NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.12/48 , 2022

Scan online to view this article

Evaluation of the effect of carbon-based nanocomposites containing Trachyspermum on *gtf* gene expression in *Streptococcus mutans*

Shokofeh Mazhab jafari [1], Fatemeh Yazdian [1.2*], Farzaneh Hosseini [1], Behnam Rasekh [3]

1. Department of Microbiology, Faculty of Bioscience, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Life Science Engineering, Faculty of New Science and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran
3. Director Environment & Biotechnology Research Division, Research Institute of Petroleum Industry (RIPI), Tehran, Iran

Abstract

Aim and Background: The bacterium *Streptococcus mutans* is the main cause of dental caries. The formation of biofilms of this bacterium depends on the presence of the enzyme glucosyltransferase, which is encoded by the *gtf* gene. The aim of this study was evaluated the effect of polysaccharide nanocomposites of Chitosan(Cs)/Carboxymethyl Starch(CMS) /CQD.Mg /Trachyspermum on *gtf* gene expression in *Streptococcus mutans* using Real Time-PCR method in the formation of dental biofilm.

Materials and Methods: After preparation of Chitosan(Cs)/Carboxymethyl Starch(CMS) /CQD.Mg /Trachyspermum nanocomposite, its antimicrobial effect on *Streptococcus mutans* ATCC 35668 was investigated by microdilution method. The morphology and structural properties of the nanocomposite were investigated by FTIR and SEM analysis. The expression of *gtfD, gtfC, gtfB* genes was examined by Real Time-PCR technique. Data analysis was performed by $SPSS_{22}$ software and the means were compared based on ANOVA at the level of 0.05.

Results: The particle size of Chitosan(Cs)/Carboxymethyl Starch(CMS)/CQD.Mg/Trachyspermum nanocomposite was obtained in the range of 36-40 nm. The results of FTIR spectrum indicate the formation of a bond between carbon-quantum materials-magnesium and Trachyspermum essential oil in the nanocomposite. The antimicrobial effect of Cs/ CMS/CQD.Mg/Trachyspermum (0.168 mg/ ml) was obtained. RT-PCR results showed that *gtfC* gene expression was significantly reduced (P=0.049) in nanocomposite-treated cells, indicating the strong effect of Cs/CMS/CQD.Mg/Trachyspermum nanocomposite suppresses *gtfC* gene and reduces biofilm formation. No significant relationship was observed in the expression of *gtfB* and *gtfD* genes in nanocomposite-treated cells compared to the control group (P = 0.067, P = 0.187).

Conclusion: According to the results, the expression of *gftC* gene in cells treated with nanocomposite containing Trachyspermum has decreased and nanocomposite has a strong effect in suppressing genes and reducing the formation of microbial biofilm of teeth.

Keywords: Gene expression, *Streptococcus mutans,* Polysaccharide, Dental biofilm, Iau Science.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

Corresponding author:
Department of Life Science Engineering, Faculty of New Science and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran
Email: yazdian@ut.ac.ir

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۲ - شماره۴۸ - پاییز۱۴۰۱
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

ارزیابی تأثیر نانوکامپوزیت مبتنی‌بر کربن‌کوانتوم‌دات حاوی زنیان بر بیان ژن *gtf* در *استرپتوکوکوس موتانس*

شکوفه مذهب‌جعفری[۱]، فاطمه یزدیان[۱و۲*]، فرزانه حسینی[۱*]، بهنام راسخ[۳]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۳. رئیس پژوهشکده محیط زیست و بیوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: باکتری *استرپتوکوکوس‌موتانس* عامل اصلی ایجاد پوسیدگی دندان است. ایجاد بیوفیلم‌های باکتری مذکور منوط به حضور آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز است که توسط ژن (*gtf*) Glycosyltransferase کدگذاری می‌شود. هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر نانوکامپوزیت پلی‌ساکاریدی زیستی زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم-دات-منیزیم (Trachyspermum-Cs-CMS-CQD.Mg) بر میزان بیان ژن‌های *gtfD, gtfC, gtfB* در *استرپتوکوکوس موتانس* با استفاده از روش Real Time-PCR در تشکیل بیوفیلم دندانی است.

مواد و روش‌ها: پس از تهیه نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم، اثر ضد میکروبی آن روی باکتری *استرپتوکوکوس‌موتانس* ATCC 35668 با روش میکرودایلوشن بررسی گردید. مورفولوژی و خصوصیات ساختاری نانوکامپوزیت توسط طیف سنجی‌مادون قرمز (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بررسی گردید. بیان ژن‌های *gtfD, gtfC, gtfB* با تکنیک Real time-PCR مورد بررسی قرار گرفت. تحلیل داده‌ها با نرم افزار $SPSS_{22}$ و مقایسه میانگین‌ها براساس ANOVA در سطح اطمینان ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: اندازهٔ ذرات نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم درمحدوده ۴۰-۳۶ نانومتر به‌دست آمد. نتایج طیف FTIR نشان‌دهنده تشکیل پیوند بین کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم و اسانس زنیان در نانوکامپوزیت است. اثر ضدمیکروبی نانوکامپوزیت‌زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم (۰/۱۶۸میلی‌گرم‌برمیلی‌لیتر) به‌دست‌آمد. نتایج RT-PCR نشان داد، بیان ژن *gtfC* به‌طور معناداری (P=۰/۰۴۹) در سلول-های تیمار شده با نانوکامپوزیت کاهش یافته، که نشان‌دهنده اثر قوی نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل-نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم درسرکوب ژن *gtfC* و کاهش تشکیل بیوفیلم است. ارتباط معناداری در بیان ژن‌های *gtfB* و *gtfD*، در سلول‌های تیمار شده با نانوکامپوزیت نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (P=۰/۱۸۷, P=۰/۰۶۷).

نتیجه‌گیری: طبق نتایج میزان بیان ژن *gftC* در سلول‌های تحت درمان با نانوکامپوزیت حاوی زنیان کاهش داشته و نانوکامپوزیت داری اثر قوی در سرکوب ژن‌ها و کاهش تشکیل بیوفیلم میکروبی دندان است.

