

تعیین توالی DNA با استفاده از نانومنفذ عامل دار گرافین: مطالعه دینامیک مولکولی

دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شیراز، شیراز، ایران،
 mohammadi65@gmail.com
 استادیار، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شیراز، شیراز، ایران، o.bavi@sutech.ac.ir
 دانشیار، دانشکده علوم ریاضی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، y.jamali@modares.ac.ir

محمد مهدی محمدی
امید باوی*
یوسف جمالی

چکیده

در این تحقیق امکان تعیین توالی تکرار شده DNA حین عبور از نانومنفذ عامل دار صفحات گرافینی با استفاده از شبیه سازی دینامیک مولکولی هدایت شده در سرعت ثابت بررسی شده است. جهت عامل دار کردن نانومنفذ، از اتم های هیدروژن و گروه هیدروکسیل استفاده شده است. حین عبور تک رشته DNA، نیروی مورد نیاز برای حرکت DNA به اتم فسفر ستون فقرات آن اعمال می شود و سپس تغییرات نیرو جهت تشخیص تمایز بین بازها بررسی شده است. همچنین، بروز تغییرات در زاویه صفحه باز نسبت به صفحه گرافین، که زاویه بتا نامیده می شود، حین عبور DNA از نانومنفذ بررسی شده است. نتایج نشان می دهد که با استفاده از این ساختار و بررسی پارامترهای مورد تحقیق، مولکول های سیتوزین، گوانین و تیمین با استفاده از این روش قابل تمایز هستند. این امید وجود دارد که با به خدمت گرفتن قابلیت های این روش و توجه بیشتر به پتانسیل های منحصر به فرد نانو ساختارهای حالت جامد دوبعدی، افقی نو برای طراحی نسل جدید ماشین های توالی یابی پروتئین ها در دید محققان پروژه کلان ژنوم شناسی انسانی بگشاید.

واژه های کلیدی: نانومنفذ، گرافین، توالی یابی DNA، دینامیک مولکولی هدایت شده، تمایز.

DNA Sequencing Using Functionalized Graphene Nanopore: A Molecular Dynamics Study

M. M. Mohammadi
O. Bavi
Y. Jamali

Department of Mechanical and Aerospace Engineering, Shiraz University of Technology Shiraz, Iran
 Department of Mechanical and Aerospace Engineering, Shiraz University of Technology Shiraz, Iran
 Department of Mathematics, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract

DNA translocation/sequencing through a solid-state functionalized graphene nanopore with the aid of constant velocity steered molecular dynamics simulation was studied. Hydrogen atoms and hydroxyl molecules have been used to functionalize the nanopore. Phosphorus atom of the DNA backbone has been pulled during translocation and then the pulling force variation was tracked to verify the distinction between bases. Besides, the rotation of the base plane with respect to the graphene plane, called beta angle, was also evaluated during translocation. The results show that cytosine, guanine, and thymine are distinguishable by this method. Employing the capabilities of the current method and considering the unique potentials of two-dimensional solid-state nanostructures, can shed light on the design of a new generation of protein sequencing machines for the Human Genome Project (HGP).

Keywords: DNA Sequencing, 2D Solid-State Nanostructures, Graphene Nanopores, DNA translocation.

۱- مقدمه

می آمد توانستند تا ۷۶ نوکلئوتید را تعیین توالی کنند [۲]. زمان صرف شده برای این کار بسیار زیاد بود و این نیاز به شدت احساس می شد که بازده هر کدام از مراحل کار افزایش یابد. این اتفاق با تغییراتی در مراحل انجام کار در دهه ۱۹۹۰ به وقوع پیوست. نحوه کار به شکلی بود که بین سال های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۲ هزینه تعیین توالی به ازای هر باز، ۴ مرتبه کاهش یافت [۳]. از سال ۲۰۱۲ به بعد سرعت بهبود کار به کندی پیش می رود.

اهمیت تعیین توالی^۱ رشته های DNA، به حیاتی بودن شناسایی حامل های اطلاعات وراثتی یا همان ژن ها بر می گردد. در واقع ژن ها، به صورت یک توالی خاص از نوکلئوتیدهای DNA هستند که یک پروتئین را رمزگذاری می کنند؛ با توجه به اهمیت به سزای این تعیین توالی در زیست فناوری، داروسازی، درمان و تشخیص پزشکی و مهم تر از همه، رفتارشناسی ویروس، همواره توجه بسیاری از محققان به مطالعه روش های موجود و توسعه ابزارهای دقیق تر و سریع تر معطوف شده است.

