژی سـرطان شـده اسـت. بـا ایـن حـال سـرطان همچنـان در بسـیاری از کشورهای جهان از اولین عوامل مرگ و میر بوده و بر طبق پیش‌بینی سـازمان بهداشـت جهـانی[1] تـا سال ۲۰۲۰ سرطان در ایران اولین عامل مرگ ومیر خواهد بود.

سرطان بر خلاف بسیاری از بیماری های دیگر شامل مجموعه ای از بدخیمی های کاملا هتـروژن است که پیشینهٔ ژنتیکی، بیوشیمی و فیزیولوژی متفاوتی دارند به طوری که حتی در مورد یک شخص تومورهایی که در اثر متاستاز یا عود مجدد بیماری ایجاد شده اند از تومور اولیـه متفـاوت مـی باشـند. چنین تنوعی یافتن یک راهکار درمانی کلی را جهت درمان قطعی امکان ناپذیر می سازد.

با توجه به ماهیت تهاجمی سرطان و همین طور مکانیسم هـای پیچیـده دخیـل در پیشـرفت آن درمان های سـنتی همچـون جراحـی، شـیمی درمـانی و رادیودرمـانی در بسـیاری از مـوارد ناکارامـد میباشند. عوارض جانبی بالا، اختصاصیت پـایین و احتمـال بـروز مجـدد بیمـاری از محـدودیت هـای روشهای فوق هستند. لذا نیاز به جایگزینی درمان‌هایی موثرتر، اختصاصـی‌تـر و دارای عـوارض جـانبی کمتر بیشتر احساس می‌شود.

دهه‌ی اخیر شاهد ظهور امیدبخش نانوذرات در سیستم های درمانی سرطان همچون انتقـال دارو و انتقال ژن‌های درمانگر بوده است. فناوری نانو ابزارهای چند عملکردی با مقیاس نانو، اندازه‌ای مشـابه با ابعاد سیستم‌های بیولوژیک ملکولی طراحی و تولید کرده است. این ذرات قـادر بـه عبـور از سـدهای

[1] World health organization (WHO)

زیستی، تجمع انتخابی در تومور و امکان دست‌ورزی درجهت شناسایی اختصاصی سلول‌های سرطانی در راستای تشخیص و درمان می‌باشند.

براساس گزارش اخیر پلتفورم نانو پزشکی اروپا[1] در مورد"مسیر پیش روی نانو پزشکی تا سال ۲۰۲۰[2] " بیشترین موارد طراحی، تولید و بررسی نانو ذرات در زمینه علوم زیستی برای تشخیص و درمان سرطان خواهد بود و درمان‌های هدفمند شده بر اساس نانوذرات در درمان سرطان ۳۰ میلیارد دلار از بازار جهانی را در سال ۲۰۱۵ به خود اختصاص خواهند داد.[۱]

امکان طراحی و تولید در مقیاس بالا، سهولت دست‌ورزی، قابلیت هدفمند شدن اختصاصی و همچنین امکان شخصی سازی رژیم‌های درمانی مبتنی بر نانو ذرات از مزیت‌های سیستم‌های فوق به شمار می‌روند.

ویژگی‌های خاص ریز محیط اطراف تومور امکان تجمع سیستم‌هایی با مقیاس نانو را در محل تومور و در واقع هدف‌یابی غیرفعال را میسر می‌سازد. به علاوه امکان هدفمندسازی فعال با بهره گیری ازمزیت سهولت در دست‌ورزی سطح نانو ذرات همچون اتصال آنتی‌بادی در سطح و یا استفاده از ویژگی‌های خاص نانوذرات در این مقیاس که امکان هدایت مغناطیسی به محل و یا امکان استفاده از امواج مادون قرمز یا لیزر را میسر می کنند نیز از مزایای سیستم‌های فوق محسوب می‌شود [۲].

یکی از بزرگترین امتیازات درمان سرطان با استفاده از فناوری نانو، امکان شخصی کردن درمان، جهت بیماران متفاوت است. با شناخت شاخص‌های[3] سرطانی می‌توان برای هربیمار یک پروفایل ملکولی سرطان طرح‌ریزی کرد که امکان شخصی کردن و قابل پیش‌بینی شدن روند درمان را میسر می‌کند[۳].

تصور یک درمان ایده‌آل با استفاده از فناوری فوق، بدین صورت است که در یک آزمایشگاه با غربالگری مبتنی بر فناوری نانو شاخص‌های سرطانی تومور فرد شناسایی شده و در همان زمان حامل دارو یا ژن درمانگر با استفاده از نانوذرات بر طبق شاخص‌های سرطانی شناسایی شده در بیمار فوق طراحی و ساخته می‌شود[۴].

