

المحاكاة الحيوية الجزيئية: بناء المواد بطريقة

الطبيعة، جزيء بعد جزيء^(١)

Molecular Biomimetics: Building Materials Nature's Way, One Molecule at a Time

كاندان تاميرلر، ومحمد ساريكاي Candan Tamerler and Mehmet Sarikaya

يتم تنفيذ الوظائف الفيزيائية والكيميائية للكائنات الحية بواسطة عدد كبير جداً (مليارات) من البروتينات، والتي لها تشكيلة مختلفة (~١٠^٥ في البشر)، وذلك من خلال التفاعلات المتوقعة المكتفية ذاتياً، ويكون تطويرها خلال النمو أو التطور. وباستخدام علم الأحياء كدليل للاسترشاد، في أسلوب المحاكاة الحيوية الجزيئية، نقوم باختيار التصميم، المصمم والمفصل جينياً، والتشديد، والاستفادة من بولي الببتيدات القصيرة كقوائم جزيئية في التجميع الذاتي، والتنظيم المرتب، والتصنيع الحيوي لمواد غير عضوية نانوية، وأنظمة هجينة جزيئياً في تقنية النانو (الإلكترونيات الجزيئية، والمغناطيسيات magnetics، والضوئيات photonics) وتقنية النانو الحيوية (الحساسات الحيوية biosensors، والاختبارات الحيوية bioassays، والمواد الحيوية biomaterials). وعادة ما يتراوح طول البولي ببتيدات هذه من ٧-١٥ حمضا

(١) تم اقتباس هذا المقال من بحث حديث من مجلة Annual Review of Materials Research (مراجع [3]).

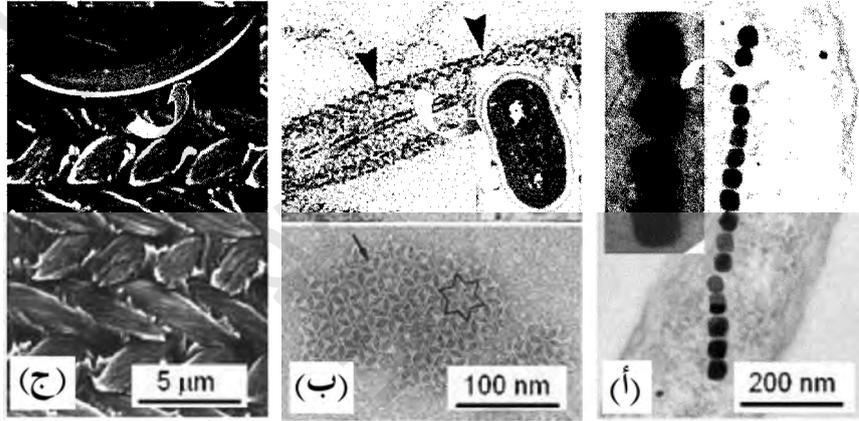
أمنياً، ويتم الحصول عليها عن طريق البيولوجيا التوافقية، باستخدام سطح الخلية أو مكتبات عرض العائثة phage display libraries. وبمجرد الاختيار، يمكن هندسة البولي بيتيدات المرتبط بغير العضوي أكثر باستخدام الهندسة الجينية، لحياكة (لتصميم) خصائصها لأسطح مواد معينة، ومورفولوجيا (علم التشكل)، والكيمياء البلورية، وللتطبيقات المصممة. إن إمكانية البولي بيتيدات المهندسة في تقنية النانو هائلة؛ بسبب التمييز الجزيئي، والتجميع الذاتي والمشارك، والمعالجة عن طريق تقنيات الحمض النووي DNA.

٥,١ المقدمة Introduction

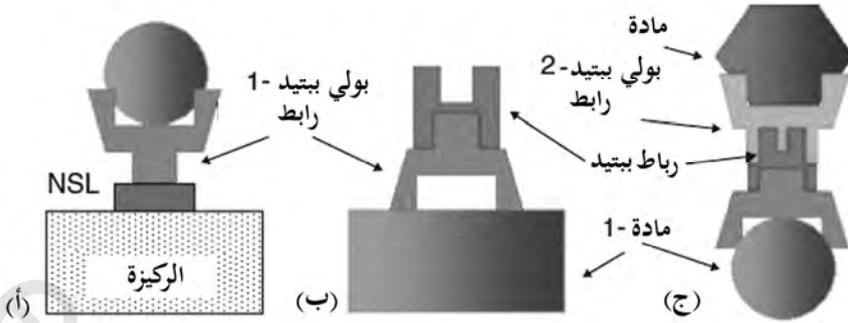
قد تؤدي أنظمة المواد الوظيفية المستقبلية، سواء المطورة لتقنية النانو الحيوية أو لتقنية النانو، والتي تتضمن بروتين (s) في التجميع، والتشكيل، وربما في التركيب النهائي، بوصفه مكوناً تكاملياً إلى وظائف موجهة ونوعية مشابهة لتلك المرئية في الأنسجة الرخوة والصلبة البيولوجية (الشكل رقم ٥,١). وفي المجال الجديد من المحاكيات الحيوية الجزيئية - زواج حقيقي بين المجالات البيولوجية والفيزيائية التقليدية - يمكن أن تتجمع فعلاً المواد الهجينة من المستوى الجزيئي، باستخدام خواص تمييز البروتينات، التي ترتبط نوعياً إلى اللا عضويات [1,2].

تعرض المحاكيات الحيوية الجزيئية ثلاثة حلول آنية (متزامنة) لمشكلة التحكم، وتصنيع تراكيب نانوية على نطاق واسع، وتجمعات مرتبة من المواد في بعدين وثلاثة أبعاد (الشكل رقم ٥,٢) [3]. الحل الأول: أن يتم اختيار البروتينات والبيتيدات المرتبطة بغير العضوي، والمصممة عند المستوى الجزيئي، ومن خلال علم الوراثة. ويسمح هذا بالتحكم في المقياس البعدي الأدنى الممكن. والحل الثاني: أنه يمكن استخدام مثل هذه البروتينات كأربطة linkers، أو كمجموعات قوائم (نصب) جزيئية

لربط وحدات اصطناعية، بما فيها الجسيمات النانوية، والبوليمرات الوظيفية، أو تراكيب نانوية أخرى في القوالب الجزيئية. الحل الثالث: هو التجميع الذاتي أو المشترك للجزيئات البيولوجية في تراكيب نانوية مرتبة. وهذا ما يضمن عملية تجميع قوية لبناء التراكيب النانوية المعقدة، وربما تراكيب هرمية، مشابهة لتلك الموجودة في الطبيعة (التجميع الذاتي).



الشكل رقم (١، ٥). أمثلة على مواد هجينة مشيدة بيولوجياً بمجموعة متنوعة من الخواص الفيزيائية. (أ) جزيئات نانوية مغناطيسية تشكلت ببكتريا مغناطيسية (مولد أكواسبيريلوم المغناطيسي *Aquaspirillum magnetotacticum*)، وتكون وحدة البلورية، وجسيمات الماجنيت وحيدة المجال (Fe_3O_4) (الشكل: تكشف صورة التكبير الأعلى شكل جسيم ثماني السطوح مكعبي) (إم. ساريكاي *M. Sarikaya*، غير منشور). (ب) غشاء كالسيت *calcite* رقيق مرتب بشكل تركيب نانوي على طبقة البكتيريا الخارجية-S، سلالة سينيتشوكوكوس *Synechococcus GL24*، الذي يعمل كطاء وقائي. (ج) مينا (أسنان) الفأر تكون قاسية، مادة ارتداء مقاومة بنية نانوية/ ميكروية مرتبة جداً، تتكون من بلورات هيدروكسيد الكالسيوم المائي، التي تتجمع إلى تركيب قضيب ومموج (صورة المجهر الإلكتروني الماسح SEM). يتكون كل قضيب من الآلاف من جسيمات هيدروكسيد الكالسيوم المائي (شكل: الصورة مقطع عرضي سنّ فأر قاطعة؛ والمنطقة البيضاء مينا، دُعْم بالعاج الرمادي) [3].



الشكل رقم (٢، ٥). الفائدة المحتملة من بروتين مرتبط بغير العضوي، مثل: (أ) أربطة لتثبيت جسيم نانوي. (ب) الجزيئات الوظيفية التي تتجمع على ركائز نوعية. (ج) أربطة وظيفية غير متجانسة، تتضمن اثنين (أو أكثر) من البروتينات المرتبطة، التي تجاور عدة وحدات غير عضوية نانوية. NLS، المرتبط غير نوعي [1,3].