اولین تعیین توالی پروتئین، مربوط به انسولین، در سال ۱۹۵۰ توسط فرد سنگر انجام شد [۱]. برای این تعیین توالی یک تیم پنج نفره طی سه سال با یک گرم ماده خالص که از ۱۴۰ گرم مخمر به دست

1 Sequencing

* نویسنده مکاتبه کننده، آدرس پست الکترونیکی: o.bavi@sutech.ac.ir

تاریخ دریافت: ۰۰/۱۱/۰۹

تاریخ پذیرش: ۰۱/۰۵/۲۴

خطاهای موجود در روش‌های قبلی و پیچیدگی‌هایی که برای بهبود روش‌ها اضافه شده است، به تعیین توالی آن^۱ و با دقت تک‌مولکولی^۲ نیازمند است. تعیین توالی با استفاده از نانو منفذها^۳ یکی از روش‌های جدید برای رسیدن به این هدف می‌باشد. نانو منفذ، منفذی با ابعاد نانو متری است [۴]. فناوری نانو منفذها بستری بسیار مهیج است که آشکارسازهایی که در مقیاس مولکولی و حتی اتمی کار می‌کنند می‌توانند از آن استفاده کنند [۵]. ایده استفاده از نانو منفذها برای اولین بار در دهه ۱۹۸۰ مطرح شد. در اوایل کار محققین نشان دادند که تکرشته DNA یا RNA را می‌توان از یک حفره یونی در آلفا-همولیزین^۴، که به عنوان یک نانو منفذ بیولوژیکی^۵ شناخته می‌شود، عبور داد و با برقراری یک اختلاف پتانسیل در دو طرف حفره، حین عبور رشته از حفره، عبور یون‌های موجود از طریق حفره کاهش پیدا کرده و باعث کاهش جریان (یونی) می‌شود که می‌تواند روشی برای شناسایی نوکلئیک اسیدها باشد [۶]. تا قبل از کاربرد نانو منفذها روش‌های تعیین توالی مبتنی بر تکنیک‌های حاصل از شیمی تجزیه بودند.

نانو منفذ اغلب در غشاهای بیولوژیکی و غشاهای حالت جامد ایجاد می‌شود [۴]. استفاده از نانو منفذهای زیستی، مانند آلفا-همولیزین، این ایراد را دارند که مقاومت مکانیکی پایینی دارند و به دما، غلظت یون‌های محیط (نمک) و pH حساس می‌باشند [۷]. یکی دیگر از مشکلات این نانو منفذها ضخامت بالای نانو حفره‌ها می‌باشد. برای حل این مشکل از گرافین (که یک ورق کربنی با ضخامت تک اتمی است) استفاده می‌شود.

استفاده از نانو منفذهای حالت جامد^۶ بسیار مورد مطالعه قرار گرفته است [۸]. اگرچه برای تعیین توالی با استفاده از حفره‌ها پیشرفت‌های زیادی حاصل شده ولی همچنان دقت کار در حدی نیست که بتوان یک تک باز را شناسایی کرد. نانو منفذهای حالت جامد اساساً به صورت فیلم‌هایی از ترکیبات سیلیکون و اغلب از نیترات سیلیکون نیز ساخته می‌شوند. روش‌های مختلفی نیز برای ساخت نانو منفذها وجود دارد که می‌توان به ساخت با باریکه یونی^۷ و سوراخ کردن با باریکه الکترونی^۸ اشاره کرد [۹، ۱۰].

مزیت اصلی استفاده از نانو ساختارها در تعیین توالی، قابلیت بسیار بالای آنها برای عبوردهی مولکول‌ها در مقایسه با سایر فناوری‌های موجود است. فناوری‌هایی که از نانو منفذ استفاده می‌کنند و در بازار موجود می‌باشند نیازمند کار فراوان برای آماده سازی نمونه و الگوریتم‌های پیچیده برای پردازش اطلاعات هستند [۴]. وسایلی که از فناوری نانو استفاده می‌کنند، در مقایسه با سایر فناوری‌ها قابلیت حمل و جابجایی بالاتری دارند و به آسانی می‌توان آنها را از مکانی به مکان دیگر منتقل کرد [۲]. البته محدودیت نانو منفذهای حالت جامد در مقایسه با نانو منفذهای بیولوژیکی بسیار کمتر است. برای مثال می‌توان

به امکان کارکرد در دماهای بالاتر، امکان کار در دامنه ولتاژی بالاتر و سازگاری و پایداری بیشتر در محلول‌ها اشاره کرد. به علاوه می‌توان قطر آنها را در ابعاد زیر نانومتری تنظیم کرد [۱۱].