واژه‌های کلیدی: ژن *gtf*، *استرپتوکوکوس‌موتانس*، نانوکامپوزیت، بیوفیلم دندانی، Iau Science.

مقدمه

پوسیدگی و بیماری‌های عفونی شایع‌ترین بیماری‌های دهان و دندان در انسان هستند (۱). پوسیدگی دندان ناشی از رشد بیش ازحد گروه خاصی از میکروارگانیسم‌ها در سطح دندان است که تولید پلاک‌های دندانی می‌کنند (۲). در پلاک دندانی حدود هفت‌صد گونه باکتریایی گزارش شده، در مرحله اول تشکیل پلاک، با تولید ترکیب‌های بیوشیمیایی مؤثر اتصال اولیه رخ داده و کلونی اولیه تشکیل می‌شود. در مرحله دوم باکتری‌ها قادر به

نویسنده مسئول:
گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران
پست الکترونیکی: yazdian@ut.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۳

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

اتصال به کلونی اولیه، تشکیل یک ساختار منحصر به‌فرد را داده و موجب مقاوم شدن آن‌ها به عوامل ضدمیکروبی می‌گردند. به این ساختارهای ثانویه شامل چندگونه باکتریایی، بیوفیلم گفته می‌شود (۳). از دلایل اصلی پوسیدگی دندان، تخمیر کربوهیدرات‌ها به‌دلیل فعالیت میکروارگانیزم‌ها است. طبق تحقیقات اکثر باکتری‌های جداسازی شده متعلق‌به جنس *استرپتوکوکوس* بوده و *استرپتوکوکوس‌موتانس* عامل اصلی در پوسیدگی دندان است (۴). عوامل اصلی پاتوژنی *استرپتوکوکوس‌موتانس* که باعث تشکیل بیوفیلم موفق باکتری در دهان می‌گردند چسبندگی، توانایی تولید اسید و تحمل اسید است. رژیم غذایی حاوی میزان بالای ساکاروز عاملی مثبت برای رشد و تشکیل بیوفیلم‌های *استرپتوکوکوس‌موتانس* است، زیرا *استرپتوکوکوس‌موتانس* توانایی متابولیسم ساکاروز را بهتر از سایر باکتری‌های موجود در دهان دارا بوده و ساکاروز را به اسیدلاکتیک و گلوکان نامحلول در آب تبدیل می‌کند. گلوکان نامحلول از عوامل اصلی اتصال باکتری به دندان وایجاد پلاک‌دندانی می‌باشد و به‌وسیله گلیکوزیل-ترانسفرازها[1] (*gtf*) از ساکاروز سنتز می‌گردد. این فرآیند بیوشیمیایی منجربه ثابت‌شدن *استرپتوکوکوس موتانس* به‌سطح دندان و ایجاد پلاک‌دندان است. *استرپتوکوکوس موتانس* حداقل سه نوع ژنوتیپ جداگانه *gtf* تولید می‌کند: ۱- *gtfB* گلوکان نامحلول در آب با پیوندهای۳-۱ α تولید می‌کند. ۲- *GtfC* دو نوع گلوکان محلول و نامحلول با پیوندهای۶-۱β تولید می‌کند. ۳- *gtfD* به‌صورت غالب‌تر گلوکان نامحلول با پیوندهای ۶-۱α تولید می‌کند. هریک از انواع *gtf*ها نقش مجزا دارند اما دارای هم‌پوشانی هستند. *gtfC* تمایل‌به اتصال به بزاق پوشیده شده با هیدروکسی آپاتیت دارد. این اتصال باعث افزایش توانایی اتصال باکتری به سطح دندان می‌گردد. *gtfB* با تولید گلوکان نامحلول و اتصال محکم به باکتری‌ها باعث خوشه-بندی سلول‌ها شده و انعطاف‌پذیری پلاک را به‌شدت افزایش می‌دهد. به‌نظر می‌رسد *gtfD* نقش غالب را در تولید گلوکان نامحلول در مراحل بعدی به‌عهده دارد (۵). در واقع، حذف ژن‌های *gtf C, B ,D* در *استرپتوکوکوس موتانس* منجر به کاهش تشکیل بیوفیلم با حداقل تراکم باکتری‌ها و پلی‌ساکاریدها داخل بدن می‌شود (۶). این امر نشان می‌دهد سرکوب ژن‌های *gtf* یک روش جایگزین برای مختل شدن فرایند تشکیل بیوفیلم است. روند تحقیقات اخیر به پیشگیری و کنترل فرآیند تشکیل بیوفیلم اختصاص یافته است. داروهای انتخابی درمان عفونت‌های دهانی حاصل از *استرپتوکوکوس موتانس* به‌دلیل افزایش مقاوت آنتی‌بیوتیکی و مشکلات تغییر رنگ دندان به‌طور معمول فقط در درمان‌های کوتاه مدت استفاده می‌شوند (۷). بر این اساس، تحقیقات حاضر روی توسعه عوامل جدید آنتی باکتریال که بتوانند بر این مقاومت غلبه کنند صورت می‌پذیرد (۸). یک گام اساسی برای رسیدن به این هدف توسعه روش‌های ضدمیکروبی با نفوذ راحت در ساختارهای بیوفیلم است (۹). نانوذرات پلیمرهای طبیعی به‌نظر می‌رسد در درمان و کنترل بیماری‌های دهان و دندان و حامل‌های بیولوژیکی برای نقل و انتقال مواد به بیوفیلم مطلوب باشند (۱). کیتوزان قابلیت استفاده به-عنوان یک ماتریکس به‌منظور دارورسانی و طیف وسیعی از کاربرد در بیودنتال را دارد (۱۰). نشاسته پلی‌ساکارید طبیعی ارزان قیمت، زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر و غیرسمی است (۱۱). نشاسته‌کربوکسی‌متیل، به شکل تجربی به‌عنوان انتقال دهنده کارآمد دارو استفاده‌شده‌است (۱۲). به‌تازگی، نانومواد کربنی به‌عنوان ترکیب‌های آنتی-باکتریایی استفاده می‌شود. از میان این‌مواد، کربن‌دات‌ها (CDs) پتانسیل بالایی در کاربردهای زیست‌پزشکی دارند (۱۳،۱۴).کربن‌کوانتوم‌دات (CQD)[2] یکی از مناسب‌ترین نانومواد کربنی است که به‌دلیل داشتن نسبت بالای سطح به حجم، داشتن گروه کربوکسیل که باعث حل شدن در آب می‌شود و سازگاری با محیط زیست، کاربرد فراوان دارد (۱۵،۱۶). اسانس گیاهان و ترکیب‌های عمده شیمیایی آن‌ها کاندیدای بالقوه به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی هستند (۱۷). زنیان[3] یک سرده از تیره چتریان شامل گیاهان یک ساله با برگ‌های شانه‌ای مرکب و گلبرگ‌های سفید است. زنیان به‌دلیل ترکیب‌های منحصربه فرد، فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی از جمله خواص ضدباکتری از خود نشان می-دهد. بخشی که برای این گیاه و میوه آن استفاده شده دارای مقدار زیادی تیمول است که دارای خواص ضد باکتری مربوط به این قسمت است (۱۸،۱۹). ترکیب‌های فرار موجوددر اسانس روغنی‌به عوامل‌محیطی نور و حرارت به‌شدت حساس هستند، لذا به‌منظور کنترل عوامل خارجی، انکپسولاسیون در نانوکامپوزیت‌های پلی‌ساکاریدی پیشنهاد می‌شود (۲۰). در پژوهش حاضر نانوکامپوزیت-زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/منیزیم. کربن-کوانتوم‌دات ساخته شد و مورفولوژی، خصوصیات ساختاری و فعالیت ضدمیکروبی آن بررسی گردید، سپس با روش RT-PCR بیان ژن‌های *gtfB, gtfC, gtfD* توسط سه نانوکامپوزیت ارزیابی شد.