وقد تم تعريف بضعة بولي بيتيدات فقط، التي ترتبط بشكل نوعي إلى غير العضويات، وهي في الغالب عبارة عن بروتينات المعدنة الحيوية المستخلصة من الأنسجة الصلبة، متنوعة بالفصل، والتنقية، والاستنساخ cloning. وعلى الرغم من أن هذا الأسلوب يكون صعباً، ومستهلكاً للزمن، وله قيود رئيسية، إلا أنه قد تم استخدام عدة بروتينات مفصولة بهذه الطريقة كمنويّات nucleators، وكمعدلات نمو، أو كإنزيمات في تشييد غير العضويات المحددة [4-9]. وتتضمن بعض الأمثلة الأميلوجينينات (بروتينات مكونة لمينا الأسنان) amelogenins في تشييد مينا الثدييات [5]، والسيليكاتين silicatein وهي المادة الفعالة في تكوين شويكي الإسفنج [9]، ومادتي الكالسيت والأرجونيت aragonite اللتين تشكلان البولي بيتيدات في أصداف الرخويات [4, 6, 7]. والأسلوب المفضل للحصول على البولي بيتيدات المرتبط بغير العضوي، هو استخدام تقنيات البيولوجيا التوافقية [1,10-13]. وفي هذا الأسلوب، يتم فحص مكتبة عشوائية كبيرة من الببتيدات بعدد الأحماض الأمينية نفسها، ولكن بتركيبات مختلفة، لتحديد التسلسلات النوعية التي ترتبط بقوة إلى مادة لا عضوية من

الاستعمال العملي. إن الهدف النهائي في المحاكيات الحيوية الجزيئية، هو إنشاء "مجموعة قوائم جزيئية" فيها بروتينات مختلفة، كل منها مصمم للربط إلى حجم وسطح محدد، أو مورفولوجيا مركب لا عضوي، وتعزيز جميع تراكيب هجينة معقدة مكونة من غير العضويات، وبروتينات وحتى بوليمرات وظيفية [1-3]. إن تحقيق هذا سيكون بمثابة قفزة هائلة نحو تحقيق لبنات بناء نانومترية، والتي يكون فيها البروتين وخصائص ترابطه مصمما باستخدام تقنيات الحمض النووي DNA [14]، بينما يتم تشييد المكوّن غير العضوي لوظائفه الخاصة، مثل (إلكتروني، بصري أو مغناطيسي) [15]. وتسمى البولي ببتيدات القصيرة هذه (أو البروتينات الصغيرة) بروتينات مهندسة جينياً لغير العضويات (GEPIs) [1, 3]. وفي المقطع التالي، سنقدم نظرة عامة لتقنيات العرض، التي يمكن استخدامها لاختيار البولي ببتيدات، التي تميّز المركبات غير العضوية، ونسلط الضوء على السمات الفريدة لاستخدام هذه الأنظمة. وسوف نعطي لاحقاً أمثلة عن إنجازات تتضمن استخدام البولي ببتيدات المرتبطة بغير العضوي. وأخيراً، نقدم الآفاق المستقبلية في تقنيات النانو الحيوية.

٥,٢ ببتيدات الارتباط غير العضوي عن طريق البيولوجيا التوافقية

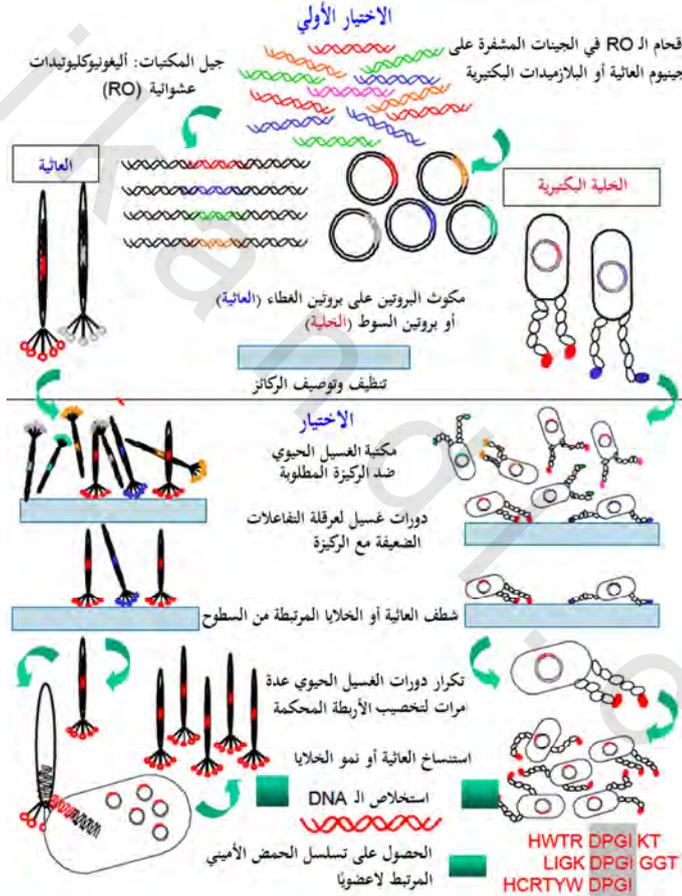
Inorganic Binding Peptides via Combinatorial Biology

منذ اختراع عرض العائية قبل عقدين تقريباً [16]، أثبتت تقنيات العرض أنها أداة قوية جداً لعدد كبير من التطبيقات البيولوجية والتقنية الحيوية. وتتضمن هذه التطبيقات توصيف المستقبل، ومواقع ارتباط الجسم المضاد، ودراسة تفاعلات الليجاند (المرتبط) ligand والبروتين، وفصل البروتينات وتنميتها، أو الإنزيمات التي تُظهر خصائص ارتباط معدلة، أو بطريقة أخرى محسنة إلى ليجانداها. وقد تم مؤخراً استعراض المناهج الثلاثة الأكثر شيوعاً، عرض العائية (PD)، وعرض سطح الخلية cell surface display (CSD) وعرض الريبوسوم (SD) ribosome display [17-21].

وتستند كل التقنيات على موضوع مشترك ؛ للربط بين النمط الظاهري phenotype والنمط الوراثي genotype. ويعتمد كل من عرض العائثة PD وعرض سطح الخلية CSD على استخدام بروتينات خيالية أو هيجينية chimeric ، تتكون من سلسلة هدف ملتحمة (مدجة) داخل (أو إلى) البروتين ، الذي يتموضع طبيعياً على سطح عائثة (فيروس جرثومي) ، أو خلية لتحقيق العرض (الشكل رقم ٥.٣). وباستخدام تقنيات البيولوجيا الجزيئية القياسية [17] ، يمكن جعل تسلسل الحمض النووي DNA لمنطقة الهدف (على سبيل المثال ، الموقع النشط للإنزيم أو التسلسل الكامل للبتيد الصغير) عشوائياً ، لخلق مكتبة من العائثات أو الخلايا ، كل منها سوف يُشيد نسخة مختلفة من الكمييرا (كائن هجين خيالي ذو نوعين أو أكثر من الخلايا المختلفة جينياً) chimera على سطحه. وبتوصيل المكتبة مع ليجاند مثبت ، وغسيل الرابطات الضعيفة أو غير المرتبطة ، وتكرار العملية لإثراء الرابطات المحكمة ؛ يمكن اختيار مجموعة فرعية من المكتبة الأصلية ، تعرض القدرة على التفاعل بقوة مع الليجاند المطلوب ، وهي عملية معروفة بالغسيل الحيوي ؛ لأنه يتم تشفير الكمييرا داخل جينوم genome العائثة ، أو على البلازميد المحمول بالخلية ، ويمكن استنتاج هوية التسلسل المختار ، مثل (تراكيب أحماضها الأمينية) ، بتسلسل الحمض النووي DNA (الشكل رقم ٥.٣).