تعیین توالی با استفاده از نانو منفذها قادر به خواندن ۳۰ هزار باز تا ۲/۳ میلیون باز است [۱۲]. نسل سوم تعیین توالی که از نانو منفذها استفاده می‌کند در بعضی بسترها نقطه ضعف‌هایی دارد که باید برطرف شوند؛ می‌توان به نیاز به غلظت بالاتر نوکلئیک اسید اشاره کرد [۱۳]. علاوه بر این، مدل‌های محاسباتی مانند یادگیری ماشین^۹ نیز باید برای این تحلیل‌ها مورد استفاده قرار گیرد [۱۴]. یکی از مشکلات استفاده از گرافین به طور خاص، طبیعت آبگریز آن است. مشکل دیگر نوسانات در جهت گیری بازها حین عبور از حفره است [۱۵، ۱۶].

از میان مواد موجود برای ساخت نانو منفذ، غشای گرافینی، یکی از بهترین کاندیداها می‌باشد؛ که از دید اتمی نازک است، از فولاد مقاوم‌تر و در عین حال انعطاف‌پذیر است، قابلیت کشیده شدن دارد، شفاف است، توسط یون‌ها غیر قابل نفوذ است و قابلیت رسانایی الکتریکی آن، گرافین را به گزینه بسیار مناسبی تبدیل می‌کند [۱۷]. از آنجا که تا کنون هیچ یک از مواد مورد استفاده جهت تعیین توالی نتوانسته‌اند دقتی در حد شناسایی تک نوکلئوتید فراهم کنند، جستجو برای یافتن مواد جدید ادامه دارد. دو تا از این مواد فسفر و سیلیسن می‌باشند [۱۸، ۱۹]. هر دو ماده دارای خواصی هستند که آنها را برای شناسایی در حد تک نوکلئوتید مناسب می‌سازد [۲۰].

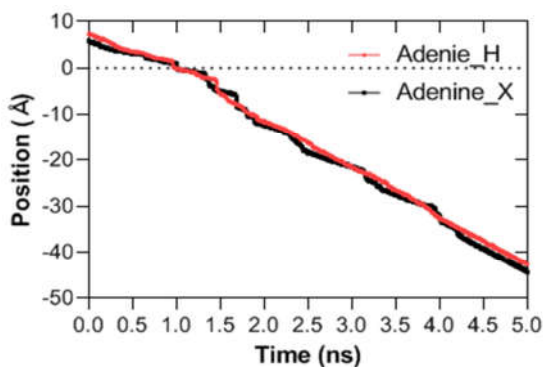
شایان ذکر است که عمده تحقیقات انجام شده جهت تعیین توالی با استفاده از گرافین، مبتنی بر روش جریان یونی بوده که به نحوی اختلاف پتانسیلی در دو طرف گرافین اعمال می‌شود و DNA تحت تاثیر این اختلاف پتانسیل از حفره موجود در گرافین عبور می‌کند. نتیجه تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که استفاده از روش جریان یونی با استفاده از گرافین جهت تعیین توالی مناسب نیست [۱۵]؛ لذا در بررسی پیش رو حرکت DNA جهت عبور از نانو منفذ با استفاده از یک فنر مجازی انجام شده است که در عمل این کشش می‌تواند توسط یک انبرک نوری یا مغناطیسی انجام پذیرد. در این تحقیق، علامه بر حرکت تک رشته DNA با استفاده از روشی متفاوت نسبت به عمده تحقیقات رایج، اتم هیدروژن و گروه هیدروکسیل به عنوان گروه عاملی در لبه نانو منفذ قرار داده شده‌اند.