[1] Glycosyltransferase (*gtf*)

[2] Carbon quantum dots

[3] *Trachyspermum*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

مواد و روش‌ها

استرپتوکوکوس موتانس ATCC 35668 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (IROST) خریداری شد. کیتوزان (low M_W)، دی‌آمونیوم هیدروژن سیترات از شرکت مرک تهیه شدند. دندان‌های سالم از دانشکده دندان‌پزشکی دانشگاه تهران تهیه و توسط دستگاه برش Mecatome مدل Presi فرانسه به اندازه‌های برابر (۳ میلی‌متر) برش داده شد.

جهت تعیین خصوصیات ساختاری و مورفولوژی نانوکامپوزیت، اندازه‌گیری متوسط سایز ذرات از دستگاه‌های FT-IR مدل ۱۰، ۰۳، ۰۶، شرکت Perkin Elmer Spectrum، میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل KYKY_EM۳۲۰۰، اسپکتروفوتومتر مدل PG Instrument، دستگاه انکوباتور مدل Binder و شیکرانکوباتور مدل IKA و دستگاه سانتریفیوژ مدل Sigma استفاده شد.

آماده‌سازی نانوذرات کیتوزان و کربوکسی‌متیل-نشاسته

نشاسته طی فرآیند اتری شدن در ایزوپروپانول/آب به کربوکسی‌متیل‌نشاسته تبدیل شد (۲۱). نانوذرات کیتوزان و کربوکسی‌متیل‌نشاسته با استفاده از روش ژلاتین یونی تهیه شدند. رقت‌های مختلف کربوکسی‌متیل‌نشاسته (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ وزنی٪) با حل کردن پودر کربوکسی‌متیل نشاسته در ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه دمای ۵۰°C توسط هم‌زن مغناطیسی (۵۰۰rpm) تهیه شد؛ رقت‌های مختلف کیتوزان (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ وزنی٪) با انحلال پودر کیتوزان در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک ۰/۵٪ (حجمی/حجمی) در دمای اتاق توسط هم‌زن مغناطیسی (۷۰۰rpm) تهیه شد. محلول کیتوزان توسط سدیم هیدروکسید با رقت ۱ مولار تا pH ۵ تنظیم شد، ۱۰ میکرولیتر توئین۲۰ به محلول‌ها به‌عنوان عامل امولسیون اضافه شد تا محلول با پراکندگی یکنواخت و بدون تراکم حاصل شود (۲۲).

تهیه کربن کوانتوم دات-منیزیم به روش هیدروترمال

ابتدا ۲ گرم دی‌آمونیوم هیدروژن سیترات به‌عنوان منبع کربن به‌وسیله آب مقطر در حجم ۷۵ میلی‌لیتر در دمای ۲۵°C به‌صورت کامل حل شد، سپس ۱ گرم $MgCl_2$ به‌عنوان منبع فلزی اضافه نموده تا به‌صورت کامل حل شود. مقداری سدیم هیدروکسید به‌عنوان پایدارکننده به محلول فوق افزوده تا محلول همگن به‌دست آید، این محلول همگن درون بمب هیدروترمال ریخته و بمب هیدروترمال به‌مدت ۲۴ ساعت درون آون دمای ۱۵۰°C قرار داده شد تا کربن کوانتوم دات-منیزیم تشکیل شود. کربن‌کوانتوم-دات-منیزیم با غلظت نهایی ۴۰ میلی‌گرم‌برمیلی‌لیتر به‌دست آمد. جهت پودر کردن نمونه از فریزدرایر استفاده گردید.

سنتز نانوکامپوزیت کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم

ابتدا ۰/۱۵ گرم کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم به‌دست آمده، در بشر ۲۵۰ میلی‌لیتر حاوی ۳۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه در حال هم‌زدن، پخش شد. نسبت ۳:۱ ازمحلول‌های نانوذرات کیتوزان و کربوکسی‌متیل‌نشاسته به آرامی و در دستگاه التراسوند (Hilscher UP200H, Germany) تحت سونیکیت مدت ۵۰ دقیقه اضافه شد. چندین بار سوسپانسیون حاصل ۲ دقیقه در ۱۰۰۰rpm سانتریفوژ شد، و توسط آب دیونیزه و اتانول شسته شد. نانوکامپوزیت حاصل مدت ۵ دقیقه در نیتروژن مایع ذخیره شد، سپس به دستگاه انجماد خشک انتقال یافت. ارزیابی کیفیت و مورفولوژی نانوکامپوزیت توسط SEM صورت پذیرفت.