إن الاهتمام المتزايد بالمواد الهجينة التي تدمج كلتا المكونات غير العضوية والبتيدات أو البروتينات لتقنية النانو أو لتطبيقات تقنية النانو الحيوية ، جعل عرض العائثة PD وعرض سطح الخلية CSD جذابين جداً لفصل بولي بتيدات ، قادرة على ربط مواد غير عضوية بتوافق عالٍ. لقد قمنا وآخرون بتعديل كلتا التقنيتين في مختبرنا ، لاختيار أربطة غير عضوية للفلزات ، وأشباه الموصلات ، والعوازل. وحتى الآن ، فقد تم استخدام عرض سطح الخلية CSD لتحديد بتيدات تميز أكسيد الحديد [22] ، والذهب [10] ، وأكسيد الزنك [23] ، والزيولايت [24] ، بينما تم استخدام عرض العائثة PD ، لفصل تسلسلات مرتبطة إلى أرسينيد الجاليوم [11] ، والسيليكا [13] ،

والفضة [25]، وكبريتيد الزنك [26]، والكالسيت (كربونات الكالسيوم البلورية) [27]، وكبريتيد الكاديوم [28]، والفلزات النبيلة، مثل: البلاتين والبلاديوم [دندسير S. Dincer وآخرون 2003]، غير منشورة. وقد تم استخدام بعض هذه الببتيدات لتجميع جسيمات غير عضوية [11, 26, 28]، وبعضها الآخر لتشكيل (التحكم في التنوي والنمو) المركبات التي اختاروها [13, 25, 27, 29].



الشكل رقم (٥،٣). مبادئ عرض العائية (في اليسار)، وعرض سطح الخلية (في اليمين)، وبروتوكولات تكييفها لاختيار تسلسلات البولي ببتيد بألفة ترابط على ركيزة غير عضوية معينة.

إن المواد غير العضوية تعد ركائز مختلفة تماماً عن الليجانادات البروتينية، ومن المدهش أن اهتماماً قليلاً جداً دفع إلى تكييف تقنيات العرض المطورة بعلم الأحياء بالنظر إلى عالم علم المواد. وعلى سبيل المثال، فقد تُطوّر العديد من المواد طبقة الأكسيد بسرعة على سطحها، وتعرض وجوه بلورية مختلفة إلى المذيب، وقد تصبح معدلة كيميائياً أو فيزيائياً، عندما تُحضن في الأوساط البيولوجية المستخدمة أثناء عملية الفصل بالغسيل. ولتفادي الوقوع ضحية للقانون الأول من التطور الموجه ("احصل على ما تم الكشف عنه") [30]، لذلك يكون من الضروري وصف أو تمييز الأسطح غير العضوية قبل الغسيل وبعده، باستخدام التقنيات الطيفية والتصوير [31]. وقد يكون مفيداً أيضاً لمراقبة غسيل أو مصدات فصل بالتصفية (تصفية تتابعية) elution buffers، مثل (مطيافية الامتصاص الذري للكشف عن الفلزات وأشباه الفلزات metalloids). وإذا تم الحصول على دليل تعديل أو تدهور السطح، فينبغي تحسين ظروف المصدر (الصاد)؛ لضمان توافقه مع مادة الهدف غير العضوية.

تقع المركبات غير العضوية في مجموعة متنوعة من الأشكال، وتتكون من مساحيق متعددة التشتت وغير ممّيزة مورفولوجياً، إلى بلورات وحيدة. وطبيعة الركيبة غير العضوية، قد تستبعد تقنية عرض خاصة. وعلى سبيل المثال، فعرض العائثة PD، يكون مناسباً للعمل مع المساحيق، حتى إذا تم استخدام خطوة الطرد المركزي المتدرج؛ لحصاد المعقدات بين العائثات الرابطة والجسيمات. ومن ناحية أخرى، فلن يستجيب نظام عرض سطح الخلية CSD لمثل عملية التخصيب هذه؛ لأن القوى الطاردة المركزية ستقص سياط الخلية. وبالطريقة نفسها، إذا كان كل من عرض العائثة PD، وعرض سطح الخلية CSD مناسبين من الناحية النظرية للفصل بالغسيل على بلورات وحيدة، فقد يكون من الصعب جداً إزالة خلايا مرتبطة بإحكام أو عائثات من المادة؛ مما يؤدي إلى فقدان سلالات أو مستعمرات خلوية عالية الألفة. وفي مثل هذه الحالات، قد

يكون استخدام النظام البكتيري مفيداً؛ نظراً لأن لدى جميع الأربطة إمكانية متساوية لكي تُسترد (تستعاد) عقب الكسر السوطي.

في التطبيقات البيولوجية التقليدية لمكتبات الببتيد، مثل (توصيف حاتمة epitope الجسم المضاد، ورسم خرائط للملامسات أو متصلات البروتين- البروتين، وتحديد محاكاة الببتيد من ليجانداً لا ببتيدية (nonpeptide)؛ عادة ما تُجرى من ثلاث إلى أربع دورات فصل بالغسيل الحيوي في عرض العائنية PD، بينما يتم إجراء خمس دورات في عرض سطح الخلية CSD. وبعد هذه الدورات من التخصيب، تتلاقى التسلسلات المختارة نموذجياً نحو وحدة تتكون من بقايا مستبدلة مطابقة أو متحفظ عليها، مثل (أيزوليوسين isoleucine بالنسبة إلى ليوسين leucine). وتعكس تسلسلات مثل هذه الوحدة التفاعلات الدقيقة بين السلاسل الجانبية من البروتين قيد الدراسة، وتلك التابعة للبولي ببتيدات المختارة. وعلى أية حال، تشير كل الدلائل المتوافرة إلى أن هذه القاعدة لا تصح في حالة التسلسلات المرتبطة غير العضوية، حيث لوحظت عموماً متشابهات، بدلاً من وحدة محددة أو تامة. ويفترض أن يعكس هذا عدم تجانس الركيزة غير العضوية على المستويات البلورية والذرية، وحقيقة فإن هناك حلولاً متعددة لمشكلة الارتباط غير العضوي. ويمكن للمرء - على سبيل المثال - تصور إستراتيجيات الارتباط، بالاعتماد على شكل المتكاملات والتفاعلات الإلكترونية-ستاتيكية، وتفاعلات فان در فالس، أو توافيق مختلفة من هذه الآليات. وبشكل واضح، فهناك حاجة إلى فهم أفضل للقواعد التي تحكم ارتباط البولي ببتيدات إلى مركبات غير عضوية؛ لفهم طبيعة الخصوصية، والتنبؤ عبر الخصوصية والتوافق، وفي نهاية المطاف، لتصميم مواد مهجنة تعرض طولوجيا (الهندسة اللاكمية) topology، والتركيب المتحكم فيه.

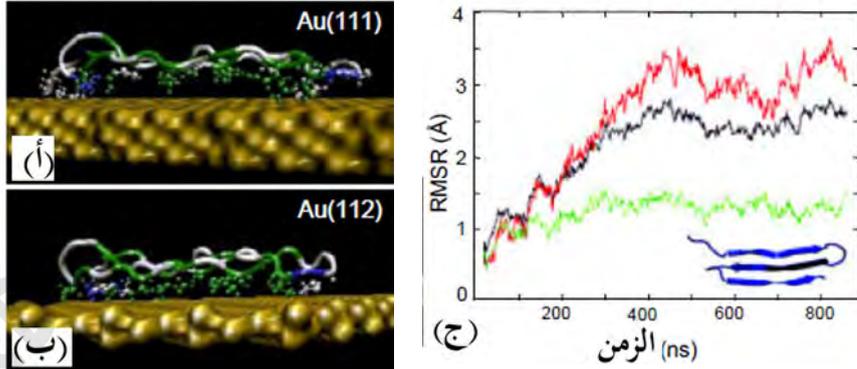
٥,٣ الخصوصية الفيزيائية والنمذجة الجزيئية

Physical Specificity and Molecular Modeling

من المرجح أن تكون خصوصية البولي بيتيد للسطح غير العضوي مُتجذرة في تركيبها الجزيئي، و تركيب السطح الذري (على نطاق النانو) غير العضوي. ولذلك تكون المعلومات التركيبية ضرورية، ليس فقط لتوضيح أسس عملية التمييز، ولكن أيضاً في التطبيقات العملية. ومن شأن مثل هذه المعرفة أن تسمح بتعديلات جينية أو كيميائية؛ لخلق وظائف إضافية، مثل (إجراء ربط بوليمرات موصلة أو باعثة للضوء؛ لخلق جزيئات وظيفية غير متجانسة وهجينة، ولديها القدرة على ربط الحمض النووي أو البروتينات)، وبذلك ينتج جزيء "شديد الصغر متعدد الحرف" "molecular tinker-toy". ومثالياً، باستخدام بروتوكولات المحاكاة/الديناميكية الجزيئية، وقيود الرنين النووي المغناطيسي NMR في حالة المحلول و/أو الصلب، يستطيع المرء الحصول على تركيب الطاقة الأدنى المتوسط للعديد من البروتينات المهندسة جينياً غير العضويات GEPIs، كما أمكن الاستفادة من هذه التراكيب، جنباً إلى جنب مع برنامج محاكاة في نمذجة التوجيه، وعلم طاقة الترابط عند الأسطح الفاصلة (البينية) النوعية. وحيث يمكن استخدام مثل هذه البيانات لتصنيف الببتيدات، وذلك من خلال طاقات تفاعل السطح الفاصل؛ مما يُتيح تعريف السلاسل الجانبية المهمة واصطفافات السلسلة المفضلة لكل بولي بيتيد بأسطح فاصلة نوعية. وينبغي التوصل إلى النتائج التجريبية مع المعلومات التركيبية من المحاكاة؛ لتعطي فهما منسجماً لتفاعلات سطح البروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPI غير العضوية.