۲- روش شبیه‌سازی

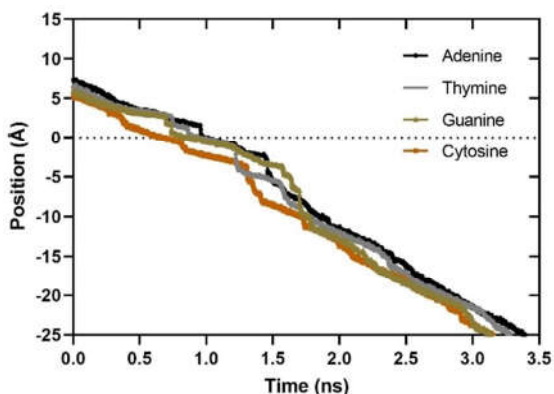
در این تحقیق مولکول DNA تک رشته توسط فنری با ثابت $1000 \text{ pN}/\text{\AA}$ با سرعت ثابت $10 \text{ \AA}/\text{ns}$ در راستای محور z کشیده می‌شود و تک‌لایه گرافین در صفحه xy قرار داده شده است. نانو منفذ مورد استفاده دارای حفره‌ای متقارن و دایره‌ای است که دلیل این انتخاب، عملکرد بهتر آن برای تعیین توالی است؛ هندسه نانو منفذ و اثرات تقارن و عدم تقارن، به علاوه اثرات عبور از گرافین چند لایه بر روی تعیین توالی، توسط ستاری فرد و همکارانش بررسی شده است [۲۱]. علاوه بر این بررسی دیگر پارامترهایی از قبیل جنس غشا، سرعت عبور و اثرات قطر حفره، توسط محققین بسیاری مورد بررسی

- 1 Real Time
- 2 Single Molecule
- 3 Nano Pore
- 4 A-Hemolysin
- 5 Biological Nanopore
- 6 Solid State Nanopores
- 7 Deploying and Sculpting With Ion Beam
- 8 Fabrication by Electron Beam

9 Machine Learning



شکل ۱- عبور تک رشته آدنین از حفره هیدروژن دار و هیدروکسیل دار. هر پرش نشان دهنده عبور یک نوکلئوتید است. بعضی از بازها به دلیل تعامل ضعیف با حفره راحت تر عبور کرده و پرشی در موقعیت اتم SMD مشاهده نمی شود.



شکل ۲- موقعیت اتم SMD حین عبور از حفره هیدروژن دار.

از دیگر کمیت‌های مهمی که برای تعیین توالی می‌توان آن را بررسی کرد، نیرویی است که طی فرایند کشش به اتم SMD وارد می‌شود و تحت عنوان نیروی SMD یا نیروی کشش SMD شناخته می‌شود. شکل‌های ۴ و ۵ به ترتیب برای حفره‌های هیدروژن دار و هیدروکسیل دار بر حسب زمان کشش رسم شده است. از آنجا که گرافین و نوکلئوتیدها همگی آبگریز هستند، مولکول DNA قبل از عبور از حفره در قسمت cis به دام می‌افتد. موقعیت cis به موقعیت مولکول‌ها قبل از عبور از حفره گفته می‌شود. با رسیدن بازها به لبه حفره نیروی فنر به طور خطی افزایش پیدا کرده و این افزایش تا جایی ادامه می‌یابد که نوکلئوتید از حفره عبور کند. بعد از عبور هر باز نیرو به شدت افت می‌کند.

از جمله نیروهایی که حین جابجایی تک رشته DNA می‌توان به آنها اشاره کرد نیروهای الکتروستاتیک، واندروالسی و نیروهای ناشی از پیوندهای هیدروژنی است که کلیه پارامترهای مربوط به این تعاملات در فایبل میدان نیرو^۲ لحاظ شده است.

قرار گرفته است [۱۱]. جهت تعیین توالی، موقعیت بازها حین فرایند کشش و نیروی وارد شده به مولکول، به علاوه جهت‌گیری باز حین عبور از حفره برای بررسی امکان تعیین توالی برای هر کدام از بازها با هم مقایسه شده است.

مدل مورد نیاز برای شبیه‌سازی توسط نرم‌افزار VMD^۱ آماده شده است. شبیه‌سازی‌ها با استفاده از نرم‌افزار NAMD انجام شده‌اند. ابعاد جعبه شبیه‌سازی ۱۱۴ × ۳۸ × ۳۸ آنگستروم مکعب در نظر گرفته شده است. انتخاب ابعاد به نحوی است که با کمترین تعداد اتم‌ها بتوان شبیه‌سازی را انجام داد، در عین حال که مرزهای سیستم و وجود لایه گرافین با توجه به شرایط مرزی متناوب اثری بر روی نتایج نداشته باشد.