اسانس‌گیری گیاه زنیان

اسانس روغنی نمونه گیاه خشک به‌روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر (مدل laborota 4003 شرکت Heidolph آلمان) جداسازی شد. در هر بار اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم بخش‌های هوایی گیاه به‌صورت پودر شده در بالن ۱۰۰۰ میلی‌لیتر دستگاه ریخته شد و مقداری آب معادل۴ تا ۶ برابر وزن گیاه، جهت نرم شدن بافت گیاه به آن اضافه گردید. عمل‌استخراج مدت ۵ ساعت انجام پذیرفت و اسانس حاصله بعد از تقطیر، جمع‌آوری شد و پس از آب‌گیری با سولفات سدیم و حل شدن در حلال دی متیل سولفوکسید اسانس گیاه مورد استفاده قرار گرفت (۲۳).

سنتزنانوکامپوزیت‌زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل-نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم

اسانس زنیان به‌مقدار ۰/۵٪ به محلول پایه نانوکامپوزیت کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم اضافه شد و محلول نهایی مدت ۵ دقیقه در فرکانس ۴۰KHz دستگاه اولتراسوند (Hilscher UP200H, Germany) سونیکیت شد (۲۴).

تعیین خصوصیات نانوکامپوزیت

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

تعامل بالقوه بین ترکیب‌ها در سیستم نانوکامپوزیتی و بررسی گروه‌های عاملی توسط FT-IR در دمای اتاق صورت پذیرفت. طیف FT-IR نانوکامپوزیت ساخته شده بر روی نمونه‌های لیوفیلیزه با استفاده از دستگاه طیف-سنج ثبت شد. میزان mg ۱ از نانوکامپوزیت در هاون همراه با KBr پودر شد و با ضخامت ۰/۱ سانتی‌متر روی صفحه قرار گرفت. طیف در محدوده Cm^{-1} ۴۰۰۰-۴۵۰۰ مشاهده شد. ویژگی‌های مورفولوژی سطح نانوکامپوزیت فریزدرای شده با استفاده از SEM با قدرت ۱۰۰ وات بررسی گردید (۲۵).

کشت میکروارگانیسم

چند کلنی از رشد یک‌روزه باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* در محیط کشت بلاد آگار به ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع BHI منتقل و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C و ۱۵۰rpm کشت داده شد؛ سپس ۵۰۰ میکرولیتر از این کشت به ۲۰ میلی‌لیتر محیط BHI تازه اضافه و به شیکر انکوباتور منتقل گردید تا باکتری‌ها در فاز میانی رشد لگاریتمی خود OD_{600} (۵/۶-۰/۰) قرار گیرند. مقدار ۱۵ میلی‌لیتر محیط را مدت ۱۸ دقیقه در دمای ۴°C و rpm ۴۰۰۰ سانتریفوژ کرده تا محیط کشت از سلول‌های باکتری جدا شود (۲۶).

تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) نانوکامپوزیت روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*

جهت تعیین MIC نانوکامپوزیت روی باکتری *موتانس*، کشت ۱۸ساعته باکتری درمحیط کشتBHI دمای ۳۷°C و ۱۵۰rpm تهیه شد. جذب نوری، OD_{600} مادهٔ تلقیح توسط BHI تازه روی ۰/۱ تنظیم گردید. برای تعیین MIC نانوکامپوزیت در پلیت ۹۶ چاهکی، در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر مادهٔ تلقیح و حجم‌های ۰، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ میکرولیتر از محلول نانوکامپوزیت (۱ میلی-گرم بر میلی‌لیتر) (با سه تکرار) اضافه شد، هم‌چنین برای اسانس زنیان و نانوکامپوزیت بدون اسانس این مراحل در همان پلیت انجام شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷، رشد باکتری با ثبت OD_{600} توسط ELISA اندازه‌گیری شد.MIC نانوکامپوزیت برابر با کم‌ترین غلظت است که منجر به OD_{600} کم‌تر یا مساوی ۰/۰۵ شود (۲۷).

تعیین اثر نانوکامپوزیت روی تولید بیوفیلم باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*

جهت تعیین اثر نانوکامپوزیت روی تولید بیوفیلم باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* ابتدا محیط کشت TSB[4] حاوی ۲٪ گلوکز تهیه و استریل شد. جهت تهیه سوسپانسیون باکتری، *استرپتوکوکوس موتانس* در مقداری از همین محیط به کدورت نیم مک فارلند رسانده شد. در انتها در یک پلیت ۹۶ خانه U شکل (کره-SPL) به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری تهیه شده در محیط TSB و یک قطعه از مینای دندان اضافه گردید. پلیت ۲۴ ساعت انکوبه شد. در این روش، ۳چاهک کنترل منفی (عدم رشد باکتری در نتیجه عدم تشکیل بیوفیلم) و ۳ چاهک کنترل مثبت (رشد باکتری و تشکیل بیوفیلم) در یک پلیت باید اختصاص داشته باشد. پس از ۲۴ ساعت، جهت مطالعه بیوفیلم طبق روش رنگ‌آمیزی، ابتدا محیط کشت‌ها از چاهک‌ها حذف گردید و چاهک‌ها و قطعهٔ مینای دندان ۲-۱ بار با بافر PBS سترون با حجم ۲۰۰ میکرولیتر شسته شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از محلول هر نانوکامپوزیت (۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر) در حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) در محلول بافر فسفات (pHهای ۵ و ۷) به چاهک‌های مربوطه منتقل شد و مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷°C انکوبه گردید. مرحلهٔ بعد محلول نانوکامپوزیت حذف شد چاهک و مینای دندان ۳ بار با پیپت کردن ۲۰۰ میکرولیتر بافر PBS سترون شستشو داده شد. به-منظور فیکس‌کردن بیوفیلم، به هر چاهک۲۰۰ میکرولیتر متانول مطلق افزوده شد و ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. پس از ۱۵ دقیقه متانول حذف و چاهک ها در معرض هوا خشک شدند. پس از خشک شدن مینای دندان، به هر چاهک۱۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۱٪ اضافه و ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. پس از ۵ دقیقه کریستال ویوله حذف گردید و چاهک و مینای دندان ۵ بار با پیپت کردن ۲۰۰ میکرولیتر بافر PBS سترون شستشو داده شد. در آخر به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک v/v ٪۳۳ اضافه شد و پس از ۲۰ دقیقه جذب نوری در ۵۷۰ نانومتر قرائت گردید. برای بررسی نتایج از روش Optical density cut-off (ODc) استفاده شد. به‌منظور بررسی ابتدا انحراف معیار و میانگین OD چاهک‌های کنترل منفی محاسبه سپس طبق فرمول زیر محاسبه انجام شد (۳۶و ۳۷). معادله ۱:

ODc= چاهک‌های کنترل منفی OD میانگین+ (۳× انحراف معیار چاهک‌های کنترل منفی)

بعد از محاسبه ODc یا کات اف، OD چاهک‌های مورد مطالعه طبق موارد زیر دسته‌بندی شد.

[4] Tryptic soy broth

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

بیوفیلم قوی	$OD > 4\times ODc$
بیوفیلم متوسط	$2\times ODc < OD \leq 4\times ODc$
بیوفیلم ضعیف	$ODc < OD \leq 2\times ODc$
بیوفیلم منفی	$OD \leq ODc$

بررسی بیان ژن‌ها به‌روش Real-time PCR

ژن‌ها درباکتری *استرپتوکوکوس موتانس*، ژن اختصاصی گونه‌بوده و بیان ژن‌های *gtfB, gtfC, gtfD* با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز RT-PCR بررسی شد. از ژن sRNA ۱۶ به‌منظور کنترل داخلی واکنش‌های PCR استفاده گردید. RNA از سلول با روش RNX-PLUS استخراج شد (Invitrogen, Korea). غلظت RNA با روش تعیین دانسیته نوری توسط دستگاه نانودراپ در طول‌موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. RNAهای استخراج شده در نمونه‌ها نشان داد نسبت جذب نوری ۲۸۰/۲۶۰ در تمامی نمونه‌های تیمار شده و شاهد بالای ۱/۹۵ با حداقل غلظت ۵۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر بوده و برای ادامه مراحل سنتز cDNA و Real time PCR مناسب هستند. برای ساخت cDNA از پروتکل سازنده کیت bio Fact, (Korea bio Fact) استفاده شد. واکنش qPCR برای تجزیه و تحلیل کمی بیان ژن به روش سایبرگرین با دستگاه Corbett انجام گرفت. جهت انجام واکنش PCR، نمونه‌های cDNA به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شدند. مواد مورد نیاز برای انجام واکنش PCR شامل این موارد است: نمونه‌های cDNA الگو، DNA ase و RNA ase free، Water، Taq DNA Polymerase Master Mix RED (Amplicon)، Forward Primer، Reverse Primer و cDNA الگو استفاده شد. استفاده شد. طراحی آغازگر با استفاده از برنامه پرایمر ۳ انجام شد. خصوصیات ترمودینامیکی و شکل سه‌بعدی آغازگرها با نرم‌افزار ژن رانر ۵ بررسی شد. پرایمرهای طراحی شده برای ژن‌های مورد نظر مطابق جدول ۱ است.

تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار $SPSS_{22}$ صورت گرفت. ارزیابی تفاوت گروه‌های مورد آزمایش و شاهد توسط $Graph\ pad\ Prism_{6.01}$ انجام شد. مقایسه تفاوت معنی‌دار بین مقادیر به‌دست آمده از بیان ژن‌های موردنظر در سطح آماری ۰/۰۵ توسط آزمون آماری ANOVA ارزیابی شد و مقادیر $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

مشخصه‌یابی نانوکامپوزیت

طیف‌سنجی مادون قرمز (FT.IR)

از FT.IR برای بررسی تعامل اسانس زنیان و نانوحامل پلی‌ساکاریدی استفاده شد. طیف FT.IR نانوکامپوزیت حاوی عصاره زنیان توضیح داده‌شده است.

طیف FTIR نانوکامپوزیت کیتوزان/ کربوکسی‌متیل نشاسته/ کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم

مطابق شکل ۱، پیک جذبی در محدوده $3446Cm^{-1}$ به ارتعاش کششی گروه O–H اشاره دارد. پیک جذبی گسترده درمحدوده $3200\text{-}3500Cm^{-1}$(۳۴۴۴,۴۲) مربوط به ارتعاش کششی نامتقارن NH_2 و پیوند هیدروژنی گروه O–H اشاره دارد، ارتعاشات در ناحیه $1738\ Cm^{-1}$ به گروه کربونیل (کربوکسیلیک اسید موجود در سطح CQD) اختصاص دارد (۲۸). پیک ظاهر شده در Cm^{-1} ۱۶۴۴، به ارتعاش کششی گروه کربوکسیل (آمید۱) کیتوزان نسبت داده می‌شود (۲۹). پیک موجود در Cm^{-1} ۱۴۱۷ به ارتعاشات کششی C-H اختصاص دارد. پیک جذبی در $1032Cm^{-1}$ به‌ارتعاشات کششی C-O اختصاص دارد.

طیف FTIR نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/ کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم

بر اساس شکل ۲ پیک جذبی $3557\ Cm^{-1}$ نشان‌دهنده ارتعاش کششی گروه O–H است. پیک‌های موجود در طول‌موج $600\text{-}3900Cm^{-1}$ نشان از وجود گروه‌های عاملی متصل به ترکیب‌های شیمیایی عصاره متانولی زنیان هستند. پیک در طول‌موج $1075Cm^{-1}$ گروه عاملی O–H متصل به ترکیب‌های الکلی(نوع اول) فنلی را نشان می‌دهد (۳۰). پیک در ناحیه $1548Cm^{-1}$ به ارتعاش خمشی NH (آمید۲) کیتوزان و C=O موجود در زنیان اختصاص داده می‌شود (۳۱،۲۹).