لقد قمنا مؤخراً في عمل تعاوني بإجراء دراسات نمذجة تركيب الكمبيوتر لتخمين شكل البروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPI، (أي بروتين مرتبط

الذهب، GBP-1) في المحلول، ونعرض ملخصاً هنا للإيضاح [الشكل رقم ٥،٤ (أ)] [32]. وقد أجرينا هذا العمل التمهيدي على أمل أن أي توافق بين بقايا الأحماض الأمينية من الببتيد، وفاصل الشبكية الذرية غير العضوية؛ من شأنه تسليط الضوء على كيفية ربط البروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPI إلى السطح غير العضوي. وتم مقارنة بيانات تسلسل الأحماض الأمينية الخام لثلاثة تكرارات من الأربعة عشر حمضاً أمينياً الـ GBP-1، إلى كل التراكيب البروتينية المعروفة باستخدام عملية بحث فاستا (فاستا: مجموعة برامج لبحث تراصف وتسلسل البروتين) FASTA، وخوارزميات توقع التركيب الثانوي من الرتبة الأولى المختلفة (تشو- فازمان Chou- Fasman، وهولي/كاربلس Holley/Krplus) [32]. يوضح الشكل رقم (٥،٤ (أ)) ثلاثة تكرارات للـ GBP-1 فوق الشبكية الذرية للذهب {111}، والتي تُسلط الضوء على تطابق (مطابقة) مجموعات الهيدروكسيل OH^- لمواقع ذرة الذهب. وتشير هذه النتائج الأولية إلى أن تكرار ارتباط الـ GBP-1، يكون شكلاً صفائحيًا مطويًا- β متضاد التوازي، الأمر الذي يضع مجموعات الهيدروكسيل OH^- من بقايا السيرين serine والثريونين threonine في شبكية منتظمة على أساس الحد الأدنى للطاقة في الفراغ *in vacuo*، باستخدام برنامج X-PLOR (مجموعة من البرامج لعلم الأحياء الهيكلي الحسابي) [الشكل رقم ٥،٤ (ب)]. لقد أعلننا أيضاً في هذه الدراسات التمهيديّة، بأن الـ GBP-1 لا يرتبط بإحكام إلى سطح الذهب {112} [الشكل رقم ٥،٤ (أ)]؛ بسبب هجرة جزيئات الماء عبر الأخاديد الذرية على هذا السطح البلوري، والتي تفضي اقتران (تفصل) البروتين من السطح.



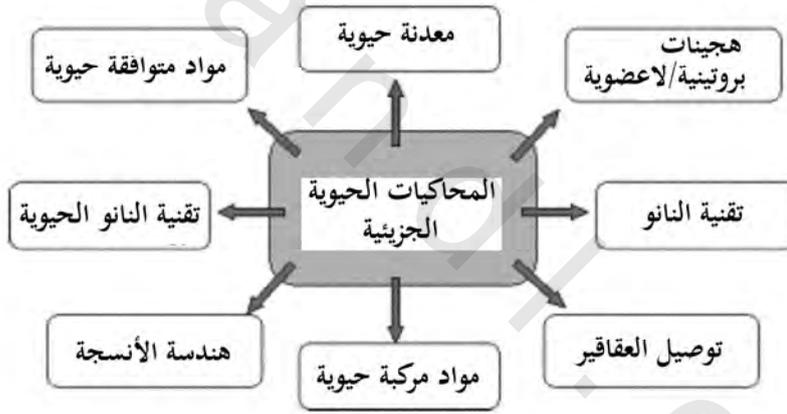
الشكل رقم (٤، ٥). (أ) و(ب) إعادة الديناميكية الجزيئية لبروتين مرتبط الذهب (GBP-1 متكرر ثلاث) على سطوح الذهب {111} و{112} شوهدت على الحافة، على الترتيب. ويتوافق التلوين مع نوع البقايا: البقايا القطبية مميزة باللون الأخضر، بينما المشحونة باللون الأزرق والكارهة للماء تكون باللون الأبيض. (ج) وكانت إزاحات مربع جذر المتوسط (RMSD) من ذرات C_{α} في الذهب {111}؛ نتيجة لاتزان نسبي إلى تركيب البادئ المتوقع (اللون الأسود). إن البروتين مستقل بعد 500 ps. وتظهر البقايا القطبية (اللون الأخضر) RMSD صغيرة مقارنة بالتأرجحات (التقلبات) المرصودة في البقايا الكارهة للماء (اللون الأحمر) [32].

٤، ٥ تطبيقات البولي بيتيدات المهندسة كقوائم جزيئية

Applications of Engineered Polypeptides as Molecular Erectors

إن الارتباط المحكوم، وتجمُّع البروتينات على الركائز غير العضوية، هما بمثابة القلب في هندسة وعلم المواد البيولوجية بالتطبيقات واسعة النطاق [33,34] (الشكل رقم ٥.٥). يؤدي امتزاز البروتين والتفاعلات الجزيئية الكبيرة على الأسطح أدواراً رئيسية في أداء زراعة الأنسجة الصعبة وهندستها. ويتم استخدام الحمض النووي والبروتينات الممتزة تحديداً على ركائز المسبار؛ لبناء مصفوفات دقيقة مناسبة لعلم الجينات (للجينوميكس) الحديث [35]، وعلم الجينات الصيدلانية

استخدام البولي ببتيدات المهندسة والمهجنة بمجزيئات اصطناعية وظيفية، كلبنان بناء غير متجانسة الوظيفة في مجال الضوئيات والإلكترونيات الجزيئية [39, 40]. وتتضمن المزايا الفريدة للبولي ببتيدات المهندسة، والناجمة من خلال مناقشة المحاكيات الجزيئية هنا؛ تمييز سطح جزيئي محدد للغاية من غير العضويات، والتجميع الذاتي في تراكيب مرتبة، وتكييف تراكيبها ووظائفها الجزيئية، من خلال البيولوجيا الجزيئية، وبروتوكولات علم الوراثة. وباستخدام البولي ببتيدات المرتبطة بغير العضوي، يمكن للمرء أن يُنشئ مجموعات قوائم جزيئية لتطبيقات تقنية النانو، وتقنية النانو الحيوية المحتملة.



الشكل رقم (٥,٥) التطبيقات المحتملة للمحاكاة الحيوية الجزيئية في تقنية النانو، وتقنية النانو الحيوية، باستخدام بولي ببتيدات الارتباط غير العضوي، مهندسة جينياً ومختارة توافقياً [3].