برای شبیه‌سازی، ابتدا انرژی سیستم در ۳۰۰۰ گام کمینه شده و سپس تحت هنگرد NVT در دمای ۳۰۰ کلوین و زمان ۴۰۰ پیکو ثانیه به تعادل رسانده شده و بعد از آن تحت هنگرد NPT و تحت فشار ۱ اتمسفر و زمان ۲۰ نانو ثانیه تعادل رسانی ادامه داده شده است. هر تک رشته DNA شش نوکلئوتید دارد که جهت یکسان بودن شرایط شبیه‌سازی محورهای اصلی آن توسط نرم‌افزار در راستای محورهای x، y و z قرار داده شده‌اند.

۳- نتایج و بحث

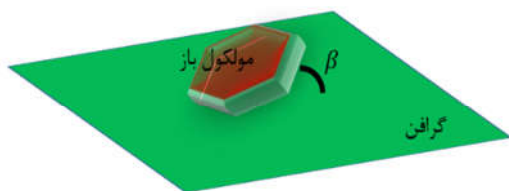
پروفایل مؤلفه z اتم SMD بر حسب زمان جهت بررسی سبک حرکت تک رشته DNA طی فرایند کشش ارائه شده است. همانطور که قبلاً ذکر شد سرعت کشش 10 \AA/ns در نظر گرفته است. این کمیت در شکل ۱ برای آدنین حین عبور از حفره هیدروژن دار نشان داده شده است، سبک حرکت تقریباً مشابه پلکانی است. در شکل‌های ۲ و ۳ موقعیت اتم SMD برای عبور DNA از حفره‌های هیدروژن دار و هیدروکسیل دار رسم شده است. نمودار عبور باز از حفره هیدروژن دار در مقایسه با حفره هیدروکسیل دار یکنواخت‌تر است؛ چرا که سطح مقطع حفره هیدروژن دار نسبتاً بزرگ‌تر است و مولکول باز راحت‌تر می‌تواند عبور کند. در واقع به دلیل تنگ‌تر شدن حفره با وجود عامل هیدروکسیل، در مقایسه با عامل هیدروژن، توقف باز قبل از عبور از حفره بیشتر است و نیروی بیشتری لازم است تا باز بتواند از حفره عبور کند. با افزایش نیرو و توقف طولانی‌تر شاهد پرش‌های بلندتر در نموداری هستیم که از حفره هیدروکسیل دار به دست آمده است. نکته حائز اهمیت دیگر این است که اندازه هر باز روی نحوه عبور و زمان عبور تأثیرگذار باشد؛ بدین صورت که هرچه اندازه باز بزرگ‌تر باشد، عبور طولانی‌تری داشته باشد و پرش بلندتری در نمودار موقعیت آن مشاهده شود، ولی چنین روندی در نمودار شکل ۳ مشاهده نمی‌شود که خود نشان می‌دهد عواملی دیگر غیر از تعاملات الکتروستاتیکی و پیوندهای هیدروژنی در رفتار بازها حین عبور تأثیرگذار است؛ مانند اثرات آب گریزی، که به نوبه خود نیازمند بررسی‌های دقیق‌تری در این زمینه است.

2 Force Field

1 Visualized Molecular Dynamics

هیدروکسیل‌دار متفاوت است؛ بدین معنی که در حفره هیدروژن‌دار حداکثر نیروی اعمالی متعلق به گوانین است، در حالی که در حفره هیدروکسیل‌دار حداکثر نیرو متعلق به تیمین می‌باشد. علاوه بر این، بیشترین اختلاف بین بیشینه نیروها در حفره هیدروژن‌دار بین گوانین و سیتوزین و در حفره هیدروکسیل‌دار بین تیمین و آدنین است. ظاهراً می‌توان از این دو عامل برای تمایز بین بازها استفاده کرد؛ بدین شکل که حفره هیدروژن‌دار گوانین را متمایز می‌کند و حفره هیدروکسیل‌دار تیمین را از سایرین متمایز می‌کند. البته باید طی تحقیقات آتی این نکته بررسی شود که گوانین با داشتن صفحه پهن‌تر، به چه دلیل در هر دو حفره هیدروژن‌دار و هیدروکسیل‌دار بیشترین نیروی SMD را به خود اختصاص نمی‌دهد.

