

## مطالعه تاثیر pH محیط در پدیده رونویسی ژن: طیف مولتی فرکتال

### چکیده

**اهداف:** عملکرد و رفتار سلول‌ها به بیان ژن بستگی دارد که فرآیند اصلی زندگی است. با این حال، مدل‌های بیان ژن باید عوامل محیطی را بهتر در نظر بگیرند. این مطالعه مدل جدیدی را معرفی می‌کند که تأثیر pH را بر تنظیم و کنترل بیان ژن در خود جای می‌دهد.

**مواد و روش‌ها:** این مدل برای داده‌های بیان ژن اعمال شد. این سیستم با استفاده از طیف چندفرکتال، که غیرخطی بودن بیان ژن را نشان می‌دهد، آنالیز شد.

**یافته‌ها:** تجزیه و تحلیل نشان داد که بیان ژن به PH اسیدی و قلیایی پاسخ متفاوتی می‌دهد. همچنین نشان داد که سطوح کمتر mRNA مربوط به ثبات سیستم بالاتر است.

**نتیجه‌گیری:** برای یافتن کمترین و بالاترین سطح رونویسی از شرایط داخلی و خارجی سلول استفاده شد.

فاطمه نعمتی<sup>1</sup>  
سهراب بهنیا<sup>1\*</sup>  
الهه جوانشور<sup>1</sup>  
مهدی بهرامی<sup>1</sup>

1. دانشکده فیزیک، دانشگاه صنعتی ارومیه.

نویسنده مسئول: سهراب بهنیا

پست الکترونیکی:

s.behnia@sci.uut.ac.ir  
Fateme.nemati.1988@gmail.com

**واژگان کلیدی:** بیان ژن، pH محیط، آشوب، طیف مولتی فرکتال، یونیزاسیون

## مقدمه

یونیزاسیون فرآیند حذف یک یا چند الکترون از یک اتم یا مولکول است. عمل یونیزاسیون می‌تواند توسط لیزر انجام شود. میدان الکتریکی تولیدشده توسط لیزر، می‌تواند اسیدیته داخل سلول را با القای قطبش مولکول‌ها و کاهش تفکیک آب به  $H^+$  و  $OH^-$  کاهش دهد [1]. لذا pH درون سلولی تغییر می‌کند. pH، اندازه‌گیری اسیدیته یا قلیایی بودن محلول است. موجودات مختلف سطوح pH بهینه متفاوتی برای بقا و عملکرد خود دارند [2]. برخی از ارگانیسم‌ها، می‌توانند بیان ژن خود را در پاسخ به تغییرات pH تنظیم کنند، مانند باکتری‌هایی که باعث عفونت یا نیترازدایی می‌شوند [3]. تنظیم بیان ژن از طریق pH، کاربردهای کشاورزی و پزشکی زیادی دارد، از جمله دیالیز صفاقی [4]، تولید پنی‌سیلین [5]، تولید پنی‌سیلین و سفالوسپورین [6]، تولید آنتوسیانین [7]، بهبود کشت زغال اخته در حالت غیراسیدی، خاک (نیاز کمتر به اصلاح و کوددهی خاک) [8]، بهبود تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی، شوری و گرما [9, 10]، افزایش مقاومت گیاه در برابر پاتوژن‌های قارچی [11]، تولید متابولیت‌ها [12]، تولید پروتئازهای خارج سلولی [13]، موارد ذکر شده اهمیت pH را در تنظیم بیان ژن نشان می‌دهند. سطوح pH بخش‌های مختلف بدن، از جمله مایعات بدن، معده، پوست و مغز، نقش مهمی در حفظ عملکرد فیزیولوژیکی مناسب و سلامت کلی ایفا می‌کند. درک روابط پیچیده بین تنظیم pH و سیستم بدن، می‌تواند بینش‌های ارزشمندی را در مورد پاتوفیزیولوژی عدم تعادل اسید - باز و اختلالات مرتبط ارائه دهد، به‌عنوان مثال محدوده pH در یک کبد سالم 7.35 تا 7.45 است و هر تغییری در آن منجر به هیپاتیت، سرطان کبد، بیماری‌های نارسایی کبد [14]، سیروز می‌شود. نویسندگان در مرجع [15] دریافتند که 630 ژن تنظیم‌شده و 586 ژن به‌دنبال تیمار اسیدی در pH 4.5 کاهش یافته‌اند و برخی از این تغییرات پس از بازگشت به pH خنثی برگشت‌پذیر هستند. بنابراین، می‌توان پدیده بیان ژن را با تغییر pH محیطی کنترل و تنظیم کرد.

شون میکر<sup>1</sup> و همکاران پیشنهاد می‌کنند که بهینه‌سازی pH برای پایداری واکسن mRNA مهم است، زیرا mRNA در یک محیط ضعیف پایه پایدارتر است [16].

در مرجع [17]، نویسنده نشان می‌دهد که E.coli می‌تواند در محدوده وسیعی از pH، از pH 4.5 تا pH 9 در دستگاه گوارش انسان رشد کند. با این حال، نمی‌تواند در pH 3.7 یا در حضور غلظت‌های بالای اسید لاکتیک جدا نشده، رشد کند

پدیده بیان ژن (رونویسی و ترجمه ژن) برخی از ژن‌ها (به غیر از ژن‌های کدکننده محصولات کابردی موثر در حیات سلول) به عامل‌های محیطی از جمله pH، وابسته است [18]. نوع سلولی که برای بیان ژن مورد مطالعه قرار می‌گیرد بسیار مهم است. به‌عنوان مثال، یک سلول انسانی و یک سلول باکتری، بیان ژن و عملکردهای تنظیم متفاوتی تحت تغییرات محیطی دارند.