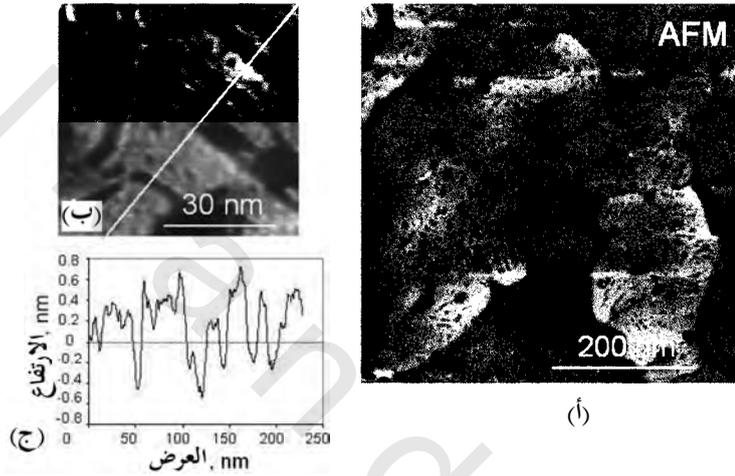
١, ٤, ٥ التجميع الذاتي لبولي ببتيدات الارتباط غير العضوي كطبقات أحادية

Self-Assembly of Inorganic-Binding Polypeptides as Mono-layers

أحد الأسئلة الأساسية المتعلقة بالبروتينات المهندسة (المعدلة) جينياً، هو ما إذا

كان يمكن تجميعها بترتيب بعيد المدى على سطح بلوري محدد لمادة، بالإضافة إلى

تعريفها (تمييزها) كيميائياً. وبينما يكون هذا الجانب من المحاكيات الحيوية الجزيئية في المرحلة الأولية من عملية تطويره، إلا أن صورة مجهر القوة الذرية في الشكل رقم (٥,٦)، تظهر أنه من الممكن تجميع طبقة واحدة من بروتين مرتبط الذهب بطبقة أحادية سمكية على سطح الذهب {111} (زاريه H.M. Zareie، ساريكاي M. Sarikaya، ٢٠٠٣، النتائج غير منشورة).



الشكل رقم (٥,٦) (أ) (صورة مجهر القوة الذرية)، تجميع ذاتي ثلاثي التكرار من الـ GBP-1 على الذهب {111}، يوضح تركيب نطاق مرتب. إن الزاوية بين حدود النطاقات، إما أن تكون 60° أو 120° ؛ مما يدل ضمناً على تمييز التماثل في الطبقة السطحية العليا على الذهب {111}. وينتج الخط عبر عدة مجالات في صورة مجهر القوة الذرية (ب) منظر جانبي لأشكال مسطحة بارتفاع 0.5 نانومتر، ويكشف عن سمك طبقة أحادية من غشاء الـ GEPI (زاريه H.M. Zareie، ساريكاي M. Sarikaya، ٢٠٠٣، غير منشور).

وفي الحقيقة، يكشف الفحص الدقيق لهذه الصورة وصور أخرى عن أن الـ GBP-1، تتجمع في نطاقات ذات حدود واضحة ومستقيمة، تصنع في الواقع زاوية $60^\circ / 120^\circ$ ؛ مما يقترح بأن البولي بيتيد يُمَيِّز فعلياً تماثل شبكية سداسية الطية على

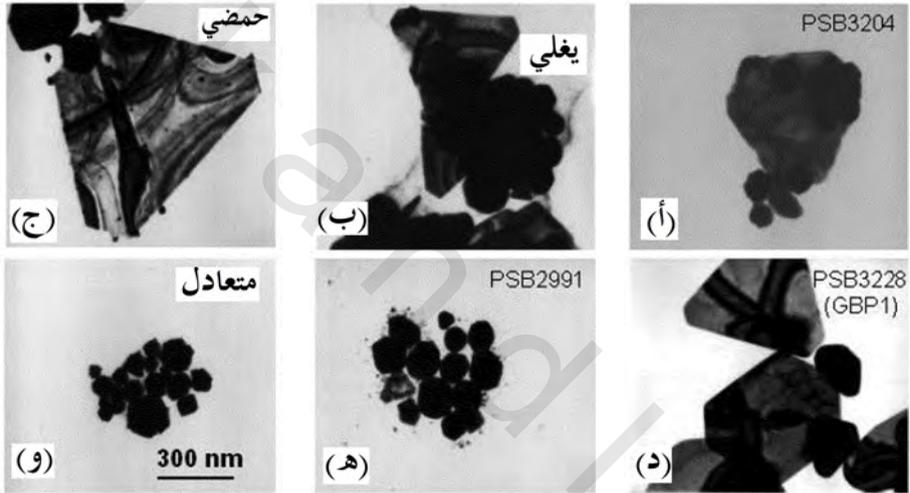
سطح الذهب {111}. والمهم أيضاً في هذه النتائج، أن عملية التجميع تستمر حتى يتم تغطية كامل السطح تماماً. وبدلاً من استخدام الثيول التقليدي، أو رابطات السيلان silane في الطبقات الأحادية ذاتية التجميع [41, 42]، فإن هذه النتيجة تثبت أنه يمكن استخدام التجميع الذاتي لطبقة الـ GEPI الأحادية كرابطات وظيفية، وهي فرضية مركزية في هذا البحث.

٢,٤,٥ التشكل الحيوي للجسيمات النانوية غير العضوية عن طريق البروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات

Morphogenesis of Inorganic Nanoparticles via GEPIs

إن السمة المهمة في المعدنة الحيوية، هي التحكم البيولوجي في تشكيل المواد، وذلك عن طريق تفاعلات لا عضوية/ بروتين، والتي تتحكم في نمو المورفولوجيا (التشكل) في الأنسجة، مثل العظام والأسنان، وأصداف الرخويات، وتشكيل الجسيمات البكتيرية والطحالب [43-46]. لقد تركزت تقليدياً معظم الدراسات الهادفة لمعرفة كيف تؤثر بروتينات المعدنة الحيوية هذه على القوالب templating [4-9]، والتنوي [47, 48]، والتفاعلات الأنزيمية [8, 9]. ومع ظهور البيبتيدات المختارة توافقياً، والمرتبطة بقوة إلى غير العضوي، فإن الخطوة الطبيعية تكون لبحث كيف تؤثر البولي بيبتيدات هذه في التشكيل غير العضوي، وفحص التأثيرات المتنوعة في المعدنة، (بما في ذلك التنوي، والنمو، والتشكل الحيوي، والتأثيرات الأنزيمية). وقد أجريت هذه الدراسات في إطار البيئات المائية الضرورية للوظائف البيولوجية للبروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPIs المختارة، وعلى الأخص تلك المرتبطة إلى الذهب [29] والفضة [25]. وتم التحكم في مورفولوجيا جسيمات الذهب النامية في المحلول، وذلك عن طريق وجود البروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPIs، المرتبطة بالذهب، المختارة من قبل الـ CSD [29]. وتم اختبار أكثر من ٥٠ طفرة (تحول) لتأثيرها على معدل تبلور جسيمات الذهب النانوية المتشكلة باختزال كلوريد الذهب $AuCl_3$ مع

سيترات الصوديوم. إن طفرتين من الطفرات يسرّعان معدل النمو البلوري، ويغيران مورفولوجيا الجسيم من ثماني السطوح مكعبي، (الشكل المعتاد لجسيمات الذهب المتنامية تحت شروط التوازن)، إلى مستوى (مسطح)، ثلاثي، أو سداسي (الشكل رقم ٥.٧). وعادةً ما تتشكّل البلورات المماثلة تحت الظروف الحمضية، في غياب البولي بيتيد المرتبط بالذهب [49]؛ ولذا يمكن استنتاج أن البولي بيتيد القاعدي قليلاً، ربما يعمل كحمض في تبلور الذهب المستوي.

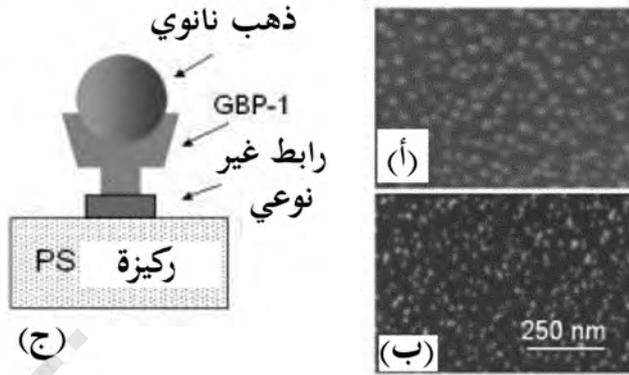


الشكل رقم (٥,٧) تأثير GEPI على مورفولوجيا البلورة النانوية. تم اختبار طفرتين من أصل ما يزيد عن ٥٠ من مكتبة البروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات المرتبطة الذهب، وقد أدت إلى تشكيل جسيمات ذهب مستوية، كما هو موضح في (أ) و (د)، مشابهة لتلك المتشكلة في الظروف الحمضية. (ب) أو الغليان (ج). إن الجسيمات المتشكلة في وجود الفوسفاتيز القلوي المشفر والموجه والظروف المتعادلة، لا تؤدي إلى تغير في مورفولوجيا جسيمات الذهب، كما هو موضح في (هـ) و (و) على الترتيب [29].