[1] Nanomedicine European technology platform
[2] Roadmaps in Nanomedicine towards 2020
[3] marker

Doxil و Abraxane دو نانو ذره‌ی درمانگری هستند که مراحل ارزیابی بالینی خود را با موفقیت پشت سرگذاشته و دارای مجوز سازمان غذا و داروی ایالت متحده امریکا[1] می باشند. Doxil سیستم لیپوزومی حامل دوکسوروبیسین در درمان سرطان تخمدان [۵ و ۶] و Abraxane نانوذره‌ی پوشیده شده با آلبومین و کونژوگه شده با تاکسول در درمان سرطان سینه متاستاتیک می‌باشند[۷].

با توجه به نوپا بودن این علم مجهولات بسیاری در مورد دینامیک و کینتیک زیستی، متابولیسم و پاکسازی و همچنین سمیت نانو ذرات در سیستم‌های بیولوژیکی موجود است و نیاز مبرمی به تحقیق و بررسی در این زمینه وجود دارد.

۱-۲. فناوری نانو و ژن درمانی

درک بهتر از ژن های دخیل در رشد و پیشرفت سرطان راهکارهای جدیدی را جهت درمان این بیماری ایجاد کرده است. عدم کارکرد صحیح برخی انکوژن ها و ژن های سرکوب کننده تومور در بسیاری از موارد سرطان نقش اصلی را ایفا می کند. ژن درمانی امکان درمان سرطان را با هدف قرار دادن آن از سرمنشأ اولیه میسر کرده است. بر خلاف دیگر موارد ژن درمانی که نیازمند به بیان طولانی مدت پروتئین درمانی است در ژن‌درمانی سرطان، بیان کوتاه مدت پروتئین درمانی جهت ریشه کن کردن تومور کافی می‌باشد. در فاصله‌ی سال‌های ۲۰۰۴-۱۹۸۹ بیش از ۱۰۰۰ کارآزمایی بالینی ژن‌درمانی صورت گرفته است که از این میان حدود ۶۶٪ ازمطالعات ژن‌درمانی در زمینه‌ی درمان سرطان بوده است.

امروزه با نتایج روز افزون و موفقیت آمیز کارآزمایی‌های بالینی، ژن درمانی سرطان مقبولیت بیشتری یافته است. به عنوان مثال آلووکتین-۷[2] نوعی لیپوزوم حاوی پلاسمید کد کننده HLA- B7 و B-2 میکوگلوبین، ۲ جز اصلی کمپلکس سازگاری بافتی کلاس۱، در پیشرفته ترین مرحله کارآزمایی بالینی سه ، در ترکیب با شیمی درمانی می باشد.

[1] Food and Drug Administration (FDA)
[2] Allovectin-7

در زمینه درمان سرطان ۴ هدف کلی مطرح است:

۱. خاموش کردن بیان انکوژن ها

۲. افزایش بیان ژن های سرکوب کننده تومور

۳. مهارنئوآنژیوژنز

۴. تحریک سیستم ایمنی علیه سلول های سرطانی

بر اساس مطالعات انجام شده در دهه‌ی اخیر به نظر می رسد ژن درمانی راهکارهـای بسـیاری در زمینه‌ی درمان سرطان ارائه خواهد کرد. با این حال تعریف دقیق از بافت هـدف و یـافتن یـک حامـل موثر برای انتقال ژن همچنان دو محدودیت بزرگ موجود در زمینه‌ی کاربرد درمانی ژن‌ها هستند.

۱-۳. حاملین ژنی کاربردی در ژن درمانی

مشکل اصلی ژن درمانی مربوط به تاکید زیاد بر مبانی بالینی و همچنین تکنولوژی نابالغ در ایـن زمینه به ویژه طراحی نه چنـدان مناسـب حامـل هـا مـی باشـد [۸]. یـک حامـل ژنـی مناسـب بایـد خصوصیات زیر را داشته باشد:

۱. به طور اختصاصی و موثر ژن را به سلول هدف وارد کند.

۲. ژن وارد شده به سلول‌ها به راحتی از سلول خارج نشود یا از دست نرود.

۳. ژن را به میزان بالا بیان کند تا اثرات درمانی را ایجاد کند.

۴. عوارض جانبی در میزبان نداشته و به اصطلاح ایمن باشد.

تا کنون سیستم جامعی که تمام موارد بالا را دارا باشد یافـت نشـده اسـت. دو روش عمـده بـرای انتقـال ژن بـه سـلول‌هـای یوکـاریوتی بـه کـار رفتـه اسـت: ۱. بـه کـارگیری وکتورهـای ویروسـی و ۲. نانوحاملهای ارگانیک و غیرارگانیک(سیستم‌های غیرویروسی).

ویروس‌ها ابزار بسیار مناسبی برای انتقال ژن هستند چون در مسیر تکامل خود توانایی انتقال موثر ژن به سلول‌های هدف را کسب کرده اند. ویروس‌های متفاوتی برای ایجاد سیستم‌های وکتوری انتقـال ژن با مقاصد درمانی به کار رفته اند که هر سیستم مزایـا و مضـرات منحصـر بـه خـود را دارنـد. بـا آنکـه