



بیست و دومین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران
و هشتمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
۶ تا ۸ بهمن ماه ۱۳۹۴، دانشگاه یزد



شبیه‌سازی اندازه‌گیری غلظت قند خون بر اساس انتقال انرژی تشدید فلورسانسی

سمیرا پورجعفرآبادی، دکتر مجید تراز، دکتر علیرضا بهرامپور

دانشکده فیزیک دانشگاه شهید باهنر کرمان

چکیده- انتقال انرژی تشدید فلورسانسی یا *FRET*، یک انتقال غیر تابشی است که انرژی از یک فلوروفور برانگیخته (دهنده) به فلوروفور مجاور (گیرنده)، که در حالت پایا قرار دارد، منتقل می‌شود. این انتقال باعث خاموشی مولکول‌های دهنده شده و در عوض گیرنده فلورسانس خواهد داشت. از این پدیده می‌توان برای اندازه‌گیری غلظت آنالیت‌ها داخل بدن، مانند قند خون استفاده کرد. در این مقاله ساز و کار یک حسگر قند خون فیبر نوری مبتنی بر *FRET*، مورد بررسی قرار گرفته است. حساسیت بالای روش *FRET* در اندازه‌گیری غلظت قند خون، خطی بودن پاسخ حسگر و نمایی بودن تغییرات فلورسانسی نسبت به افزایش غلظت قند خون از نتایج این تحقیق هستند.

کلید واژه- انتقال انرژی تشدید فلورسانسی، فلوروفور، فیبر نوری، قند خون.

Simulation of measurement of glucose concentration based on fluorescence resonance energy transfer

Samira Poorjafarabadi, Dr. Majid Taraz, Dr. Alireza Bahrampoor

Faculty of Physic of Shahid Bahonar University of Kerman

Abstract- Fluorescence resonance energy transfer or FRET is an unradiative transfer, in which energy is transferred from an excited fluorophore (donor) to nearby fluorophore (acceptor), that is in the steady state. This transfer will be caused donor be quenched and instead the acceptor will be fluorescent. This phenomenon can be used to measure the analyte concentration inside the body such as glucose. In this article, mechanism of an optical fiber glucose sensor based on FRET is studied. The high sensitivity FRET methods to measure glucose, linearity of the response of sensor, exponentiality of the fluorescence changes compared to increase glucose concentration, are results of this investigation.

Keywords: Fluorescence resonance energy transfer, fluorophore, optical fiber, glucose.

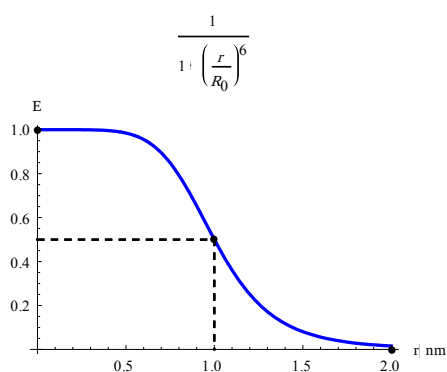
این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

۱- مقدمه

مولکول‌های مجاور هم صورت می‌گیرد و انتقال انرژی فروستر نیز نام‌گذاری شده است و به صورت رابطه (۱) قابل محاسبه است [۲]:

$$E = \frac{R_0^6}{(R_0^6 + r^6)} \quad (1)$$

در رابطه (۱)، R_0 فاصله فروستر نام دارد و متغیر r نشان دهنده فاصله بین جفت دهنده و گیرنده است. اگر $r = R_0$ نیمی از انرژی از مولکول دهنده به مولکول گیرنده منتقل می‌شود. R_0 برای هر جفت دهنده و گیرنده متفاوت است [۲ و ۱]. شکل ۱ میزان انتقال انرژی را بر حسب فاصله نمایش می‌دهد.



شکل ۱: منحنی انرژی منتقل شده از دهنده به گیرنده. در فاصله فروستر یک نانومتری، نیمی از انرژی منتقل شده است.