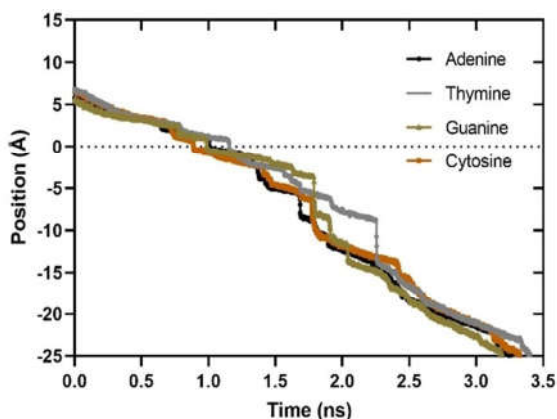
علاوه بر نیروی SMD، جهت‌گیری بازها حین عبور از حفره نیز می‌تواند رصد شود و این بررسی صورت گیرد که آیا جهت‌گیری بازها می‌تواند مشخصه تمایزی بین نوکلئوتیدهای مختلف باشد یا نه. جهت‌گیری باز بدین صورت تعریف می‌شود که زاویه بین صفحه باز و گرافین، که در اینجا صفحه xy می‌باشد، محاسبه می‌شود. تعریف زاویه بتا که جهت‌گیری بازها نسبت به صفحه گرافین را به دست می‌دهد در شکل ۶ مشخص شده است.



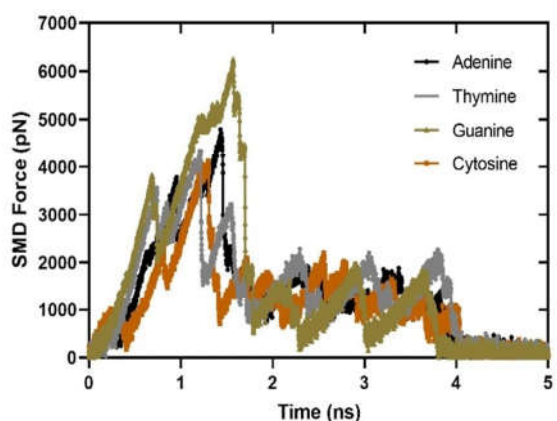
شکل ۶- انحراف صفحه مولکول باز نسبت به صفحه گرافین به عنوان زاویه بتا لحاظ می‌شود.

توزیع احتمال زاویه بتا برای حفره‌های هیدروژن‌دار و هیدروکسیل‌دار به ترتیب در شکل‌های ۷ و ۸ نشان داده شده است. مقادیر این نمودار برای میانگین سه بار تکرار و خطای SEM^۱ رسم شده است. برای حفره هیدروژن‌دار، تیمین دارای بیشترین توزیع احتمال است (جدول ۱). برای حفره هیدروکسیل‌دار مقدار بیشینه توزیع بتا متعلق به سیتوزین است. همانگونه که در بحث مربوط به موقعیت اتم SMD و نیروی SMD اشاره شد، انتظار می‌رود که گوانین که پهن‌ترین باز موجود است دارای بیشترین زاویه انحراف هنگام عبور باشد، چرا که برای عبور از حفره لازم است صفحه خود را در مقایسه با سایر بازها بیشتر بچرخاند ولی در عمل چنین اتفاقی نمی‌افتد که نیازند بررسی عمیق‌تر در تحقیقات آتی است.

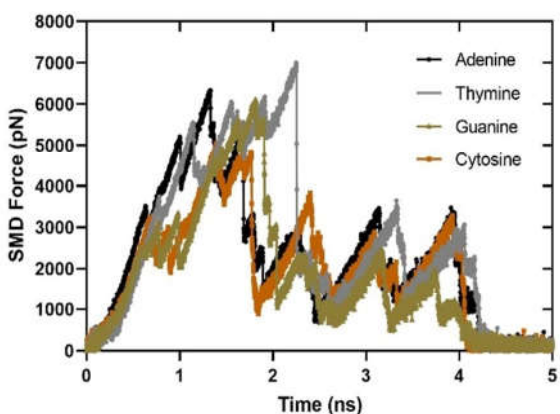
1 Standard Error of the Mean



شکل ۳- موقعیت اتم SMD هر چهار رشته حین عبور از حفره هیدروکسیل‌دار.



شکل ۴- نیروی SMD برای گرافین هیدروژن‌دار.



شکل ۵- نیروی SMD برای گرافین هیدروکسیل‌دار.