مورفولوژی نانوکامپوزیت

شکل ۳ تصویر SEM نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/ کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم را نشان می‌دهد. با توجه به این تصویر، نانوکامپوزیت دارای ساختار متراکم جامد است. سطح نانوکامپوزیت همگن به‌نظر می‌رسد، که نشان‌دهنده سازگاری خوب بین کیتوزان، کربوکسی متیل‌نشاسته، کربن کوانتوم دات-منیزیم و اسانس زنیان است. قطر متوسط نانوکامپوزیت درمحدوده ۳۶/۳۵-۴۰/۴۳ نانومتر به‌دست آمد.

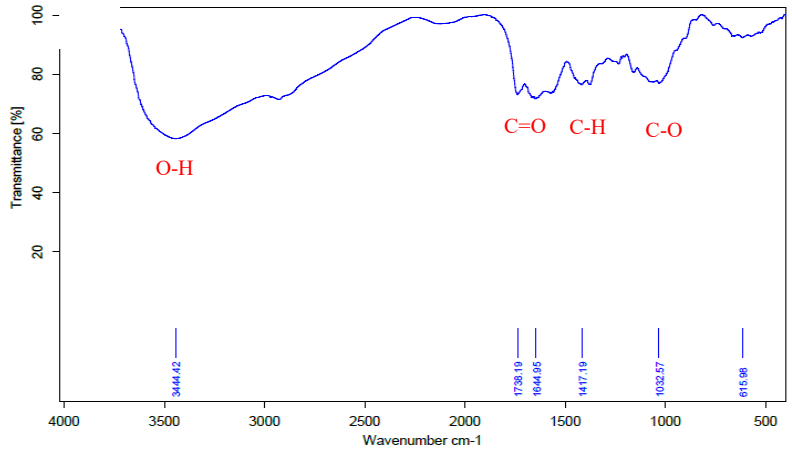
[5] Gene runner

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

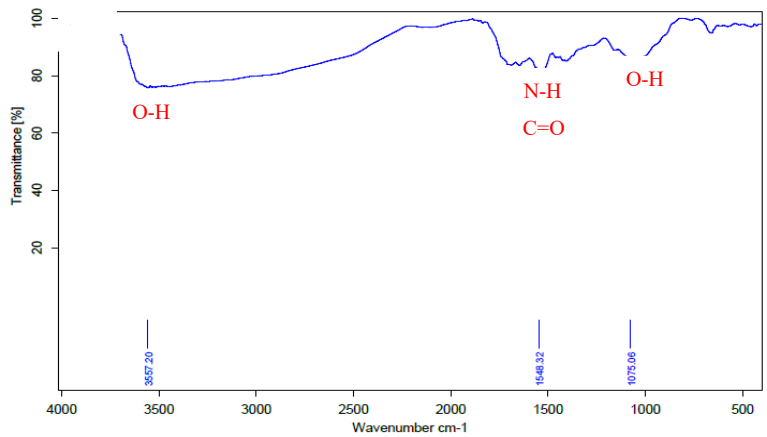
[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

جدول ۱. توالی پرایمرها برای بررسی ژن‌ها در *استرپتوکوکوس موتانس*

Name	Forward or Reverse	Sequence (5′ → 3′)	طول محصول PCR
gtfB	F	AGCAATGCAGCCAATCTACAAAT	۹۶
	R	ACGAACTTTGCCGTTATTGTCA	
gtfC	F	GGTTTAACGTCAAAATTAGCTGTATTAGC	۹۱
	R	CTCAACCAACCGCCACTGTT	
gtfD	F	ACAGCAGACAGCAGCCAAGA	۹۴
	R	ACTGGGTTTGCTGCGTTTG	
recA	F	GCGTGCCTTGAAGTTTTATTCTTC	۱۰۱
	R	TGTTCCCCGGTTCCTTAAATT	
16S rRNA	F	CCTACGGGAGGCAGCAGTAG	۷۵
	R	CAACAGAGCTTTACGATCCGAAA	



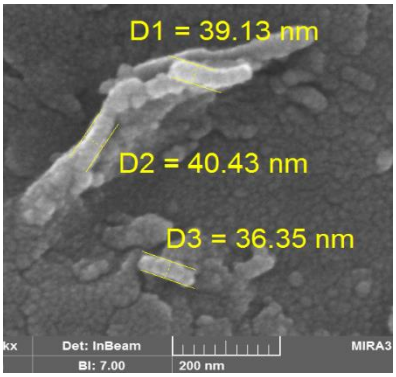
شکل ۱. طیف FTIR نانوکامپوزیت کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/ کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم

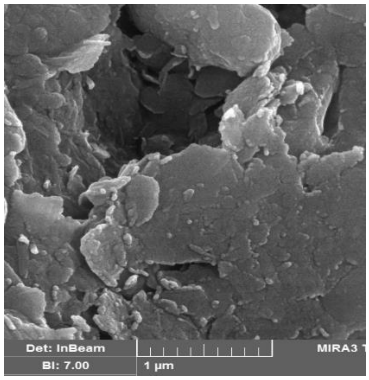


شکل ۲. طیف FTIR نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/ کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]



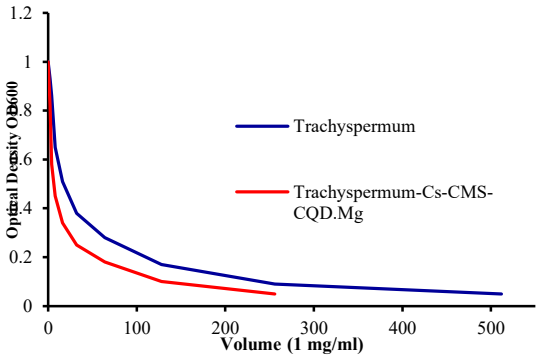


شکل۳. تصویر SEM نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/ کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم

بررسی خاصیت ضدمیکروبی با تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) نانوکامپوزیت روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*

MIC کم‌ترین غلظتی است که در آن نانوکامپوزیت به‌طور کامل رشد باکتری مورد آزمایش را مهار کند. نتایج حاصل از بررسی MIC نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل-نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم و اسانس‌زنیان در برابر باکتری بیماری‌زایی مولد پوسیدگی دندان، به‌ترتیب برابر ۰/۲۰۳ و ۰/۶۷۸میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (شکل۴) به‌دست آمد. جهت محاسبهٔ MIC از فرمول زیر استفاده شد (۳۶):

MIC=زن نانوکامپوزیت × حجم کل محیط/غلظت نانوکامپوزیت



شکل۴. نمودار OD_{600} نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم و اسانس زنیان

تعیین میزان بازدارندگی نانوکامپوزیت روی تولید بیوفیلم باکتری *استرپتوکوکوس موتانس*

با خوانش پلیت توسط الیزا (Biotek-Cytation3-آمریکا) ODهای به‌دست آمده در معادله ۱ قرار داده شد و نتایج حاصل از اثر بازدارندگی نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان /کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم و اسانس زنیان روی میزان تولید بیوفیلم باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* روی مدل دندان در جدول۲ نشان داده شده است. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و جذب‌ها در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر قرائت گردید. با توجه به نتایج مشاهده گردید اثر بازدارندگی نانوکامپوزیت نسبت به اسانس زنیان بیش‌تر بود (۲۷، ۳۲).

بررسی بیان ژن‌های *gtfB, gtfC, gtfD*

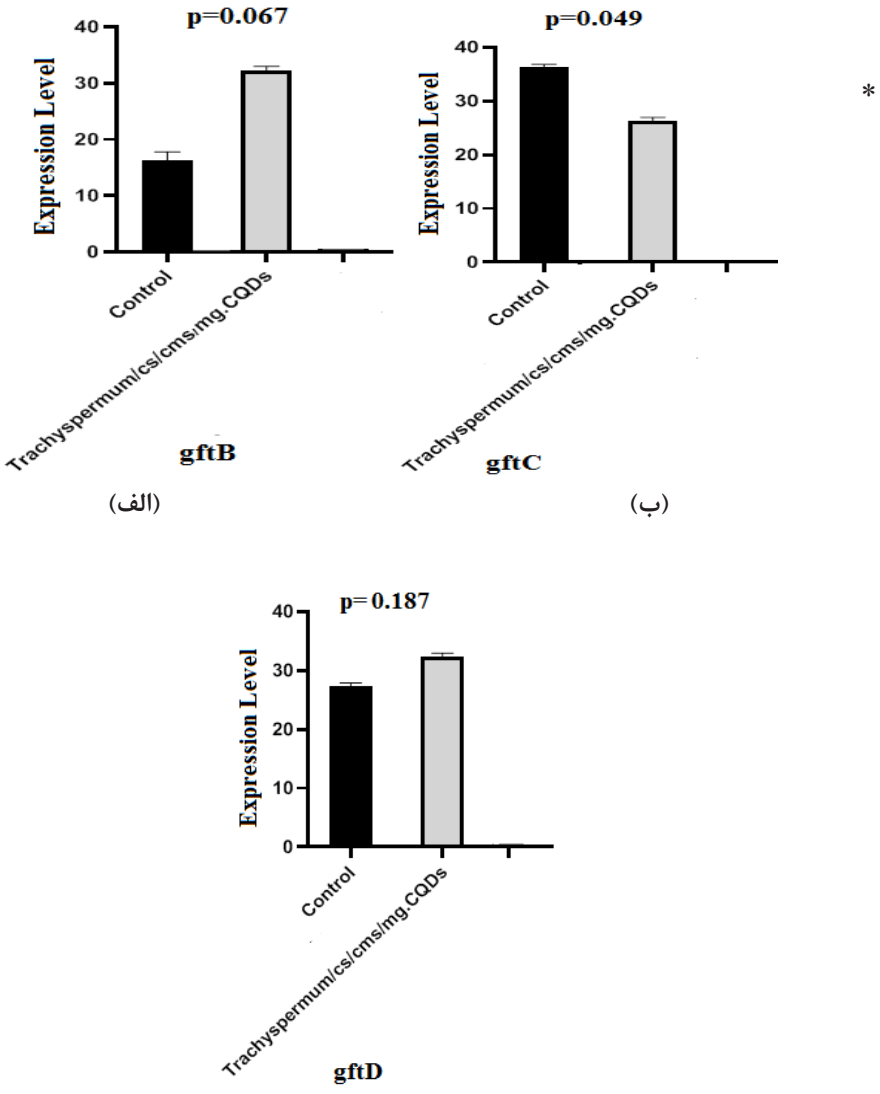
یافته‌های این تحقیق نشان داد ارتباط معناداری در بیان ژن *gftC*، بین گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (Pvalue =۰/۰۴۹). بیان‌ژن *gtfC* در سلول-های تحت درمان با زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل-نشاسته/کربن‌کوانتوم دات-منیزیم کاهش داشته (شکل۵ ب)، که نشان‌دهنده اثر قوی این نانوکامپوزیت در سرکوب ژن *gtfC* و کاهش تشکیل بیوفیلم با حداقل تراکم باکتری‌ها داخل بدن است. می‌توان بیان کرد سرکوب ژن-های *gtf* ممکن است یک روش جایگزین برای مختل شدن فرایند تشکیل بیوفیلم باشد. میزان بیان ژن‌های *gtfB, gtfD* در حضور نانو کامپوزیت زنیان/کیتوزان/ کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم دات-منیزیم نسبت به نمونه کنترل افزایش یافته (شکل ۵ الف و ج) و نشان‌دهنده اثر منفی نانوکامپوزیت برسلول‌های تحت درمان است. ارتباط معناداری در بیان ژن‌های *gtfB* و*gtfD*، بین گروه-های تیمار شده نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (*gtfD*; P= ۰/۱۸۷, *gtfB*; P=۰/۰۶۷).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

جدول ۲. بازدارندگی نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم و اسانس‌زنیان

نوع بیوفیلم	غلظت (میلی‌گرم بر میلی-لیتر)	نانوکامپوزیت
منفی	۴	زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل-نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم
قوی	۲	
قوی	۱	
قوی	۰/۵	
متوسط	۴	اسانس زنیان
قوی	۲	
قوی	۱	
قوی	۰/۵	



شکل ۵. بررسی ارتباط معناداری: (الف) ژن *gftB* ، (ب) ژن *gftC* ، (ج) ژن *gftD* در بین سویه‌های *استرپتوکوکوس موتانس* تیمار شده با نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم.