مطابق رابطه (۲)، انتقال انرژی فروستر از طریق ایده‌های آماری فلوئورسانسی نیز قابل محاسبه است [۳]:

$$E = 1 - \frac{I_{DA}}{I_D} \quad (2)$$

در رابطه (۲)، I_{DA} شدت فلوئورسانسی دهنده در حضور گیرنده و I_D شدت فلوئورسانسی در غیاب مولکول‌های گیرنده است. همچنین شدت نور ساطع شده از یک نمونه‌ی فلوئورسانسی و شدت نور جذب شده توسط آنالیت، به ترتیب به شکل ایده‌آل از طریق روابط (۳) و (۴)، قابل محاسبه می‌باشند [۴]:

$$I_f = I_0 \omega \frac{\Omega}{4\pi} A_T \varphi \quad (3)$$

$$I_f = I_0 e^{-acL} \quad (4)$$

دیابت شیرین بیماری غیر قابل درمانی است که تا کنون بیش از ۴۰۰ میلیون نفر در سراسر جهان، به این بیماری مبتلا شده‌اند. سهم ایران از این تعداد بیش از ۴/۵ میلیون نفر است. تنها راه مقابله با این بیماری اندازه‌گیری و کنترل مداوم سطح قند خون است. گلوکزسنج‌های قابل دسترس در بازار با سوراخ کردن انگشت و گرفتن نمونه خون عمل می‌کنند که روش بسیار دردناکی است و با توجه به این که افراد مبتلا به دیابت باید روزانه چندین بار میزان قند خون خود را اندازه‌گیری نمایند، این روش مقرون به صرفه نمی‌باشد. بنابراین وجود دستگاه پایش قند خونی که بتواند با کمترین جراحت به طور پیوسته قند خون را اندازه‌گیری نماید یکی از چالش‌های دانشمندان است.

۲- حسگرهای زیستی فلوئورسانسی قند خون

حساسیت بالا، آسیب رسانی ناچیز و نقش غیر قابل انکار فلوئورسانس در مطالعه ساختار زیست مولکول‌ها از جمله فوایدی است که دانشمندان را به فکر استفاده از فلوئورسانس در سنجش غلظت قند خون انداخت [۱]. برای ساخت یک حسگر فلوئورسانس چند فاکتور باید رعایت شود:

الف- وجود معرف‌های فلوئورسانسی که در اثر تغییر در میزان غلظت قند خون، تغییر کنند.

ب- برگشت‌پذیری و نداشتن تأخیر زمانی در ارائه پاسخ.

ج- ارائه یک پاسخ ثابت در سراسر محدوده بهره حسگر.

حسگرهای حاوی Concanavalin A، حسگرهای آنزیمی، حسگرهای مبتنی بر پروتئین اتصال گلوکز (GBP)، مشتقات برونیک اسید (BA)، استفاده از فلوئورسانس ذاتی بافت و فناوری نانو از جمله زمینه‌های فلورسانسی کار شده تا کنون است [۱].

۱-۲- انتقال انرژی تشدید فلوئورسانسی FRET

ساز و کار اکثر حسگرهای فلوئورسانسی قند خون، مبتنی بر پدیده‌ی انتقال انرژی تشدید فلوئورسانسی یا به اختصار FRET است. این پدیده به علت برهمکنش دوقطبی‌های

در روابط (۳) و (۴)، I_0 شدت نور اولیه، I_f شدت نور نهایی، ω پهنای نور منبع، Ω زاویه فضایی، α ضریب جذب، c غلظت آنالیت و L طول نمونه و φ بهره کوانتومی هستند. A_T نیز فاکتور کلی جذب نامیده می-شود که از طریق رابطه (۵) قابل محاسبه است:

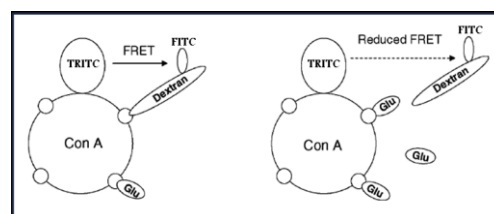
$$A_T = \frac{\Delta I}{I_0} = \int (1 - e^{-k_v L}) dV \quad (5)$$

در رابطه (۵)، k_v و L به ترتیب ضریب جذب و طول نمونه فلوئورسانسی می-باشند. در این تحقیق $\Omega = 4\pi$ ، α برابر با $0.3/0.03$ دسی لیتر بر میلی گرم بر سانتی متر و L و ω به ترتیب ۳ و 0.5 میلی متر فرض شده است.