با توجه به اینکه بعد از مطالعه دینامیک پدیده بیان ژن، مبحث کنترل مطرح می‌شود. اعمال نور لیزر می‌تواند pH درون سلولی را تغییر دهد. نور لیزر می‌تواند با تغییر مستقیم غلظت پروتون [19]، [20] یا تأثیر غیرمستقیم بر فعالیت پروتئین‌های تنظیم‌کننده pH، مانند کانال‌های یونی و پمپ‌ها، بر تغییر pH سلول تأثیر بگذارد [21]. لذا امکان کنترل پدیده فوق میسر می‌شود. در مطالعه حاضر، به‌منظور اینکه تأثیر لیزر بررسی شود، از بخش الکتریکی میدان لیزر استفاده می‌شود. تاکنون مطالعات تجربی متعددی در زمینه تأثیر میدان الکتریکی بر فرآیندهای بیولوژیک اعم از انتقال یون، انتقال سیگنال، چرخه سلولی، تمایز سلولی و بیان ژن صورت گرفته است. یکی از اولین مطالعات در مورد تأثیر میدان الکتریکی بر بیان ژن توسط Nuccitelli و همکارانش در سال 1988 انجام شد، نشان دادند که یک میدان الکتریکی جریان مستقیم ضعیف می‌تواند بیان c-fos، یک پروتئوآنکوژن، را در فیروبلاست‌های موش القا کند [22]. در مطالعه‌ای دیگر، مشخص گردید تأثیر میدان الکتریکی بر بیان ژن، عمدتاً به مدولاسیون سیستم رونویسی NF-kB مربوط می‌شود [23]. مطالعه پروفایل‌های بیان ژن سلولی تحت تأثیر میدان‌های

1. Maker

$$\begin{aligned} \frac{dm(t)}{dt} &= \alpha_m \frac{f(pH)}{1 + \left(\frac{p(t-\tau)}{p_0}\right)^n} - (\mu_m - \xi)m(t) \\ \frac{dP(t)}{dt} &= \alpha_p m(t) - \mu_p P(t) \\ \dot{\xi} &= \frac{1}{Q} \left[ \left(\frac{dm}{dt}\right)^2 - K_\beta T \right] \end{aligned} \quad (1)$$

که در معادله 1،  $m(t)$  بیانگر سطح mRNA است که بر مبنای تعداد مولکول‌ها در واحد سلول اندازه‌گیری می‌شود. همچنین،  $\mu_m$  (نرخ تخریب mRNA)،  $\mu_p$  (نرخ تخریب پروتئین)،  $\alpha_m = 2(\text{min}^{-1})$  (نرخ تولید mRNA)،  $\alpha_p = 1(\text{min}^{-1})$  (نرخ تولید پروتئین)،  $\tau = 18.5(\text{min})$  (نرخ تاخیر در مرحله رونویسی [27])،  $Q = 10^3$  جرم موثر ترموستات نوز - هور،  $T$  دما بر حسب کلوین و  $K_\beta$  ثابت بولتزمن می‌باشد [28].

با توجه به دانش ما، دو مدل برای مدل‌سازی اثر pH بر پدیده بیولوژیکی ارائه شده است. هاوس و همکارانش [29]، مدلی را بر اساس تفاوت بین pH آستانه و تغییر pH محیطی پیشنهاد کردند که بر بیان ژن تأثیر می‌گذارد، اما ادعان داشتند که آزمایش‌ها و داده‌های بیشتری برای بهبود مدل برای درک تعاملات پیچیده بین pH و تنظیم ژن. متابولیسم و اسپورزایی در باکتری مورد نیاز است. مدل مطرح دیگری مبتنی بر pH حلال، در مدل پیارد - بیشاپ - داکسیوس به‌منظور بررسی اثر pH بر نوسانات DNA است [30]. در این مطالعه، مدل‌سازی جدیدی برای اعمال تأثیر pH محیطی از طریق انطباق با نتایج تجربی معرفی می‌گردد:

$$\begin{aligned} f(pH) &= g(pH) + h(pH) \\ g(pH) &= 3.4 \sin\left(\frac{7.8pH + 3.5}{2}\right) \cos\left(\frac{-6.7pH + 5.5}{2}\right) \\ h(pH) &= 2.2 \sin\left(\frac{3.5pH + 4}{2}\right) \cos\left(\frac{-2.3pH + 13}{2}\right) \end{aligned} \quad (2)$$

الکتریکی برون‌زا نشان داد که فرکانس در تأثیرگذاری بر بیان ژن سلول‌های اندوتلیال<sup>2</sup> انسانی مهمتر از ولتاژ است [24]. با استفاده از تجزیه و تحلیل پروتئومی نشان داده شده است که میدان الکتریکی پالسی می‌تواند بیان 175 پروتئین را در E.coli تغییر دهد، که عمدتاً در یکپارچگی غشاء، پاسخ استرس و متابولیسم نقش دارند [25]. E.coli یک بی‌هوازی گرم منفی، میله‌ای شکل است، به این معنی که می‌تواند با یا بدون اکسیژن رشد کند [26]. همچنین یک ارگانسیم نمونه پرکاربرد در بیوتکنولوژی و میکروبیولوژی است، زیرا می‌توان آن را به راحتی در آزمایشگاه کشت و دستکاری کرد

