دانشکده :علوم زیستی

رساله دکتری رشته: نانوبیوتکنولوژی

عنوان رساله:

طراحی و ساخت نانوساختارهای گل کلمی DNA با استفاده از فناوری تکثیر تکدمای حلقه ای

و مطالعات بیوفیزیکی آن

نام دانشجو:

پوریا گیل

استاد راهنما:

دکتر بیژن رنجبر

خرداد ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحيم

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

آقای پوریا گیل رساله واحدی خود را باعنوان: «**طراحی و ساخت نانوساختارهای گل کلمی DNA با استفاده از فناوری تکثیر تک دمای حلقه ای و مطالعات بیوفیزیکی آن**» در تاریخ ۹۰/۰۳/۰۳ ارائه کردند.

اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می کند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر بیژن رنجبر	استاد	
۲- استاد مشاور	دکتر رضا صابر	استادیار	
۳- استاد ناظر	دکتر سید عباس شجاع السادات	استاد	
٤- استاد ناظر	دکتر مریم نیکخواه	استادیار	
٥- استاد ناظر	دکتر سیدمهدی رضایت	استاد	
٦- استاد ناظر	دکترفریدون مهبودی	دانشیار	
۷- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر خسرو خواجه	دانشیار	

آيين‌نامه حق مالكيت مادي و معنوي در مورد نتايج پژوهشهاي علمي دانشگاه تربيت مدرس

مقدمه: با عنايت به سياست‌هاي پژوهشي و فناوري دانشگاه در راستاي تحقق عدالت و كرامت انسانها كه لازمه شكوفايي علمي و فني است و رعايت حقوق مادي و معنوي دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضاي هيأت علمي، دانشجويان، دانش‌آموختگان و ديگر همكاران طرح، در مورد نتايج پژوهشهاي علمي كه تحت عناوين پايان‌نامه، رساله و طرحهاي تحقيقاتي با هماهنگي دانشگاه انجام شده است، موارد زير را رعايت نمايند:

ماده ۱- حق نشر و تكثير پايان نامه/ رساله و درآمدهاي حاصل از آنها متعلق به دانشگاه مي باشد ولي حقوق معنوي پديد آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله يا مقالات مستخرج از پايان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشريات علمي و يا ارائه در مجامع علمي بايد به نام دانشگاه بوده و با تاييد استاد راهنماي اصلي، يكي از اساتيد راهنما، مشاور و يا دانشجو مسئول مكاتبات مقاله باشد. ولي مسئوليت علمي مقاله مستخرج از پايان نامه و رساله به عهده اساتيد راهنما و دانشجو مي باشد.

تبصره: در مقالاتي كه پس از دانش‌آموختگي بصورت تركيبي از اطلاعات جديد و نتايج حاصل از پايان‌نامه/ رساله نيز منتشر مي‌شود نيز بايد نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار كتاب، نرم افزار و يا آثار ويژه (اثري هنري مانند فيلم، عكس، نقاشي و نمايشنامه) حاصل از نتايج پايان‌نامه/ رساله و تمامي طرحهاي تحقيقاتي كليه واحدهاي دانشگاه اعم از دانشكده ها، مراكز تحقيقاتي، پژوهشكده ها، پارك علم و فناوري و ديگر واحدها بايد با مجوز كتبي صادره از معاونت پژوهشي دانشگاه و براساس آئين نامه هاي مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوين دانش فني و يا ارائه يافته ها در جشنواره‌هاي ملي، منطقه‌اي و بين‌المللي كه حاصل نتايج مستخرج از پايان‌نامه/ رساله و تمامي طرح‌هاي تحقيقاتي دانشگاه بايد با هماهنگي استاد راهنما يا مجري طرح از طريق معاونت پژوهشي دانشگاه انجام گيرد.

ماده ٥- اين آيين‌نامه در ٥ ماده و يك تبصره در تاريخ۸۷/٤/۱ در شوراي پژوهشي و در تاريخ ۸۷/٤/۲۳ در هيأت رئيسه دانشگاه به تاييد رسيد و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱٥ شوراي دانشگاه به تصويب رسيده و از تاريخ تصويب در شوراي دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اينجانب **پوريا گيل** دانشجوي رشته **نانوبيوتكنولوژی** ورودي سال تحصيلي۱۳۸۷مقطع **دكترى** دانشكده **علوم زيستى** متعهد مي شوم كلِيه نكات مندرج در آئين نامه حق مالكيت مادي و معنوي در مورد نتايج پژوهش هاي علمي دانشگاه تربيت مدرس را در انتشار يافته هاي علمي مستخرج از رساله تحصيلي خود رعايت نمايم. در صورت تخلف از مفاد آئين نامه فوق الاشعار به دانشگاه وكالت و نمايندگي مي دهم كه از طرف اينجانب نسبت به لغو امتياز اختراع بنام بنده و يا هر گونه امتياز ديگر و تغيير آن به نام دانشگاه اقدام نمايد. ضمناً نسبت به جبران فوري ضرر و زيان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدينوسيله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا:.....