۲-۲ حسگر زیستی قند خون حاوی

Concanavalin A

Concanavalin A یا به اختصار Con A، یک پروتئین گیاهی است که قابلیت اتصال به قندها را دارد. شکل ۲ نمایی از ساز و کار یک حسگر حاوی Con A را نمایش می-دهد.



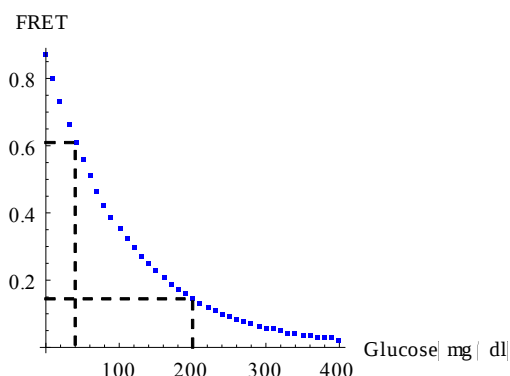
شکل ۲: نمایی از ساز و کار یک حسگر قندخون حاوی Con A. انرژی از دهنده (TRITC-Con A) به گیرنده (FITC- Dextran) منتقل می-شود [۱].

اساس کار این حسگر به این نحو است که پروتئین Con A را با رنگ فلوئورسانسی Tetramethyl- Rhodamine- Isothiocyanate (تهییج در 494 nm) یا به اختصار TRITC (تهییج در 494 nm) نانومتر، نشر در 518 nm ، $\varphi = 0.92$ ، $\text{dl} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ، $k_v = 1.80$)، و دکستران (نوعی قند ترکیبی که بر سر اتصال به Con A با قند خون رقابت می-کند) را با رنگ فلوئورسانسی Fluoresceine- Isothiocyanate یا به اختصار FITC (تهییج در 552 nm ، نشر در 578 nm ، $\varphi = 0.96$ ، $\text{dl} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ، $k_v = 1.92$) نشانه-گذاری می-شوند. مادامی که FITC- Dextran به TRITC- Con A متصل است با تابش دو نور 494 و 552

نانومتری، یکی برای تهییج و دیگری به عنوان سیگنال مرجع، بین دو رنگ انرژی تشدید فلوئورسانسی منتقل می-شود و در نتیجه سیگنال فلوئورسانسی قابل توجهی وجود نخواهد داشت. با ورود قند خون به سیستم، قند خون جایگزین FITC- Dextran شده و فاصله بین جفت رنگی FITC- TRITC افزایش می-یابد. در نتیجه FRET کاهش می-یابد و در نهایت سیگنالهای فلوئورسانسی افزایش خواهند یافت. غلظت قندخون با شدت نور خروجی رابطه مستقیم دارد یعنی هر چه غلظت قند خون بیشتر باشد، شدت نور خروجی منتشر شده از رنگهای فلوئورسانسی افزایش می-یابد [۵ و ۱]. این سیستم سنجش، می-تواند در نوک یک فیبر توخالی قرار گیرد و از فیبرهای نوری، جهت تأمین نور تهییج و دریافت سیگنالهای خروجی استفاده کرد.

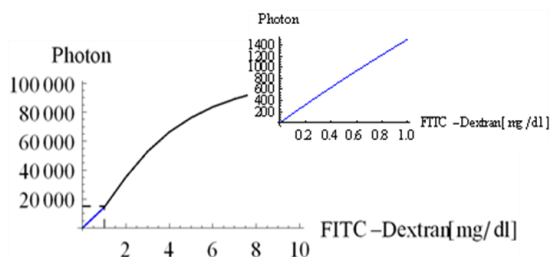
۳- شبیه سازی های سنجش قند خون

طبق روابط (۱) تا (۵)، شبیه سازی هایی با استفاده از نرم افزار ممتیکا انجام شد که نتایج در شکل های ۳ تا ۶ نمایش داده شده اند. با توجه به شکل ۳، در محدوده طبیعی غلظت قند خون ($40-200$ میلی گرم بر دسی لیتر)، FRET افت 50 درصدی دارد.



شکل ۳: شبیه سازی میزان افت FRET در حضور قند خون.

شکل ۴ نیز نحوه تغییر فاصله بین دهنده و گیرنده را با افزایش غلظت قند خون نمایش می-دهد. حضور گلوکز باعث جدایی جفت های فلوئورسانسی می-شود.



شکل ۶: حساسیت حسگر فیبر نوری.