مدل‌سازی پدیده بیان ژن نسبت به pH، در راستای انطباق بهتر نتایج نظری با نتایج تجربی از اهمیت بالایی برخوردار است (در بخش 2، مفصل بیان می‌گردد). با توجه به طبیعت غیرخطی بیان ژن، از رهیافت آشوب به منظور تحلیل دینامیک سیستم استفاده می‌گردد (در بخش مدل‌سازی توصیف می‌شود). در این مطالعه، در بخش 2، مدل‌سازی ریاضی پدیده بیان ژن در حضور عوامل محیطی معرفی گردیده و روش‌های تحلیل پدیده توصیف می‌شود. در بخش 3، به توصیف نتایج پرداخته می‌شود و در بخش 4، نتیجه‌گیری و جمع‌بندی ارائه می‌شود.

## 2. مدل‌سازی ریاضی

در بخش مدل‌سازی، به توصیف مدل تصحیح‌شده بیان ژن نسبت به عوامل محیطی (دما و pH محیط و میدان الکتریکی) پرداخته خواهد شد. سپس به بیان روش‌های تحلیل پایداری (ضریب تغییرات و طیف مولتی فرکانس) خواهیم پرداخت.

### 1-2. pH و دمای محیط

از نقطه نظر بیولوژیکی، پدیده‌های بیولوژیک اعم از بیان ژن تحت تأثیر تاخیر زمانی قرار می‌گیرد، لذا در این مطالعه از مدل مونک [27] تصحیح‌یافته نسبت به دما [28] و pH محیط برای مدل‌سازی پدیده بیان ژن استفاده می‌گردد. که به صورت زیر معرفی می‌گردد:

## 2-2. میدان الکتریکی

فوتون لیزری از دو میدان الکتریکی و مغناطیسی عمود بر هم تشکیل شده است. در مطالعه حاضر به توجه به اینکه تاثیر بخش مغناطیسی در مقایسه با تاثیر بخش الکتریکی قابل صرف نظر کردن است (باتوجه به رابطه  $B = \frac{E}{c}$ )، از بخش الکتریکی میدان نوری لیزر جهت مدل سازی استفاده می گردد [31]:

$$\frac{dE}{dt} = k * mRNA + E_{ext} \quad (3)$$

$$E_{ext} = E_0 c \cos(\omega t)$$

که در معادله 3،  $E_0$ ،  $\omega$ ،  $k$  معرف فرکانس، دامنه میدان الکتریکی و خاصیت پلاریزاسیون معرفی شده است. عبارت  $rE$  در معادله 1، به  $\frac{dm}{dt}$  اضافه می گردد. که  $r = 0.01$  یک ضریب تاثیر می باشد.

## 3-2. ضریب تغییرات

آیری<sup>3</sup> و همکارانش [32]، پایداری را به عنوان درجه ای از حفظ سطح بیان ژن یا مرحله رشد در طول زمان در یک شرایط ژنتیکی و محیطی خاص تعریف می کنند. ویناس<sup>4</sup> و همکارانش [33] نحوه محاسبه مقدار پایداری بیان ژن را با استفاده از روش های مختلف توصیف می کنند، که ما از ضریب تغییرات سطح بیان ژن استفاده می کنیم. CV به عنوان نسبت انحراف استاندارد به میانگین سطح بیان ژن تعریف می شود (طبق معادله 4). به عبارتی با بدست آوردن سری زمانی به ازای مقادیر معین پارامتری، مقدار CV محاسبه می گردد.

$$CV = \frac{\sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}}{\bar{x}} \quad (4)$$

که در آن  $\bar{x}$ ، میانگین داده های mRNA می باشد.

به این معنی است که هیچ تغییری در داده ها وجود ندارد و همه مقادیر برابر با میانگین هستند. CV، نزدیک به 0 به این معنی است که

تنوع کمی در داده ها وجود دارد و سیستم به پایداری تمایل دارد. CV، نزدیک به 1 به این معنی است که داده ها دارای تنوع بالایی هستند و سیستم به ناپایداری تمایل دارد. CV بیشتر از 1 به این معنی است که تنوع بسیار بالایی در داده ها وجود دارد و سیستم ناپایدار است.