٥,٤,٣ تجميع الجسيمات غير العضوية النانوية عن طريق البروتينات المهندسة

جينياً لغير العضويات Assembly of Inorganic Nanoparticles via GEPIs

إن تنظيم الجسيمات غير العضوية النانوية وتثبيتها في هندسيات ثنائية أو ثلاثية الأبعاد، يعد أمراً أساسياً في الاستفادة من تأثيرات المقياس النانومتري [50]. وعلى سبيل المثال، يمكن أن تُنتج نقاط الكم باستخدام تقنيات التفريغ، مثل (تنضيد حزمة جزيئية MBE)، ويتم عرض مثل هذا التنظيم في الشكل رقم (٥,٨ (أ))، ضمن نظام الـ GaInAs/ GaAs (ببرسال T. Pearsall، ١٩٩٦، غير منشور). وعلى أية حال، فيمكن أن يتحقق هذا فقط تحت الظروف الشديدة، من درجة الحرارة المرتفعة، والضغط المنخفض جداً، والبيئة السامة. إن الأسلوب المرغوب فيه، ليس لتشييد الجسيمات غير العضوية تحت ظروف أقل شدة فقط، ولكن أيضاً لتجميعها/ وتثبيتها عن طريق التجميع الذاتي، باستخدام جزيئات وظيفية كعوامل اقتران. وقد تم إقران جسيمات لا عضوية، ووظفت باستخدام جزيئات اصطناعية، مثل (الثيولات، والدهون، وجزيئات بيولوجية، بما في ذلك الأحماض الأمينية، والبولي ببتيدات، وحمض نووي موظف ليجاند)، وتجميعها لإنتاج مواد مبتكرة، باستخدام خواص تميز هذه الجزيئات [1, 2, 40, 51]. إن الجسيمات النانوية المشيدة في الظروف الكيميائية الرطبة، وفي وجود هذه الجزيئات، مثل (السيترات، والثيول، والسيلان، والدهون، والأحماض الأمينية)؛ لا تغطي الجسيم فقط؛ وتؤدي إلى نمو متحكم فيه، ولكنها تمنع تجميعها غير المتحكم فيه أيضاً [40, 52, 53].



الشكل رقم (٥,٨). يوضح صور مجهر القوة الذرية نقاط الكم (GaInAs)، متجمعة على ركيزة ال GaAs (أ) عن تجميع ذاتي مستحث بإجهاد (سلالة) عالي التفريغ (تنضيد حزمة جزيئية MBE) (ب) عن طريق ال GBP-1 المتكرر سبعة (ج) توضيح تخطيطي لـ (ب)، حيث PS، هو ركيزة البولي استيرين، والرابط غير النوعي، هو جلوتارالدهيد.

وعلى أية حال، فالجزيئات الاصطناعية والبيولوجية المستخدمة كعوامل اقتران ستكون غير مخصصة لمادة معينة. وعلى سبيل المثال، فإن الثيول يقترن بجسيمات الذهب، وكذلك الفضة النانوية بطرائق متشابهة [40]، وبالمثل، تغطي أيونات السيترات الفلزات النبيلة بطريقة عشوائية [40, 52, 53]. الخطوة التالية المرغوبة في التمييز الجزيئي والتجميع، بواسطة الجزيئات ستكون باستخدام تسلسلات البولي بيتيد، التي تُميز غير العضويات بشكل محدد. وفي هذا السياق، فمن المحتمل أن تستخدم البروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPIs؛ لتجميع الجسيمات النانوية. وبالإضافة إلى تمييزها للسطح غير العضوي، فإن الميزة الأخرى للبروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPIs، أنها يمكن أن تُدمج جينياً إلى الوحدات الجزيئية الحيوية الوظيفية الأخرى أو ليجانداً؛ لإنتاج وحدات جزيئية وظيفية حيوية غير متجانسة (أو متعددة الوظائف) [54, 55]. وفي الشكل رقم (٥,٨ ب))، يتبين لنا تجمع جسيمات الذهب

النانوية على أسطح ميكا مستوية، مطلية بال GBP-1 [56]. وعندما استخدم الـ GBP-1 المتكرر سبع مرات كرابط، تشكلت جسيمات ذهب عالية الكثافة على السطح، وبتوزيع شبيه لذلك الموجود في الشكل رقم (٥,٨ (أ)). وبشكل واضح، في هذه الحالة، وخلافاً لشروط تنضيد الحزمة الجزيئية MBE، تم تحقيق تجميع تحت الظروف المحيطة من درجة حرارة أو ضغط في محلول مائي. ولذلك تشير الزخرفة المتجانسة من السطح بالذهب النانوي، إلى أن البروتينات قد تكون مفيدة في إنتاج تراكيب نانوية مصممة كنقاط الكم. ويوفر نشاط تمييز البروتين القدرة على التحكم في توزيع الجسيمات، بينما شروط تحضير الجسيم تسمح بالتحكم في الحجم.

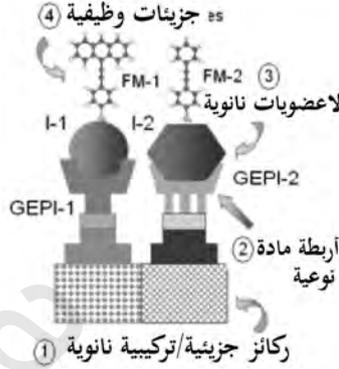
٥,٥ الآفاق المستقبلية والتطبيقات المحتملة في تقنية النانو

Future Prospects and Potential Applications in Nanotechnology

تحمل البروتينات وعددا كبيرا لإنشاء هياكل على المستوى الجزيئي أو النانوي [40, 3-1]؛ والهدف النهائي، هو استخدام البروتينات للتجميع والارتباط المتحكم فيه إلى غير العضويات. وتمثل البروتينات المهندسة جينياً بالنسبة إلى غير العضويات (GEPIs) فئة جديدة من الجزيئات البيولوجية، التي يتم اختيارها توافقياً للارتباط إلى أسطح غير عضوية محددة [3, 1]. ويمكن أن يكون للتجميع المرتب من البروتين المهندس جينياً لغير العضويات GEPI على الأسطح غير العضوية تأثير كبير على تطبيقات التقنية الجزيئية، ويقدم العديد من المزايا العملية المتكررة. ونتائجنا الموصوفة أعلاه، هي البراهين الأولى على أن البولي ببتيدات المختارة توافقياً، يمكن أن تتجمع ذاتياً بشكل محدد على سطح بلورة وحيدة غير عضوية مختارة، وأن البروتين المهندس جينياً لغير العضويات GEPI قد يُمَيِّز السطح غير العضوي جزيئياً. وإدراك حقيقة أن رابطات السيلان والثيول، هما اثنان من الرابطات الجزيئية الأخرى للأسطح (السيليكا) الأكسيد والفلز النبيل، التي تُشكِّل مجال الجزيئات المتجمعة ذاتياً حتى الآن، ومن

المتوقع طبيعياً أن التجميع الذاتي لطبقات البروتين المهندس جينياً لغير العضويات GEPI أحادية - SA(GEPI)M - "كمجموعات قوائم جزيئية"، سيفتح دروباً جديدة لتصميم وهندسة سطوح وظيفية جديدة ومبتكرة. ولقد برهنا بالفعل أن المواد غير العضوية، يمكن أن تتجمع في المستوى النانومتري، وذلك من خلال البروتينات التي تم هندستها جينياً؛ للارتباط إلى أسطح المواد المختارة. كما أنها المرة الأولى التي بينت أن للبروتينات المهندسة تأثيراً على مورفولوجيا البلورة [29]. إن الأسلوب الجيني التوافقي، هو الأسلوب العام، الذي يجب أن يكون قابلاً للتطبيق على العديد من الأسطح [10-13, 22-27]. ويجب أن تسمح قابلية التركيب لوحداث الارتباط بدمج جيني؛ لتمييز أجزاء ببتيد لمادتين من المواد المختلفة. ويمكن أن تستخدم الجزينات الوظيفية الحيوية غير المتجانسة الناتجة؛ لربط مواد مختلفة إلى بعضها بعضاً، وقد تسمح بتجميع مواد مركبة نانوية معقدة وهجينة. ويمكن أن تؤدي هذه النتائج إلى آفاق جديدة في تقنية النانو، والمحاكيات الحيوية، والتقنية الحيوية، وهندسة الأنسجة والبلورة، مثل التشكيل، وتعديل الشكل، وتجميع المواد، وتطوير طلاءات البروتين السطحية الخاصة. إحدى الفوائد المحتملة الخاصة للبروتين المهندس جينياً لغير العضويات GEPI، استخدامه كرابط جزيئي في تقنية النانو. لقد أصبحت كل من غير العضويات ذات البنية النانومترية، والجزينات الوظيفية لبنات بناء أساسية للمواد الوظيفية المستقبلية، مثل الإلكترونيات النانوية، والضوئيات النانوية، والمغناطيسيات النانو [1-3, 39, 40, 57]. وقبل تطبيق علم النانو في الأنظمة العملية والتشغيل، فهناك العديد من التحديات التي يجب مواجهتها. وتشمل بعض هذه التحديات، تنظيمات نانومترية وجزيئية، وصولاً إلى مقياس الهياكل الأكبر. وقد يتطلب النظام التقني النانوي - على سبيل المثال - عدة مكونات مصنوعة من مواد ذات خصائص فيزيائية وكيميائية مختلفة. ويجب أن تُوصل وتجمع هذه المواد المختلفة بدون معالجة خارجية. وكما هو مبين تخطيطياً في الشكل رقم