تاريخ: .....

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (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 پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

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

«کتاب حاضر، حاصل رساله دکتری نگارنده در رشته **نانوبیوتکنولوژی** است که در سال **۱۳۹۰** در دانشکده **علوم زیستی** دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **جناب آقای دکتر بیژن رنجبر** و مشاوره **جناب آقای دکتر رضا صابر** از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت 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 ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب **پوریا گیل** دانشجوی رشته **نانوبیوتکنولوژی** مقطع **دکترا** تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی:

تاریخ و امضا:

دانشکده :علوم زیستی

رساله دکتری رشته: نانوبیوتکنولوژی

عنوان رساله:

طراحی و ساخت نانوساختارهای گل کلمی DNA با استفاده از فناوری تکثیر تکدمای حلقه ای

و مطالعات بیوفیزیکی آن

نام دانشجو:

پوریا گیل

استاد راهنما:

دکتر بیژن رنجبر

استاد مشاور:

دکتر رضا صابر

خرداد ۱۳۹۰

تقدیم می‌شود به ساحت مقدس و ملکوتی

باقرالعلوم بعد النبی

حضرت امام محمد باقر (علیه‌السلام)

مراتب تشکر و قدردانی خود را از :

- استاد ارجمند، **جناب آقای دکتر بیژن رنجبر**، بدلیل راهنمائی‌ها و مساعدت‌های ارزشمندشان در پیشبرد اهداف این رساله اعلام می‌دارم.
- استاد ارجمند، **جناب آقای دکتر رضا صابر**، برای مشاوره‌ها و کمک‌های گرانقدرشان در انجام مطالعات میکروسکوپی این پروژه اعلام می‌دارم.
- استاد ارجمند، **جناب آقای دکتر خسرو خواجه**، برای کمک‌های بی‌دریغشان در انجام مطالعات طیف‌سنجی فلورسانس و فرابنفش این پروژه اعلام می‌دارم.
- معاونت محترم پژوهشی دانشگاه، کارشناسان و همکاران گرامی در دانشکده علوم زیستی که در انجام این رساله مساعدت نمودند ، اعلام می‌دارم.
- خانواده عزیزم، خصوصا **پدر بزرگوارم** و **مادر عزیزتر از جانم** که همواره مرا در امر مهم تحصیل از آوان کودکی تا کنون حمایت و پشتیبانی نمودند، اعلام می‌دارم.