## 4-2. طیف مولتی فرکتال

$(\alpha)$  طیف چندفرکتالی است که در آن  $\alpha$  شاخص تکینگی نامیده می شود و پارامتری است که برای توصیف قدرت تکینگی موضعی یک اندازه گیری احتمال، استفاده می شود.  $(\alpha)$  در معنای فیزیکی آن را می توان به سادگی به عنوان بعد فراکتال مجموعه ای با همان مقدار  $\alpha$  درک کرد. برای یک تصویر فراکتال پیچیده، یک سری زیرمجموعه دارد که با مقادیر  $\alpha$  مختلف در داخل آن نمایش داده می شود، و زیرمجموعه های مختلف دارای بعد فراکتال مربوطه خواهند بود. این شاخص های تکینگی  $\alpha$  و  $f(\alpha)$  مربوط به آنها، سپس طیفی از ابعاد را تشکیل می دهند که ویژگی های فراکتال های چندگانه را توصیف می کنند، یعنی طیف چندفرکتالی [34]. مشاهده می شود  $\Delta\alpha$  معرف قدرت درجه چندفرکتالی است [35]. با فرم استاندارد چندفرکتالی، توان مقیاس بندی می تواند چندفرکتالیته را، توسط رابطه 5 توصیف کند:

$$\tau(q) = qh(q) - 1 \quad (5)$$

قدرت چندفرکتالی با رابطه غیرخطی بین  $\tau(q)$  و  $q$  مشاهده می شود. اگر آنها یک رابطه خطی داشته باشند، سیستم تکفرکتال است. از طرفی با استفاده از تابع تبدیل لوژاندر، رابطه بین توان مقیاس بندی و طیف تکینگی به صورت زیر استخراج می شود:

$$f(\alpha) = q\alpha - \tau(q) \quad (6)$$

## 3. بحث و نتیجه گیری

ژن های تاثیرپذیر از pH محیط را می توان به دو دسته تقسیم کرد: ژن های القاء شده با اسید (I) و ژن های القاء شده با قلیا (II). براین اساس، می توانیم منطقه مورد مطالعه را به دو قسمت تقسیم کنیم

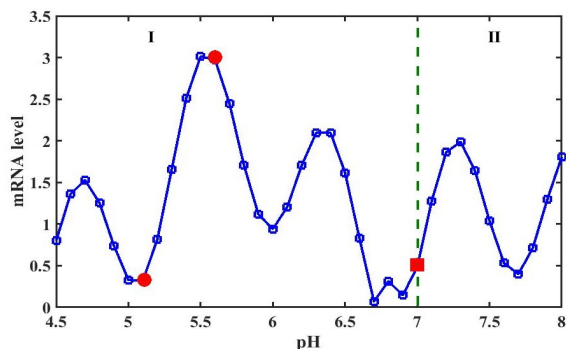
3. Irie

4. Vinas

اهمیت نرخ تخریب mRNA و نرخ تخریب پروتئین به عنوان دو عامل درون سلولی مهم در تنظیم پدیده بیان ژن، در کار قبلی [28] نشان داده شده است. در مطالعه حاضر، با در نظر گرفتن تاثیر pH، نتایج پیشین تصحیح و به نتایج تجربی نزدیک تر می گردد. شکل 2 (الف) محدوده سطوح mRNA را بدون در نظر گرفتن pH محیط نشان می دهد، در حالی که شکل 2 (ب) اثر pH 4.5 را بر سطح mRNA نشان می دهد. pH تاثیر قابل توجهی در تشکیل مناطق با حداکثر و حداقل سطوح mRNA دارد. همان طور که در شکل 2 (الف) مشاهده می شود، نواحی با بالاترین سطح mRNA در  $\mu\text{m}$  کمتر از 0.15 تشکیل می شوند. باین حال، با اعمال pH، این مناطق به محدوده کمتر از 0.1 محدود می شوند. این بدان معناست که محدوده  $\mu\text{m}$  که اجازه بیان ژن را می دهد، در دمای 285 کلوین و pH 4.5 باریک تر می شود. تقریباً در هر  $\mu\text{m}$  ثابت، با افزایش رفتار شبه تناوبی مشاهده می شود. سطح بیان برخی از ژن ها با فرکانس مشخص یا ترکیبی از فرکانس ها در نوسان است، اما نه با یک دوره ثابت [41]. این می تواند توسط عوامل مختلفی مانند نویز، حلقه های بازخورد، تاخیر زمانی یا محرک های خارجی ایجاد شود [42]. از طرفی با توجه به شکل 2، در  $\mu\text{m}$  بین بالاتر 0.1 و  $\mu\text{m}$  بین 0.15 تا 0.2 شاهد تغییر محدوده ای با رنگ آبی روشن به آبی تیره هستیم، همچنین محدوده ای با سطح بالای mRNA، یک جابجایی منطقه ای را تجربه می کند نتایج مربوط به مولفه شدت میدان الکتریکی لیزر در پدیده بیان ژن، در شکل 2 (ج) و شکل 3 بیان می گردد. در شکل 2 (ج)، با اعمال میدان الکتریکی علاوه بر اینکه شاهد جابجایی ماکزیمم و مینییمم سطح mRNA هستیم، سطح پایین mRNA، غالب خواهد بود. لذا امکان کنترل پدیده رونویسی ژن میسر می گردد. لذا امکان کنترل پدیده رونویسی ژن میسر می گردد. همچنین رفتار شبه پرودیگ مشابه با حال الف و ب نیز مشاهده می شود.

(شکل 1 را ببینید). تاکر<sup>5</sup> و همکارانش با مقایسه سطح بیان ژن E.coli نشان داد که E.coli در pH 5.5 دارای سطح بیان بالاتری نسبت به pH 5 و pH 7.4 است که در شکل 1 تایید شده است [36]. پالسون و همکارانش [37]، نشان دادند که در pH 5.5 در مقایسه با pH 7، E.coli، ژن ها و مسیرهای بیشتری را برای مقابله با استرس اسیدی فعال می کند که به pH بهینه برای رشد E.coli نزدیک تر است. مشاهده می شود که نتایج مدل سازی مطرح در مطالعه فوق با یافته های محققان پیشین، مطابقت دارد. محققان با مقایسه اثر pH 6.5 و pH 7.5 بر رشد E.coli، دریافتند که pH 6.5 برای رشد سلولی و بیان پروتئین در محیط حاوی استات مناسب تر از pH 7.5 است [38].