با توجه به نمودارهای نیروی کشش، جهت عبور نوکلئوتیدها از حفره هیدروکسیل‌دار نیروی بیشتری لازم است، که این مطلب می‌تواند با سطح مقطع کمتر حفره در ارتباط باشد و با نکته‌ای که درباره اتم SMD در پاراگراف‌های قبل بیان شد همخوانی دارد. نیروی SMD برای بازها حین عبور از حفره هیدروژن‌دار و

جدول ۱- مقادیر مرتبط با توزیع احتمال زاویه بتا برای بازها و دو حفره عامل دار

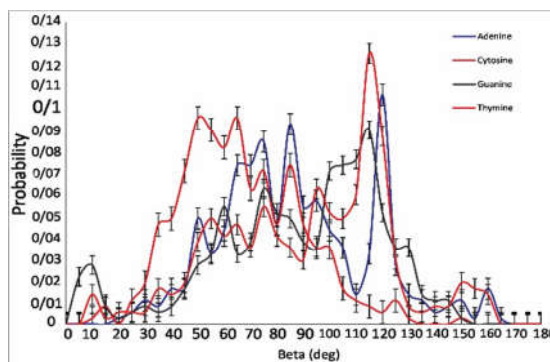
نوع باز	بیشینه احتمال حفره هیدروژن دار (درصد)	زاویه؛ حفره هیدروکسیل دار	بیشینه احتمال حفره هیدروکسیل دار (درصد)	زاویه؛ حفره هیدروکسیل دار
آدنین	۱۰/۶	۱۲۰	۱۰/۶	۶۰
سیتوزین	۹/۶	۵۰ و ۷۰	۱۴/۵	۸۰
گوانین	۹/۰	۱۱۰	۹/۶	۱۰۰ تا ۱۲۰ و ۱۶۰
تیمین	۱۲/۶	۱۱۰	۱۳/۱	۷۵

باقی مانده است.

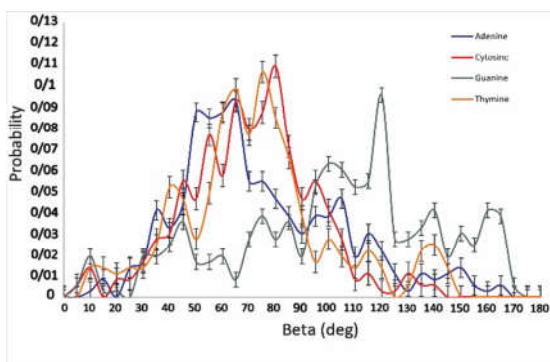
یقیناً برای یافتن تمایز بین بازهای DNA نیازمند افزایش دقت محاسبات خواهیم بود که خود نیازمند افزایش هزینه‌های محاسباتی است. استفاده از روش‌های مبتنی بر مکانیک کوانتومی اگرچه هزینه‌بر هستند، ولی می‌تواند راهگشای این مسئله باشد و استفاده از روش‌های رایج را تعیین تکلیف کند که آیا این روش‌ها می‌توانند برای رسیدن به تمایز آشکار امیدوار باشند یا نه. البته استفاده از موادی غیر از گرافین نیز در حال بررسی است و امیدواری‌هایی هم وجود دارد، ولی همچنان راه حل قطعی کار نیستند.

۵- مراجع

- [1] Sanger F. Sequences, sequences, and sequences. Annual review of biochemistry; Vol. 57, No. 1, pp. 1-29, 1988.
- [2] Shendure J, Balasubramanian S, Church GM, Gilbert W, Rogers J, Schloss JA, et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. Nature; Vol. 55, No. 7676, pp. 345-353, 2017.
- [3] Wetterstrand KA. DNA sequencing costs: data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP). 2013.
- [4] Hasnain MJU, Afzal B, Anwar T, Pervez MT, Hussain T. 2. A review on nanopore sequencing technology, its applications and challenges. Pure and Applied Biology (PAB); Vol. 9, No. 1, pp. 154-161, 2020.
- [5] Garalde DR, Snell EA, Jachimowicz D, Sipos B, Lloyd JH, Bruce M, et al. Highly parallel direct RNA sequencing on an array of nanopores. Nature methods; Vol. 15, No. 3, pp. 201-206, 2018.
- [6] Kasianowicz JJ, Brandin E, Branton D, Deamer DW. Characterization of individual polynucleotide molecules using a membrane channel. Proceedings of the National Academy of Sciences; Vol. 93, No. 24, pp. 13770-13773, 1996.
- [7] Yu Y-s, Lu X, Ding H-m, Ma Y-q. Computational investigation on DNA sequencing using functionalized graphene nanopores. Physical Chemistry Chemical Physics; Vol. 20, No. 14, pp. 9063-9069, 2018.
- [8] Wells DB, Belkin M, Comer J, Aksimentiev A. Assessing graphene nanopores for sequencing DNA. Nano letters; Vol. 12, No. 8, pp. 4117-4123, 2012.
- [9] Bayley H. Piercing insights. Nature; Vol. 459, No. 7247, pp. 651-652, 2009.
- [10] Mohammadi MM, Bavi O. DNA sequencing: an overview of solid-state and biological nanopore-based methods. Biophysical Reviews; Vol. 14, No. 1, pp. 99-110, 2022.
- [11] Yuan Z, Liu Y, Dai M, Yi X, Wang C. Controlling DNA translocation through solid-state nanopores. Nanoscale research letters; Vol. 15, No. 1, pp. 1-9, 2020.
- [12] Amarasinghe SL, Su S, Dong X, Zappia L, Ritchie ME, Gouil Q. Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. Genome biology; Vol. 21, No. 1, pp. 1-16, 2020.
- [13] Feng Z, Clemente JC, Wong B, Schadt EE. Detecting and phasing minor single-nucleotide variants from long-read