چکیده

نانوفناوری DNA رویکردی نوین برای ساخت نانوساختارهای از جنس اسیدهای نوکلئیک می‌باشد که در زمینه نانوالکترونیک کاربرد دارد. حلقه‌های ساقه‌ای، نانواتصالات، لبه‌های چسبنده و طول‌های تکرارشونده از DNA ضروری‌ترین نانوساختارها در بنا نمودن سازه‌های نانویی DNAیی هستند. واکنش تکثیر تکدمای حلقه‌ای (LAMP) فناوری پرقدرتی برای ساخت مکرر DNAهای دو زنجیره‌ای گل‌کلمی می‌باشد. این فرآیند به تولید DNAهای طویل با توالی‌های تکرارشونده منجر می‌شود که این محصولات از طریق پرایمرهای حلقه‌ای ساخته می‌شوند. در این پژوهش تصاویر میکروسکوپی تونل‌زنی روبشی DNAهای ساخته شده با روش تکثیر تکدمای حلقه‌ای که بر روی گرافیت بسیار صاف تثبیت شده نمایش داده می‌شود. در مقام مقایسه تصاویر اسکن‌های مربوط به DNA طبیعی نیز وجود دارد. تصاویر بدست آمده از STM، DNAهای طویل تکرارشونده، DNAهای ساقه حلقه‌ای و نانواتصالات سه راهی ساخته شده DNA را نشان دادند. این قبیل نانوساختارها در وسایل DNA بنیان در ابعاد نانو می‌توانند استفاده شوند. از آنجا که DNAهای گل‌کلمی، DNAهای ساقه‌ای حلقه‌ای هستند، آنها به صورت تکرارشونده از تکرار واحدهای معکوس دی‌اکسی‌ریبونوکلئیک اسید فسفات‌ها بوسیله واکنش تکثیر تکدمای حلقه‌ای شکل می‌گیرند. DNAهای گل‌کلمی، رفتار پلکانی‌شکل روی الکتروفورز ژلی از خود نشان می‌دهند و زیاد نمودن زمان LAMP به افزایش این تکرارها، حلقه-های ساقه‌ای و به تبع آن باندهای الکتروفورزی منجر می‌شود. DNAهای گل‌کلمی در واکنش LAMP با استفاده از دو پرایمر حلقه‌ای، دو پرایمر ضربه‌زننده، dNTPها، DNA الگوی فاژ لامبدا و آنزیم DNA پلیمراز Bst در بازه‌های زمانی متفاوت ساخته می‌شوند. این بازه‌های زمانی منجر به تولید انواع DNAهای گل‌کلمی با محتوای متفاوت از تکرارهای معکوس و حلقه‌های ساقه‌ای می‌شود که الگوهای الکتروفورزی قابل مقایسه‌ای را به طور واضح در ژل آگاروز ایجاد می‌نماید. DNAهای ساخته شده بوسیله LAMP و B-DNA دو زنجیره‌ای طبیعی (DNA ژنومی سالمون) پس از دیالیز در بافر گوموری و جدا شدن از نمک‌ها، نوکلئوتیدها و پرایمرهای اضافی برای انجام مطالعات اسپکتروسکوپی ماوراء بنفش، طیف‌سنجی دورنگ‌نمایی دورانی و

اسپکتروسکوپی فلورسانس مورد استفاده قرار گرفتند. آنالیزهای ساختاری DNAهای گل‌کلمی بوسیله طیف‌سنجی‌های دورنگ-نمایی دورانی و ماوراء بنفش حاکی از کاهش ضریب بیضی‌واری مولکولی و ضریب خاموشی در مقایسه با B-DNA می‌باشد. همچنین DNAهای گل‌کلمی فلورسانس ذاتی کمتر و فلورسانس خارجی بیشتری را در مقایسه با DNA طبیعی از خود نشان دادند. پیچش زیاد و طویل بودن ساختارهای گل‌کلمی DNAهای LAMP به تغییر در پارامترهای فیزیکی این نوع DNA در مقایسه با DNA طبیعی منجر می‌شود. نتایج بدست آمده، خصوصیاتی متفاوت از ماکرومولکول‌های DNA ساخته شده در یک فرآیند LAMP را معرفی نمود و نشان داد که این پدیده‌ها در اثر زیادی ساخته‌شدن تعداد این تکرارهای معکوس و حلقه‌های ساقه‌ای بوسیله طولانی شدن زمان این فرآیند می‌باشد. از سوی دیگر میکروکالریمتری نانوساختارهای ماکرومولکولی از منابع زیستی در نانوفناوری رویکرد مهمی در آنالیز ترمودینامیکی نانومواد می‌باشد. نانوساختارهای DNA گل‌کلمی نانوساختارهایی دو و سه بعدی هستند که با استفاده از واکنش تکثیر حلقه‌ای اسیدهای دی‌اکسی‌ریبونوکلئیک اسید در شرایط تکدما ساخته می‌شوند. این انواع نانوساختارهای DNA رفتاری پلکانی‌شکل در الکتروفورز ژل آگاروز دارند و اندازه‌هایشان به صورت پی‌درپی افزایش می-یابد. هر باند DNA از DNAهای گل‌کلمی در الکتروفورز ژل آگاروز مشتمل بر نوع خاصی از نانوساختارهای DNA می‌باشد و خواص ترمودینامیکی متفاوت از یکدیگر دارند. میکروکالریمتری روبشی تفاضلی DNAهای گل‌کلمی حاکی از واسرشتگی مرحله-ای (Stepwise) آنها در مقابل الگویی متعاون (Cooperative) در DNA طبیعی هستند. همچنین خصوصیات ترمودینامیکی نانوساختارهای DNA گل‌کلمی پایداری بیشتر آنها را در مقایسه با DNA طبیعی نشان دادند. بعلاوه اینکه آنالیزهای میکروکالریمتری این DNAهای ساخته شده نانویی موید آنتالپی‌های کالریمتری و وانتهوفی بالاتر بدلیل باندهای هیدروژنی بیشتر بودند که در شکل‌گیری زیرساختارهای موجود در این نانوساختارها در مقایسه با باندهای کمتر هیدروژنی در DNA طبیعی وجود دارند.