ژانو<sup>6</sup> و همکارانش [39]، pH 4.5 می تواند سیستم پاسخ تحمل اسید را در E.coli القا کند، که با افزایش تولید اسیدهای چرب غیراشباع و بهبود pH داخل سلولی، باکتری ها را قادر می سازد در شرایط اسیدی متوسط رشد کنند. در مطالعه ای [40]، محققان نشان می دهند که pH 4.5 می تواند نرخ رونویسی mRNA برخی از ژن های دخیل در متابولیسم گالاکتوز را با تأثیر بر ساختار کروماتین و تخریب RNA کاهش دهد. لذا pH 4.5، برا مطالعات بعدی انتخاب شد.

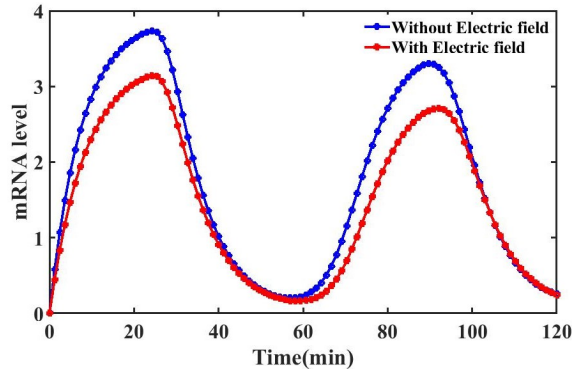


شکل 1. سطح mRNA نسبت به تاثیر pH به ازای  $\tau = 18.5(\text{min})$ ،  $T = 285(K)$  و  $n = 4$ ،  $P_0 = 40$ ،  $\mu_m = 0.12$ ،  $\mu_p = 0.1$  نقاط مشخص شده با دایره [36] و مربع [37] منطبق بر نقاط تجربی برای E.coil هستند.

5. Toker

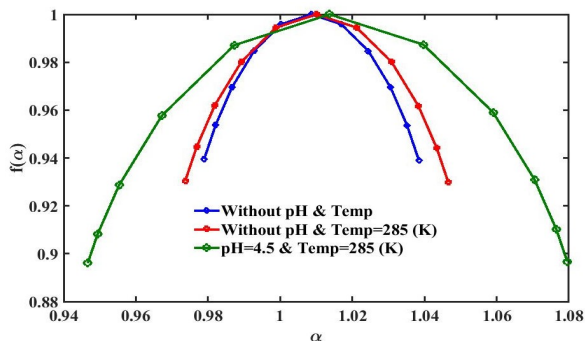
6. Zhao

انتخابی اسیدی تر شدن محیط تاثیر متفاوتی در بیان ژن مربوطه می گذارد. همان طور که قبلاً ادعان شد، ژن ها از منظر پاسخ به pH محیطی به دو دسته تقسیم می شوند.



شکل 3. سطح mRNA نسبت زمان با وجود و عدم وجود میدان الکتریکی ( $E_0 = 0.5$ ,  $K = 15$ ,  $\omega = 5$ )

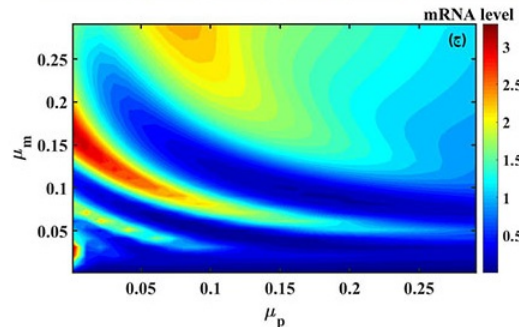
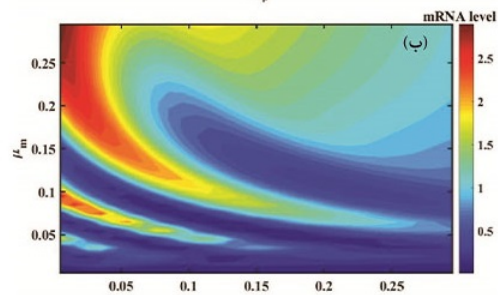
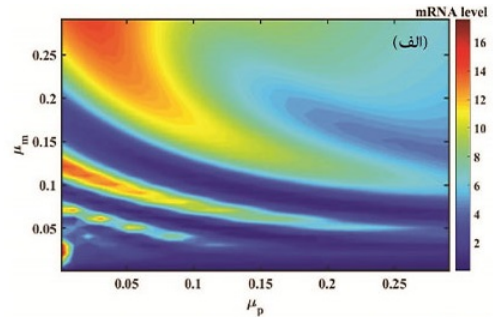
در شکل 2 (ب)، مقدار CV، 1.05، برای  $\mu_p < 0.1$  و  $\mu_m < 0.1$  (بلوک اول)، 0.847، برای  $\mu_m > 0.1$  و  $\mu_p < 0.1$  (بلوک دوم)، 0.425، برای  $\mu_m > 0.1$  و  $\mu_p > 0.1$  (بلوک سوم) و 0.331 برای  $\mu_m < 0.1$  و  $\mu_p > 0.1$  (بلوک چهارم) می باشد. بنابراین، بلوک اول ناپایدار و بلوک چهارم پایدار است. لذا با مقایسه بین دو شکل 2 الف با شکل 2 ب، مشخص می گردد که اعمال pH 4.5 سبب تمایل سیستم به پایداری می شود.