(٥,٩)، فقد تتضمن هذه المكونات اثنين أو أكثر من جسيمات نانوية لا عضوية، وعدة جزيئات وظيفية، وركائز متعددة المادة منمطة نانوية، تم تجميعها جميعاً من خلال تفاعل خاص مع جزيئات البروتين المهندس جينياً لغير العضويات GEPI المناسبة.



الشكل رقم (٥,٩). مثال توضيحي على إمكانية استخدام البروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPIs، كقوائم جزيئية في تقنية النانو الوظيفية. تجميع اثنين مختلفين من البروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPIs (GEPI - 1 و GEPI - 2) على ركيزة منمطة. ويمكننا استخدام، إما بروتين مصمم، متبوعاً بدمج جيني خاص بالبروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPIs، أو تجميع موجه لـ GEPIs على ركيزة ذات قالب نانوي. ويتم تثبيت جسيمين مختلفين من الجسيمات غير العضوية I-1 و I-2 انتقائياً على الـ GEPI-1 والـ GEPI-2، على الترتيب. ويتم تجميع الجزيئات المشيدة (أي الموصلات أو الضوئية) عن طريق المجموعات الجانبية الموظفة أو البروتينات المهندسة جينياً لغير العضويات GEPIs المهجنة على الجسيمات النانوية [3].

وبالرغم من إحراز تقدم كبير في تطوير بروتوكولات لبولي ببتيدات مرتبطة بالسطح، إلا أن العديد من الأسئلة تحتاج إلى إجابة قبل تصميمها القوي، وتحقيق تطبيقاتها العملية بشكل فعال. وتتضمن هذه الأسئلة ما يلي: (i) ما الأسس الفيزيائية والكيميائية لتمييز الأسطح غير العضوية بالبولي ببتيدات المهندسة جينياً؟ (ii) ما

خصائص التجميع طويلة المدى، والحركية، واستقرارية الترابط؟ (iii) ما الآليات الجزيئية لترابط البولي بيتيد المصمم إلى الفلزات (النييلة)، مقارنة بتلك الموجودة على اللافلزات؟ (iv) كيف تؤثر خصائص السطح على الترابط؟ (v) واستناداً على الرؤى المنجزة، هل يمكننا تطوير "خارطة طريق" لاستخدام الـ GEPIs كرابطات جزيئية، وفتح دروب جديدة في أنظمة تجميع ذاتية جزيئية في تقنية النانو على أساس علم الأحياء؟ يمكن الإجابة على بعض هذه الأسئلة باستخدام الأدوات البيولوجية والجزيئية، وتقنية النانو الموجودة، وبعضها يتطلب تكييف أساليب علم الأحياء إلى المحاكيات الحيوية الجزيئية. وعلى سبيل المثال، فمن الضروري أن تكون الخوارزميات جديدة متطورة؛ لتكييف نماذج طي البروتين الحالية إلى التمييز الجزيئي، وإعادة التشكل، وربط البروتينات المهندسة على مركبات غير عضوية مع مختلف الخصائص الكيميائية، وطوبولوجيا السطح والبلورات. واقتربت دراسات النمذجة بتطور سريع للأدوات التجريبية، مثل مجاهر مسبار المسح عالية الوضوح والمطيافيات، ومطاييف السطح الموضوعية، مثل (رنين البلازمون السطحي ورامان معزز السطح)، ومطيافية الإلكترون الضوئي للأشعة السينية، وحيود الأشعة السينية ذي الزاوية الصغيرة والملامسة grazing وصغيرة، ومطيافية الرنين النووي المغناطيسي للحالة الصلبة والسائلة، ومن المتوقع أن تؤدي مثل هذه الأدوات إلى بروتوكولات تنبؤية جديدة في تصميم متسلسلات البولي بيتيد المتكثرة، التي يمكن أن تستخدم خصيصاً لربط غير العضويات المطلوبة، وتتجمع ذاتياً عليها، ويمكن استخدامها كقوائم جزيئية. وباعتبار التطورات السريعة الحالية في اختيار بروتوكولات البولي بيتيد المرتبطة بغير العضوي، والتشكيلة المتزايدة من المواد المستعملة كركائز، وتكييفات النمذجة المتكثرة، يكون من المتوقع الحصول على إجابات للعديد من الأسئلة أعلاه في المستقبل القريب، بالتأثير المهم المتلاحق في مجالات متعددة التخصصات بتقنية النانو واسعة النطاق فعلاً وتطبيقات الطب النانوي.

شكر وتقدير Acknowledgments

نتقدم بالشكر إلى زملائنا A. Jen, F. Ohuchi, D. Schwartz, F. Baneyx, and B. Traxler (University of Washington, Seattle), J. Evans (New York University), K. Schulten (University of Illinois, Urbana), and S. Brown (University of Copenhagen) ؛ لمناقشتهم القيمة ، ولطلابنا وللباحثين : S. Dincer, D. Heidel, R. Braun, M. H. Zareie, M. Duman, E. Ventkatasubramanian, V. Bulmus, E. Ören, D. Sahin, and H. Fong ؛ لمساعداتهم التقنية. هذا البحث مدعوم من قبل الولايات المتحدة الأمريكية من برنامج DURINT (PM Dr. R. Campbell) ورقم المنحة DAAD19-01-1-04999 (Defense University Research Initiative on Nanotechnology).

الاختصارات Abbreviations

AFM	مجهر القوة الذرية
CSD	عرض سطح الخلية
GBP	بروتين مرتبط بالذهب
GEPI	بروتينات (بولي بيتيدات) مهندسة جينياً لغير العضويات
MBE	ترسيب حزمة جزيئية في بلورات ، تنضيد حزمة جزيئية
PD	عرض العائبة
PS	بولي استيرين
RD	عرض الريبوسوم

المراجع References

- 1 M. Sarikaya, C. Tamerler, A. Y. Jen, K. Schulten, F. Baneyx, Molecular biomimetics: nanotechnology through biology. *Nature Mater.* 2003, 2, 577–585.
- 2 P. Ball, Life's lessons in design. *Nature* 2001, 409, 413–416.