واژگان کلیدی: نانوساختارهای DNA گل‌کلمی؛ تکثیر تکدمای حلقه‌ای؛ میکروسکوپ تونل‌زنی روبشی؛ مطالعات ساختاری؛ مطالعات ترمودینامیکی

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه، مروری بر مطالعات انجام شده، اهداف رساله

۱.۱. مقدمه ۲

۲.۱. مروری بر مطالعات انجام شده ۹

۳.۱. اهداف تحقیق ۱۶

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۱.۲. ساخت نانوساختارهای DNA گل‌کلمی ۱۹

۱.۱.۲. مواد لازم برای انجام واکنش تکثیر تکدمای حلقه‌ای ۱۹

۲.۱.۲. تهیه مخلوط اصلی واکنش تکثیر تکدمای حلقه‌ای ۲۰

۳.۱.۲. آزمایش تکثیر تکدمای حلقه‌ای ۲۱

۲.۲. الکتروفورز نانوساختارهای DNA گل‌کلمی روی ژل آگارز ۲۱

۱.۲.۲. آزمایش الکتروفورز ژلی ۲۱

۲.۲.۲. رنگ‌آمیزی و تصویربرداری از ژل الکتروفورز شده ۲۲

۳.۲. مطالعه نانوساختارهای DNA گل‌کلمی با استفاده از میکروسکوپ تونل‌زنی روبشی (STM) ۲۲

۱.۳.۲. جداسازی DNAهای گل‌کلمی از ژل آگارز ۲۲

۲.۳.۲. تثبیت DNAهای گل‌کلمی و DNAی طبیعی بر روی Highly Ordered Pyrolytic Graphite ۲۳

۳.۳.۲. تثبیت DNAها روی تراشه صاف مس ۲۳

۳.۳.۲. تنظیمات دستگاه STM برای تصویربرداری از نمونه‌ها ۲۴

۴.۳.۲. نحوه پایدارسازی سیستم STM در برابر انحراف دمایی (Thermal Drift) و جابجایی نمونه‌ها ۲۸

۴.۲. مطالعات اسپکتروسکوپی DNAهای گل‌کلمی ۲۹

۱.۴.۲. آماده‌سازی DNAهای گل‌کلمی برای مطالعات اسپکتروسکوپی ۲۹

۲.۴.۲. تعیین غلظت DNAهای گل‌کلمی به روش دیش (Dische Test) ۲۹

۳.۴.۲. اسپکتروسکوپی در محدوده طول موج ماوراء بنفش..... ۳۰

۴.۴.۲. طیف‌سنجی دورنگ‌نمایی دورانی..... ۳۰

۵.۴.۲. سنجش فلورسانس ذاتی DNAهای گل‌کلمی ۳۱

۶.۴.۲. سنجش فلورسانس خارجی DNAهای گل‌کلمی ۳۲

۵.۲. میکروکالریمتری DNAهای گل‌کلمی با نانوکالریمتر روبشی تفاضلی (Nano-DSCIII) ۳۲

۶.۲. میکروکالریمتری نانوساختارهای DNA گل‌کلمی در اندازه‌های معین با نانوکالریمتر روبشی تفاضلی ۳۳

۱.۶.۲. جداسازی نانوساختارهای DNA گل‌کلمی با کوچکترین اندازه (1X)، اندازه دو برابر (2X)، اندازه ۵ برابر (5X) و اندازه ۱۰ برابر (10X) ۳۳

۲.۶.۲. تعیین توالی نانوساختارهای DNA گل‌کلمی ۳۳

۳.۶.۲. تعیین توالی DNA الگوی اولیه مورد استفاده از نانوساختارهای DNA گل‌کلمی ۳۴

۴.۶.۲. میکروکالریمتری نانوساختارهای DNA گل‌کلمی با اندازه‌های 1X، 2X، 5X و 10X ۳۵