۴- نتیجه‌گیری

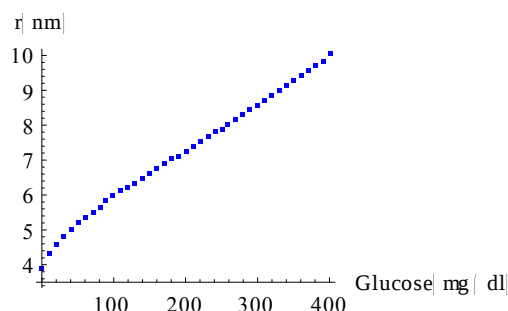
الف- روش‌های فلئورسانسی دقت بالایی برای سنجش آنالیت‌ها در داخل بدن دارند.

ب- برای سنجش بهتر باید غلظت‌های خاصی از رنگ و پروتئین گیرنده انتخاب شوند. هر چه خلوص مواد مورد استفاده بالاتر باشد، اتصالات بیولوژیکی بهتر صورت می‌پذیرد و نتایج دقیق‌تری حاصل خواهد شد.

ج- هر چه اندازه حسگر کوچک‌تر باشد اثر فیلتر داخلی و نشست مولکولی به داخل فیبر توخالی کمتر شده و دقت و عمر حسگر افزایش می‌یابد. همچنین باعث کاهش درد می‌شود.

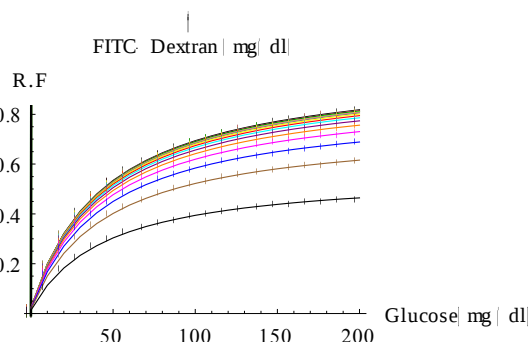
مراجع

- [1] V. V. Tuchin, *Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues*, CRC Press, (2008), Chapter 2.
- [2] L. Novotny and B. Hecht, *Principles of Nano-Optics*, Cambridge University Press, (2006), Chapter 8.
- [3] T. W. J. Gadella, *FRET and FLIM Techniques*, Elsevier, 2009, Chapter 1.
- [4] G. F. Kirkbright and M. Sargent, *Atomic Absorption and Fluorescence Spectroscopy*, Academic Press, 1974.
- [5] D.L. Meadows and J.S. Schultz, Design, manufacture and characterization of an optical fiber glucose affinity sensor based on a homogeneous fluorescence energy transfer assay system, *Analytica Chimica Acta*, Vol. 280, (1993), pp 21-30.



شکل ۴: شبیه‌سازی تغییرات فاصله بین دهنده و گیرنده به‌ازای افزایش غلظت قند خون.

شکل ۵، نحوه افزایش فلئورسانس نسبی بر حسب تغییرات قند خون، به‌ازای غلظت‌های مختلف از FITC-Dextran را نمایش می‌دهد. هر چه غلظت FITC-Dextran افزایش یابد اثر فیلتر داخلی، فرآیند دیمرزیشن و حالت اشباع بیشتر شده و سنجش قند خون سخت‌تر خواهد شد.



شکل ۵: شبیه‌سازی افزایش فلئورسانس نسبی R.F به‌ازای افزایش غلظت قند خون در غلظت‌های کمتر از ۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر از FITC-Dextran (به ترتیب از پایین به بالا، به اندازه ۰/۱ واحد به غلظت FITC-Dextran افزوده می‌شود).

از آنجا که بین رنگ و پروتئین باید یک تناسب خاص وجود داشته باشد تا حسگر به درستی کار کند بنابراین غلظت دهنده (TRITC-Con A) در شبیه‌سازی‌ها ثابت و برابر با ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است. با تغییر دادن غلظت گیرنده (FITC-Dextran) عملکرد حسگر بدست خواهد آمد. شکل ۶ تعداد فوتون‌های خروجی را بر حسب افزایش غلظت FITC-Dextran نمایش می‌دهد. برای غلظت‌های کمتر از ۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر از FITC-Dextran، پاسخ حسگر خطی خواهد بود. در نتیجه اگر با غلظت‌های کمتر از ۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در حسگر استفاده شود نتایج بهتری به دست می‌آید.