شکل 4. طیف مولتی فرکتال

$\tau = 18.5(\text{min})$ ,  $\mu_p = 0.1$ ,  $\mu_m = 0.12$ ,  $P_0 = 40$ ,  $n = 4$  و

$$T = 285(K)$$



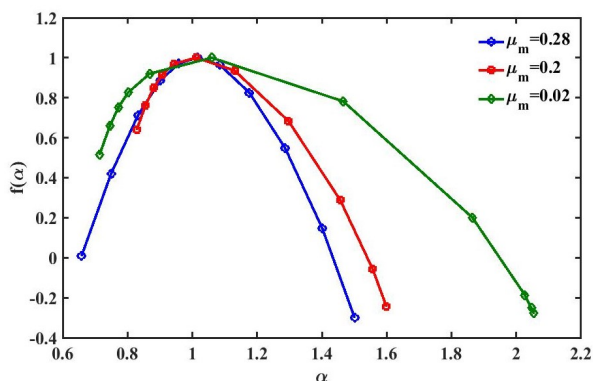
شکل 2. سطح mRNA نسبت به تغییر همزمان نرخ تخریب mRNA و پروتئین،  $P_0 = 40$ ,  $n = 4$ ,  $T = 285(K)$  (الف) عدم وجود pH، (ب) در حضور pH 4.5، اعمال میدان الکتریکی ( $E_0 = 0.5$ ,  $K = 15$ ,  $\omega = 5$ )

در شکل 3، سری زمانی تغییرات سطح mRNA، در حضور دمای 285 درجه کلوین، برای pH 4.5 با وجود میدان الکتریکی نور لیزر (رنگ قرمز) و عدم وجود میدان الکتریکی (رنگ آبی) رسم شده است. همان طور که مشخص است، علاوه بر اینکه رفتار شبه پریودیک برای هر دو حالت مشاهده می شود [42]، کاهش محسوس سطح mRNA در 20 دقیقه اول فرآیند رونویسی با اعمال لیزر رخ می دهد (فاصله بین دو نقطه پیک در 20 دقیقه). همان گونه که پیشتر بیان شد، اعمال لیزر سبب افزایش یون هیدرونیوم در محیط و سبب اسیدی تر شدن محیط می گردد [1]. بسته به نوع ژن

#### 4. جمع‌بندی

در مطالعه حاضر، مدل جدیدی جهت اعمال تاثیر pH در پدیده بیان ژن معرفی گردید. با اعمال pH 4.5، نتایج مطالعه نظری پیشین به نتایج تجربی نزدیکتر گردید. با استفاده از تحلیل مولتی فرکتال و محاسبه ضریب تغییرات، مشخص گردید که کاهش سطح mRNA معادل تمایل سیستم به پایداری است که در توافق با یافته‌های محققان است [44]. همچنین مشخص گردید که با اعمال pH 4.5، یک شیفت ناگهانی در سطح mRNA رخ می‌دهد که نشان‌دهنده اهمیت تاثیر pH در فرآیند بیان ژن می‌باشد. از طرفی تاثیر متفاوت pH قلیایی یا اسیدی به وضوح آشکار گردید. در محدوده pH، شاهد نوسانات شبه‌پریودیک بودیم [41, 42]. در ادامه کار حاضر، در بخش نظری با بازنویسی مدل براساس نوع توالی ژنی، در بخش تجربی، به صورت آزمایشگاهی می‌توان به بررسی پدیده بیان ژن و تایید مدل‌سازی پرداخت.

شکل 4، تجزیه و تحلیل چند فراکتالی را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل 4 نشان داده شده است، اعمال دمای محیطی 285 (کلوین) باعث افزایش طیف چندفرکتالی ( $\Delta\alpha$ ) می‌شود و دوباره اعمال pH منجر به دامنه وسیع‌تری می‌شود. بنابراین، عرض  $\Delta\alpha$  را می‌توان به‌عنوان معیاری برای بررسی پایداری در نظر گرفت [43]. در نتیجه، در مطالعه حاضر، افزایش  $\Delta\alpha$  معادل افزایش پایداری سطح mRNA در نظر گرفته می‌شود. با مقایسه مقادیر CV و تجزیه و تحلیل طیف چند فرکتال مشخص می‌شود که آنها یکدیگر را تایید می‌کنند.