۷.۲. تکثیر DNA با الگوی گل‌شبدری با روش تکثیری دایره‌چرخان ۳۶

۱.۷.۲. ساخت DNA گل‌شبدری با استفاده از واکنش لیگاسیون ۳۶

۲.۷.۲. الکتروفورز عمودی DNAهای گل‌شبدری و دوار با روش DPAGE ۳۸

۱.۲.۷.۲. ساخت محلول ژل پلی‌آکریل‌آمید واسرشته کننده ۳۸

۳.۷.۲. واکنش تکثیری دایره چرخان بر روی DNAهای گل‌شبدری و دوار ۳۹

فصل سوم: نتایج

۱.۳. رفتار الکتروفرزی DNAهای گل‌کلمی ساخته شده بوسیله فناوری تکثیر تکدمای حلقه‌ای ۴۳

۲.۳. ژل‌های برش خورده برای جداسازی نانوساختارهای DNA گل‌کلمی و آماده‌سازی برای STM ۴۵

۳.۳. میکروگراف‌های DNAهای گل‌کلمی کوچکتر از ۱۰۰۰ جفت‌باز روی HOPG ۴۶

۴.۳. میکروگراف‌های DNAهای گل‌کلمی بزرگتر از ۱۰۰۰ جفت‌باز روی HOPG ۴۷

۵.۳. میکروگراف‌های DNAهای گل‌کلمی روی ورقه مس ۴۸

۶.۳. میکروگراف‌های DNAهای طبیعی (خط‌کش ژنی) روی HOPG ۴۹

۷.۳. برطرف‌سازی انحراف دمایی و جابجایی اجسام در STM ۵۰

۹.۳. آزمایش دیش (Dische) و تعیین ضریب خاموشی آن برای محاسبه غلظت DNA ۵۱

۱۰.۳. جذب نوری DNAهای گل‌کلمی و DNA طبیعی در محدود ماوراء بنفش ۵۲

۱۱.۳. ضریب خاموشی DNAهای گل‌کلمی و DNA طبیعی در طول موج ۲۶۰ نانومتر ۵۲

۱۲.۳. طیف‌سنجی دورنگ‌نمایی دورانی DNAهای گل‌کلمی ۵۴

۱۳.۳. فلورسانس ذاتی DNAهای گل‌کلمی ۵۵

۱۴.۳. فلورسانس خارجی DNAهای گل‌کلمی ۵۶

۱۵.۳. میکروکالریمتری DNA ژنومی سالمون با Nano-DSCIII ۵۷

۱۶.۳. میکروکالریمتری DNAهای گل‌کلمی با Nano-DSCIII ۵۹

۱۷.۳. نانوساختارهای DNA گل‌کلمی با اندازه‌های 1X، 2X، 5X و 10X ۶۱

۱۸.۳. توالی تکرار شونده در نانوساختارهای DNA گل‌کلمی ۶۲

۱۹.۳. محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز DNA الگوی اولیه برای ساخت نانوساختارهای DNA گل‌کلمی ۶۳

۲۰.۳. توالی DNA الگوی هدفگیری شده در واکنش تکثیر تکدمای حلقه‌ای برای ساخت نانوساختارهای DNA گل‌کلمی ۶۴