شکل ۷- توزیع احتمال زاویه بتا برای چهار باز حین عبور از حفره هیدروژن دار. مقادیر نمودار برای میانگین سه بار تکرار و خطای SEM رسم شده است.



شکل ۸- توزیع احتمال زاویه بتا برای چهار باز حین عبور از حفره هیدروکسیل دار. مقادیر نمودار برای میانگین سه بار تکرار و خطای SEM رسم شده است.

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش به مطالعه تعیین توالی DNA با استفاده از نانومندگ عامل دار گرافین پرداخته شده است. برای این منظور شبیه‌سازی دینامیک مولکولی هدایت شده با سرعت ثابت مورد استفاده قرار گرفته است. پارامترهایی از قبیل نیروی کشش و توزیع انحراف بازها حین عبور از حفره جهت تمایز بین آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است. بررسی نیروی کشش در حفره هیدروژن دار باعث تمایز گوانین می‌شود و بررسی همین پارامتر در حفره هیدروکسیل دار باعث متمایز شدن تیمین می‌گردد. به علاوه با بررسی توزیع زاویه انحراف بازها حین عبور از حفره هیدروژن دار، تیمین و در حفره هیدروکسیل دار سیتوزین قابل شناسایی می‌باشند. لازم به ذکر است که آدنین همچنان بدون تمایز

- sequencing data. *Nature communications*; Vol. 12, No. 1, pp. 1-13, 2021.
- [14] Bobrovskikh AV, Doroshkov A, Mazzoleni S, Carteni F, Giannino F, Zubairova U. A sight on single-cell transcriptomics in plants through the prism of cell-based computational modeling approaches: benefits and challenges for data analysis. *Frontiers in Genetics*; Vol. 12, No., pp. 771, 2021.
- [15] Henry MB, Tumbapo M, Tayo BO. Identification of DNA bases using nanopores created in finite-size nanoribbons from graphene, phosphorene, and silicene. *AIP Advances*; Vol. 11, No. 3, pp. 35-47, 2021.
- [16] Graf M, Lihter M, Altus D, Marion S, Radenovic A. Transverse detection of DNA using a MoS2 nanopore. *Nano letters*; Vol. 19, No. 12, pp. 9075-9083, 2019.
- [17] Heerema SJ, Dekker C. Graphene nanodevices for DNA sequencing. *Nature nanotechnology*; Vol. 1, No. 2, pp. 127-136, 2016.
- [18] Jose D, Datta A. Structures and chemical properties of silicene: unlike graphene. *Accounts of chemical research*; Vol. 47, No. 2, pp. 593-602, 2014.
- [19] Zereszki P, Wei Y, Ceballos F, Bellus MZ, Lane SD, Pan S, et al. Photocarrier dynamics in monolayer phosphorene and bulk black phosphorus. *Nanoscale*; Vol. 10, No. 24, pp. 11307-11313, 2018.
- [20] Chen Y, Ren R, Pu H, Chang J, Mao S, Chen J. Field-effect transistor biosensors with two-dimensional black phosphorus nanosheets. *Biosensors and Bioelectronics*; Vol. 89, No., pp. 505-510, 2017.
- [21] Satarifard V, Foroutan M, Ejtehadi MR. How effective is graphene nanopore geometry on DNA sequencing? *arXiv preprint arXiv:150102169*; Vol., No., pp., 2015.