شکل 5. طیف مولتی فرکتال نسبت به تغییر نرخ تخریب mRNA،  $\mu_p = 0.03$ ،  $\tau = 18.5(\text{min})$ ،  $P_0 = 40$ ،  $n = 4$  و  $T = 285(K)$

با توجه به اهمیت تاثیر نرخ تخریب mRNA در فرآیند بیان ژن، به بررسی طیف مولتی فرکتالی مربوطه آن در حضور pH 4.5، اقدام می‌گردد. همان‌گونه که در شکل 5 مشخص است، در  $\mu_m = 0.28$  (ماکزیمم سطح mRNA)، مقدار  $\Delta\alpha$  نسبت به حالتی که  $\mu_m = 0.02$  (مینیمم سطح mRNA است)، کوچکتر است. لذا از  $f(\Delta\alpha)$  می‌توان به‌عنوان معیاری در جهت فهم تاثیر نرخ تخریب mRNA در پدیده بیان ژن استفاده کرد.

## References

- 1- A. M. Itoo, M. Paul, S. G. Padaga, B. Ghosh, and S. Biswas, "Nanotherapeutic Intervention in Photodynamic Therapy for Cancer," *ACS Omega*, 2022, doi: 10.1021/acsomega.2c05852.
- 2- V. M.-M. Ruth Prieto-Montero, Teresa Arbeloa, "Photosensitizer-Mesoporous Silica Nanoparticles Combination for Enhanced Photodynamic Therapy," *Photochem. Photobiol.*, 2023, doi: <https://doi.org/10.1111/php.13802>.
- 3- J. Zhao, L. Duan, A. Wang, J. Fei, and J. Li, "Insight into the efficiency of oxygen introduced photodynamic therapy (PDT) and deep PDT against cancers with various assembled nanocarriers," *WIREs NANOMEDICINE AND NANOBIO TECHNOLOGY*, no. July, pp. 1-20, 2019, doi: 10.1002/wnan.1583.
- 4- X. H. Shumeng Li, Fujun Yang, Yongdan Wang, Tianqi Du, "Emerging nanotherapeutics for facilitating photodynamic therapy," *Chem. Eng. J.*, 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138621>.
- 5- G. Gunaydin, M. E. Gedik, and S. Ayan, "Photodynamic Therapy — Current Limitations and Novel Approaches," *Front. Chem.*, vol. 9, no. June, pp. 1-25, 2021, doi: 10.3389/fchem.2021.691697.
- 6- A. Escudero, C. Carrillo-Carrión, M. C. Castillejos, E. Romero-Ben, C. Rosales-Barrios, and N. Khair, "Photodynamic therapy: Photosensitizers and nanostructures," *Mater. Chem. Front.*, vol. 5, no. 10, pp. 3788-3812, 2021, doi: 10.1039/d0qm00922a.
- 7- T. Q. C. and V. S. B. by Fernanda Alves, Mirian D. Stringasci, Michelle B. Requena, Kate C. Blanco, Lucas D. Dias, "Randomized and Controlled Clinical Studies on Antibacterial Photodynamic Therapy: An Overview," *Photonics*, 2022, doi: <https://doi.org/10.3390/photonics9050340>.
- 8- J. M. Dąbrowski, "Reactive Oxygen Species in Photodynamic Therapy: Mechanisms of Their Generation and Potentiation," *Adv. Inorg. Chem.*, vol. 70, pp. 343-394, 2017, doi: 10.1016/bs.adioch.2017.03.002.
- 9- J. J. Hu, Q. Lei, and X. Z. Zhang, "Recent advances in photonanomedicines for enhanced cancer photodynamic therapy," *Prog. Mater. Sci.*, vol. 114, no. April, p. 100685, 2020, doi: 10.1016/j.pmatsci.2020.100685.
- 10- Q. You et al., "A single-light triggered and dual-imaging guided multifunctional platform for combined photothermal and photodynamic therapy based on TD-controlled and ICG-loaded CuS@mSiO<sub>2</sub>," *Nanoscale*, 2016, doi: 10.1039/C6NR09042G.
- 11- C. A. P. Muhammed Awad, Nicky Thomas, Timothy J. Barnes, "Nanomaterials enabling clinical translation of antimicrobial photodynamic therapy," *J. Control. Release*, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.04.035>.
- 12- A. G. Niculescu and A. M. Grumezescu, "Photodynamic therapy—an up-to-date review," *Appl. Sci.*, vol. 11, no. 8, pp. 1-18, 2021, doi: 10.3390/app11083626.
- 13- M. Roefinfard, M. Zahedifar, M. Darroudi, A. KhorsandZak, and E. Sadeghi, "Preparation and characterization of selenium-decorated graphene quantum dots with high afterglow for application in photodynamic therapy," *Luminescence*, 2020, doi: 10.1002/bio.3798.
- 14- M. Zahedifar, E. Sadeghi, M. M. Shanei, A. Sazgarnia, and M. Mehrabi, "Afterglow properties of CaF<sub>2</sub>:Tm nanoparticles and its potential application in photodynamic therapy," *Luminescence*, 2015, doi: 10.1016/j.jlumin.2015.11.043.
- 15- M. Roefinfard, M. Zahedifar, M. Darroudi, A. KhorsandZak, and E. Sadeghi, "Synthesis of Graphene Quantum Dots Decorated With Se, Eu and Ag As Photosensitizer and Study of Their Potential to Use in Photodynamic Therapy," *Fluorescence*, 2020, doi: 10.1007/s10895-020-02674-0.