۲۱.۳. میکروکالریمتری نانوساختارهای DNA گل‌کلمی 1X با استفاده از Nano-DSCIII ۶۵

۲۲.۳. میکروکالریمتری نانوساختارهای DNA گل‌کلمی 2X با استفاده از Nano-DSCIII ۷۱

۲۳.۳. میکروکالریمتری نانوساختارهای DNA گل‌کلمی 5X با استفاده از Nano-DSCIII ۷۳

۲۴.۳. میکروکالریمتری نانوساختارهای DNA گل‌کلمی 10X با استفاده از Nano-DSCIII ۷۵

۲۵.۳. پارامترهای ترمودینامیکی استخراج شده از نانوساختارهای DNA گل‌کلمی ۷۷

۲۶.۳. ساخت DNA الگوهای گل‌شبدری و دوار ۷۸

۲۷.۳. DNAهای تکثیر شده از روی DNA الگوهای گل‌شبدری و دوار با استفاده از روش RCA ۷۹

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری، پیشنهادها

۱.۴. بحث ۸۱

۲.۴. نتیجه‌گیری ۸۹

۳.۴. پیشنهادها ۹۱

مراجع ۹۲

پیوست‌ها ۱۱۱

واژه‌نامه ۱۳۴

علائم و نشانه‌ها

ΔH_{cal}: Calorimetric enthalpy

ΔH_{vH}: van't Hoff enthalpy

ΔS: Entropy

C_p: Molar heat capacity in constant pressure

C_p^{excess}: C_p after subtracing of baseline buffer

CSP: Current set point

dmol: deci mol

dNTPs: Deoxy nucleotide phosphates

ε: Extinction coefficient

θ: Molecular ellipticity

LAMP: Loop-mediated isothermal amplification

K: Kelvin

kcal: Kilo calorie

mdeg: milli degree

nA: nanoamper

nm: nanometer

PCR: Polymerase chain reaction

R: $\frac{\Delta H_{vH}}{\Delta H_{cal}}$

RCA: Rolling-circle amplification

Tm: Melting point

TMax: Temperature at maximum C_p

فهرست شکل‌ها

شکل صفحه

۱.۱. اصول واکنش تکثیری دایره چرخان (Rolling-circle Amplification) ۳

۲.۱. ساخت DNAهای گل شبدری (Cloverleaf-like DNAs) با استفاده از روش تکثیر دایره چرخان در شرایط تکدما ۴

۳.۱. ساخت نانوساختارهای متقاطع چندگانه ۵

۴.۱. واکنش تکثیر تکدمای حلقه‌ای و نحوه ساخت نانوساختارهای DNA گل‌کلمی ۷

۵.۱. شمای مولکولی DNAهای گل‌کلمی ۱۳

۱.۲. پارامترهای موجود در سیستم عامل دستگاه Nama-STM جمهوری اسلامی ایران برای کنترل شرایط اسکن و تهیه میکروگراف ۲۵

۱.۳. نتیجه الکتروفورز DNAهای گل‌کلمی ساخته شده بوسیله واکنش تکثیر تکدمای حلقه‌ای ۴۳

۲.۳. تغییر الگوی الکتروفورزی DNAهای گل‌کلمی ساخته شده در اثر افزایش زمان واکنش تکثیر تکدمای حلقه‌ای ۴۴

۳.۳. نحوه‌ی برش‌خوردگی DNAهای گل‌کلمی از روی ژل ۴۵

۴.۳. میکروگراف‌های سه بعدی (A) و دو بعدی (B) و از DNAهای گل‌کلمی کوچکتر از ۱۰۰۰ جفت باز بر روی HOPG بدست آمده با Nama-STM جمهوری اسلامی ایران ۴۶

۵.۳. میکروگراف‌های سه بعدی (A) و دو بعدی (B) از DNAهای گل‌کلمی بزرگتر از ۱۰۰۰ جفت باز بر روی HOPG بدست آمده با Nama-STM جمهوری اسلامی ایران ۴۷

۶.۳. میکروگراف‌های سه بعدی (A) و دو بعدی (B) از DNAهای گل‌کلمی روی مس بدست آمده با Nama-STM جمهوری اسلامی ایران ۴۸

۷.۳. میکروگراف‌های سه بعدی (A) و دو بعدی (B) از DNAهای طبیعی (خط‌کش ژنی) روی HOPG بدست آمده با Nama-STM جمهوری اسلامی ایران ۴۹

۸.۳. نحوه‌ی برطرف‌شدن انحراف دمایی و جابجایی اجسام زیر سوزن (Tip) نانوسکوپ ۵۰

۹.۳. اسپکتروگرام‌های بدست آمده از آزمایش دیش (Dische Test) ۵۱

۱۰.۳. منحنی استاندارد بدست آمده برای محاسبه ضریب خاموشی واکنش دیش ۵۱

۱۱.۳. طیف‌های جذب نوری DNAهای گل‌کلمی ۷۵ دقیقه‌ای (۱)، DNAهای گل‌کلمی ۹۰ دقیقه‌ای (۲) و DNA ژنومی سالمون (۳) در محدود ۲۰۰ الی ۳۰۰ نانومتر ۵۲

۱۲.۳. منحنی‌های خطی شده مربوط به محاسبه ضرایب خاموشی DNAهای گل‌کلمی ۷۵ دقیقه‌ای (۱)، DNAهای گل‌کلمی ۹۰ دقیقه‌ای (۲) و DNA طبیعی (۳) ۵۳

۱۳.۳. طیف‌های دورنگ‌نمایی دورانی DNAهای گل‌کلمی ۷۵ دقیقه‌ای (۱)، DNAهای گل‌کلمی ۹۰ دقیقه‌ای (۲) و DNA ژنومی سالمون (۳) در محدوده ۲۲۰ الی ۳۲۰ نانومتر ۵۴