- 3 M. Sarikaya, C. Tamerler, D. T. Schwartz, F. Baneyx, Materials assembly and formation using engineering polypeptides, *Ann. Rev. Mater. Res.* 2004, 34, 373–408.
- 4 M. A. Cariolou, D. E. Morse, Purification and characterization of calcium-binding conchiolin shell peptides from the mollusk, *Haliostrucifera*, as a function of development. *J. Comp. Physiol. B.* 1988, 157, 717–729.
- 5 M. L. Paine, M. L. Snead, Protein interactions during assembly of the enamel organic extracellular matrix. *J. Bone Miner. Res.* 1996, 12, 221–226.
- 6 A. Berman, L. Addadi, S. Weiner, Interactions of sea-urchin skeleton macromolecules with growing calcite crystals: A study of intracrystalline proteins. *Nature* 1988, 331, 546–548.
- 7 A. Weizbicki, C.S. Sikes, J. D. Madura, B. Darke, Atomic force microscopy and molecular modeling of proteins and peptide binding to calcite. *Calcif. Tissue Intl.* 1994, 54, 133–141.
- 8 N. Kröger, R. Deutzman, M. Sumper, Polycationic peptides from diatom biosilica that direct silica nanosphere formation. *Science* 1999 286, 1129–1132.
- 9 J. N. Cha, K. Shimizu, Y. Zhou, S. C. Christiansen, B. F. Chmelka, et al., Silicatein filaments and subunits from a marine sponge direct the polymerization of silica and silicones in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96, 361–365.
- 10 S. Brown, Metal recognition by repeating polypeptides. *Nature Biotechnol.* 1997, 15, 269–272.
- 11 S. R. Whaley, D. S. English, E. L. Hu, P. F. Barbara, M. A. Belcher, Selection of peptides with semiconducting binding specificity for directed nanocrystal assembly. *Nature* 2000, 405, 665–668.
- 12 D. J. H. Gaskin, K. Strack, E. N. Vulfson, Identification of inorganic crystal-specific sequences using phage display combinatorial library of short peptides: A feasibility study. *Biotech. Lett.* 2000, 22, 1211–1216.
- 13 R. R. Naik, L. Brott, S. J. Carlson, M. O. Stone, Silica precipitating peptides isolated from a combinatorial phage display libraries. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2002, 2, 95–100.
- 14 D. Voet, J. G. Voet, *Biochemistry*. 2003, Wiley, New York
- 15 B. Muller, Natural formation of nanostructures: from fundamentals in metal heteroepitaxy to applications in optics and biomaterials science. *Surf. Rev. Lett.* 2001, 8, 169–228.
- 16 G. P. Smith, Filamentous fusion phage: Novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science* 1985, 228, 1315–1317.
- 17 M. Dani, Peptide display libraries: design and construction. *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 2001, 21, 469–488.
- 18 K. D. Wittrup, Protein engineering by cell surface display. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2001, 12, 395–399.
- 19 H. M. E. Azzazy, W. E. Jr. Highsmith, Phage display technology: clinical applications and recent innovations. *Clin. Biochem.* 2002, 35, 425–445.

- 20 W. J. Dower, L. C. Mattheakis, In vitro selection as a powerful tool for the applied evolution of proteins and peptides. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2002, 6, 390–398.
- 21 P. Samuelson, E. Gunneriusson, P.Å. Nygren, S. Ståhl, Display of proteins on bacteria. *J. Biotechnol.* 2002, 96, 129–154.
- 22 S. Brown, Engineering iron oxide-adhesion mutants of Escherichia coli phage k-receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992, 89, 8651–8655.
- 23 K. Kiargaard, J. K. Sorensen, M. A. Schembri, P. Klemm, Sequestration of zinc oxide by fimbrial designer chelators. *Appl. & Env. Microbiol.* 2000, 66, 10–14.
- 24 Nygaard S, Wandelbo R, Brown S. Surface specific zeolite-binding proteins. *Adv. Mater.* 2002, 14, 1853–1856.
- 25 R. R. Naik, S. J. Stringer, G. Agarwal, S. E. Jones, M. O. Stone, Biomimetic synthesis and patterning of silver nanoparticles. *Nature Mater.* 2002, 1, 169–172.
- 26 W. S. Lee, C. Mao, C. E. Flynn, A. M. Belcher, Ordering quantum dots using genetically engineered viruses. *Science* 2002, 296, 892–895.
- 27 C. M. Li, G. D. Botsaris, D. L. Kaplan, Selective in vitro effects of peptides on calcium carbonate crystallization. *Crystal Growth & Design* 2002, 2, 387–393.
- 28 C. Mao, C. E. Flynn, A. Hayhurst, R. Sweeney, J. Qi, G. Georgiou, B. Iverson, A. M. Belcher, Viral assembly of oriented quantum dot nanowires. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003, 100, 6946–6951.
- 29 S. Brown, M. Sarikaya, E. Johnson, Genetic analysis of crystal growth. *J. Mol. Biol.* 2000, 299, 725–732.
- 30 C. Schmidt-Dannert, F. H. Arnold, Directed evolution of industrial enzymes. *Trends. Biotechnol.* 1999, 17, 135–136.
- 31 H. Dai, C. K. Thai, M. Sarikaya, F. Baneyx, D. T. Schwartz. Through-mask anodic patterning of copper surfaces and film stability in biological media. *Langmuir*, 2004, 20, 3483–3486.
- 32 R. Braun, M. Sarikaya, K. S. Schulten, Genetically engineered gold-binding polypeptides: Structure prediction and molecular dynamics. *J. Biomater. Sci.* 2002, 13, 747–758.
- 33 S. E. Sakiyama-Elbert, J. A. Hubbell, Design of novel biomaterials. *Ann. Rev. Mater. Res.* 2001, 31, 183–201.
- 34 B. Ratner, F. Schoen, A. Hoffman, J. Lemons (eds.), *Biomaterials Science: Introduction to Materials in Medicine*. Academic Press, San Diego, 1996.
- 35 J. R. Epstein, I. Biran, D. R. Walt, Fluorescence based nucleic acid detection and microarrays *Anal. Chim. Acta* 2002, 469, 3–36.
- 36 M. L. Yarmush, A. Yarayam, Advances in proteomics technologies. *Ann. Rev. Biomed. Eng.* 2002, 4, 349–373.
- 37 P. Cutler, Protein Arrays: The current state of the art. *Proteomics* 2003, 3, 3–18.
- 38 M. E. Chicurel, D. D. Dalma-Weiszhausz, Microarrays in pharamgenomics – advances and future promise. *Pharmacogenomics* 2002, 3, 589–601.
- 39 D. I. Gittins, D. Bethell, D. J. Schiffrin, R. J. Michols, A nanometer-scale electronic switch consisting of a metal cluster and redox-addressable groups. *Nature* 2000, 408, 67–69.

- 40 C. M. Niemeyer, Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: Biotechnology meets materials science. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001, 40, 4128–4158.
- 41 G. M. Whitesides, J. P. Mathias, C. T. Seto, Molecular Self-assembly and nanochemistry- A chemical strategy for the synthesis of nanostructures. *Science* 1991, 254, 1312–1319.
- 42 A. Ulman (ed.), *Self-assembled Monolayers of Thiols*. Academic Press, San Diego, 1998.
- 43 R. B. Frankel, R. P. Blakemore (ed.), *Iron Biominerals*. Plenum, New York, 1991.
- 44 M. Glimcher, M. Nimni, Collagen cross-linking and biomineralization. *Connect. Tissue Res.* 1992, 27, 73–83.
- 45 S. Schultze, G. Harauz, T. I. Beveridge, Participation of a cyanobacterial S layer in fine grain mineral formation. *J. Bacteriol.* 1992, 174, 7971–7981.
- 46 M. Sarikaya, Biomimetics. Biomimetics: Materials fabrication through biology *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 14183–14185.
- 47 A. M. Belcher et al., Control of crystal phase switching and orientation by soluble molluskshell proteins. *Nature* 1996, 381, 56–58.
- 48 P. Mukharjee, S. Senapati, D. Mandal, A. Ahmad, M. I. Khan, et al., Extracellular synthesis of gold nanoparticles by the fungus *Fusarium oxysporum*. *Chem. Biol. Chem.* 2002, 3, 461–463.
- 49 J. Türkovich, P. C. Stevenson, J. Hillier, A study of the nucleation and growth of processes in the synthesis of colloidal gold. *Trans. Faraday Soc. Disc.* 1951, 11, 55–75.
- 50 B. Muller, Natural formation of nanostructures: from fundamentals in metal heteroepitaxy to applications in optics and biomaterials science. *Surf. Rev. Lett.* 2001, 8, 169–228.
- 51 O. Yamauchi, A. Odani, S. Hirota, Metal ion assisted weak interactions involving biological molecules. From small complexes to metalloproteins. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2001, 74, 1525–1545.
- 52 R. Djulali, Y. Chen, H. Matsui, Au nanowires from sequenced histidine-rich peptide. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 13660–13661.
- 53 Y. Xia, Y. Sun, Shape-Controlled Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles. *Science* 2002, 298, 2176–2179.
- 54 A. R. McMillan, C. D. Pauola, J. Howard, S. L. Chen, N. J. Zaluzec, et al., Ordered nanoparticle arrays formed on engineered chaperonin protein templates. *Nature Mater.* 2002, 1, 247–52.
- 55 D. Moll et al. S-layer-streptavidin fusion proteins as template for nanopatterned molecular arrays. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002, 99, 14646–14651.
- 56 M. Sarikaya, H. Fong, D. Heidel, R. Humbert, Biomimetic assembly of nanostructured materials. *Mater. Sci. Forum* 1999, 293, 83–87.
- 57 National Nano-boitechnology Initiative. 2003, <http://www.nano.gov>.