- 16- Q. Xiao et al., "A core/satellite multifunctional nanotheranostic for in vivo imaging and tumor eradication by radiation/photothermal synergistic therapy," *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, doi: DOI:10.1021/ja404985w.
- 17- F. Chen et al., "In Vivo Tumor Vasculature Targeting of CuS@MSN Based Theranostic Nanomedicine," *ARTICLE*, 2015, doi: 10.1021/nn507241v.
- 18- M. Saranya and A. N. Grace, "Hydrothermal synthesis of CuS nanostructures with different morphology," *J. Nano Res.*, vol. 18-19, pp. 43-51, 2012, doi: 10.4028/www.scientific.net/JNanoR.18-19.43.
- 19- K. Krishnamoorthy, G. K. Veerasubramani, A. N. Rao, and S. J. Kim, "One-pot hydrothermal synthesis, characterization and electrochemical properties of CuS nanoparticles towards supercapacitor applications," *Mater. Res. Express*, vol. 1, no. 3, 2014, doi: 10.1088/2053-1591/1/3/035006.
- 20- J. Zhao, G. Yang, Y. Zhang, S. Zhang, and P. Zhang, "A Simple Preparation of HDA-CuS Nanoparticles and Their Tribological Properties as a Water-Based Lubrication Additive," *Tribol. Lett.*, vol. 67, no. 3, 2019, doi: 10.1007/s11249-019-1206-3.
- 21- N. A. Asyiqin Anas, Y. W. Fen, N. A. Yusof, N. A. S. Omar, N. S. Md Ramdzan, and W. M. E. M. Mohd Daniyal, "Investigating the properties of cetyltrimethylammonium bromide/hydroxylated graphene quantum dots thin film for potential optical detection of heavy metal ions," *Materials (Basel)*, vol. 13, no. 11, 2020, doi: 10.3390/ma13112591.
- 22- S. Rajeshkumar et al., "Evaluation of Zebrafish Toxicology and Biomedical Potential of Aeromonas hydrophila Mediated Copper Sulfide Nanoparticles," *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2022, 2022, doi: 10.1155/2022/7969825.
- 23- F. A. Sabah, I. Abdul Razak, E. A. Kabaa, M. F. Zaini, and A. F. Omar, "Influence of CuS powder concentration on the construction of hybrid PVA/CuS thin films for polymer light-emitting applications," *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, vol. 31, no. 4, pp. 3456-3465, 2020, doi: 10.1007/s10854-020-02893-y.
- 24- N. S. Tank, K. D. Parikh, and M. J. Joshi, "Synthesis and characterization of copper sulphide (CuS) nano particles," *AIP Conf. Proc.*, vol. 1837, 2017, doi: 10.1063/1.4982102.
- 25- L. Chen, J. Chen, H. Zhou, L. Liu, and H. Wan, "The use of CTAB to control the size of N,N-dioctyldithiocarbamates monolayer-stabilized copper sulfide nanoparticles," *Mater. Lett.*, vol. 61, no. 10, pp. 1974-1977, 2007, doi: 10.1016/j.matlet.2006.07.169.
- 26- L. Han, H. Li, Y. Lei, and D. Cao, "Preparation and transparent heat insulating properties of aqueous acrylic-amino-alkyd coatings with CuS nanoplates," *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, vol. 28, no. 19, pp. 14596-14604, 2017, doi: 10.1007/s10854-017-7324-5.
- 27- N. Nasseh, & Fatemeh, S. Arghavan, N. Daglioglu, and A. Asadi, "Fabrication of novel magnetic CuS/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/GO nanocomposite for organic pollutant degradation under visible light irradiation," pp. 19222-19233, 2066, [Online]. Available: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12066-3>.
- 28- S. Riyaz, A. Parveen, and A. Azam, "Microstructural and optical properties of CuS nanoparticles prepared by sol-gel route," *Perspect. Sci.*, vol. 8, pp. 632-635, 2016, doi: 10.1016/j.pisc.2016.06.041.
- 29- C. F. Mu, Q. Z. Yao, X. F. Qu, G. T. Zhou, M. L. Li, and S. Q. Fu, "Controlled synthesis of various hierarchical nanostructures of copper sulfide by a facile microwave irradiation method," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 371, no. 1-3, pp. 14-21, 2010, doi: 10.1016/j.colsurfa.2010.08.049.
- 30- S. Iqbal et al., "Extensive evaluation of changes in structural, chemical and thermal properties of copper sulfide nanoparticles at different calcination temperature," *J. Cryst. Growth*, vol. 547, no. July, p. 125823, 2020, doi: 10.1016/j.jcrysgro.2020.125823.

- 31- X. Wen and H. Zhang, "Photoelectrochemical properties of CuS/GeO<sub>2</sub>- TiO<sub>2</sub> composite coating electrode," PLoS One, vol. 11, no. 4, pp. 1-12, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0152862.
- 32- L. Liang et al., "Biocompatible tumor-targeting nanocomposites based on CuS for tumor imaging and photothermal therapy," RSC Adv., vol. 8, no. 11, pp. 6013-6026, 2018, doi: 10.1039/c7ra12796k.
- 33- S. I. Raj, A. Jaiswal, and I. Uddin, "Ultras-small aqueous starch-capped CuS quantum dots with tunable localized surface plasmon resonance and composition for the selective and sensitive detection of mercury(ii) ions," RSC Adv., vol. 10, no. 24, pp. 14050-14059, 2020, doi: 10.1039/c9ra09306k.