بر اساس نتایج، از بین ۳ ژن تحت مطالعه، فقط ژن*gftC* میزان بیان‌ژن را درسلول‌های تحت درمان با نانوکامپوزیت با تفاوت معنی‌داری نشان داد که نشان‌دهنده اثر قوی نانوکامپوزیت در کاهش میزان بیان ژن *gftC* در تشکیل بیوفیلم میکروبی دندان است. در حالی‌که تیمار با نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن-کوانتوم‌دات-منیزیم تفاوت معنی‌داری در بیان ژن‌های *gftB*و*gftD* نشان ندادند (P= ۰/۱۸۷, P=۰/۰۶۷).

بحث

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

به‌طورکلی در مسیر پیشرفت‌های جدید برای شناخت کامل پوسیدگی دندانی و ریشه‌کنی کامل آن، یافتن راهکار-های جدید جهت کاهش پلاک‌های دندانی و عوامل ایجادکننده آن‌ها ضرورت دارد. ثابت شده است عوامل ضدمیکروبی در برابر تشکیل بیوفیلم *استرپتوکوکوس موتانس* راهبردهای کارآمدی هستند. ژن‌های *GTF* در تولید پلیمرهای گلوکان و اتصال باکتری‌ها به سطوح دارای اهمیت زیادی می‌باشند (۳۳). افزایش مقدار بیان آن‌ها در حالت بیوفیلم نسبت به فرم پلانکتونی این موضوع را تایید می‌کند. یوشیدا و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند میزان بیان ژن *gtfB* در حالت بیوفیلم چهار برابر نسبت به حالت پلانکتونیک افزایش می‌یابد (۳۴).

استفاده‌از فناوری‌نانو در انتقال دارو به سلول‌ها می‌تواند برخی مشکلات پیشروی رسانش داروی گیاهی از جمله غیرهدفمندبودن و اکسیدپذیری بالا را برطرف نماید. طبق تحقیقات فعالیت‌ضدمیکروبی و سایر فعالیت‌های‌بیولوژیکی اسانس زنیان کپسوله شده در نانوکامپوزیت با حضور اجزای فرار زیست فعال آن ارتباط مستقیم دارد (۳۵) .در این تحقیق، MIC نانوکامپوزیت کیتوزان/کربوکسی‌متیل-نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم۰/۳۰۳میلی‌گرم بر میلی-لیتر،زنیان/کیتوزان/کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم-دات-منیزیم ۰/۱۶۸ میلی‌گرم برمیلی لیتر و اسانس زنیان خالص ۰/۶۷۸ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر به‌دست آمد. به دلیل فراریت و ناپایداری اسانس‌ها تحت شرایط محیطی، کپسوله‌کردن اسانس می‌تواند کارائی این ترکیبات را بهبود دهد. در واقع اسانس کپسوله شده در نانوکامپوزیت باعث افزایش خاصیت ضدمیکروبی زنیان/کیتوزان/کربوکسی-متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم نسبت به نانو کامپوزیت فاقد اسانس و اسانس زنیان خالص شد. دو ماده کیتوزان و زنیان از خصوصیات ضدباکتری برخوردارند،اما استفاده هم‌زمان آن‌ها به‌صورت کپسول‌های نانومتری موجب شده اثر این مواد افـزایش یافته و در جـلوگیری از ایجاد، رشد و تکـثیر عوامل بیماری‌زا بهبود یـابد (36). در مطالعه حسینعلی و همکاران تاثیر نانوذرات دی اکسید سیلیکون (SiO_2) و نانوکامپوزیت اکسیدروی/ زئولیت (Zno/Zeolite)بر بیان ژن‌های*ftf* ، *gtfB*،*vicR*، *gbpB* و تشکیل بیوفیلم توسط باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* بررسی گردید. طبق نتایج نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون و نانوکامپوزیت اکسید روی/زئولیت (Zno/Zeolite) قادر به مهار تشکیل بیوفیلم توسـط *استرپتوکوکوس‌موتانس* بوده و با پتانسیل بالا در sub-MIC برای مهار تشکیل بیوفیلم *استرپتوکوکوس موتانس* می‌توانند به عنـوان عامل ضـدباکتـری جهـت استفاده بالیـنی ایجاد شونـد (۳۷).

در مطالعه Lapinska و همکاران خواص ضدمیکروبی اسانس ترکیبی چند گیاه در برابر عوامل بیماری‌زای دهان بررسی شد. طبق نتایج این مطالعه زنیان فعالیت ضدباکتری خوبی را ارائه داد که با محتوای سیترونلول آن مرتبط است (۳۸). Oskuee و همکاران تاثیر دانه‌ی زنیان را بر باکتری گرم‌مثبت *استافیلوکوکوس‌اورئوس* و باکتری گرم منفی *اشریشیاکلی* بررسی کردند و نتایج اثر مهارکنندگی گیاه زنیان علیه این دو باکتری و تاثیر بیشتر آن بر جلوگیری از رشد باکتری گرم مثبت را نشان دادند (۳۹). حضور کیتوزان در ترکیب سبب بالاتر رفتن اثر ضدمیکروبی کامپوزیت می‌باشد. مکانیزم‌های مختلف از تعامل با باکتری برای کیتوزان ارائه شده است. یک مکانیسم احتمالی می‌تواند تعامل بین کیتوزان دارای بار مثبت در نانوکامپوزیت و بار منفی غشاء سلول باکتری باشد (۴۰). Koo و همکاران در مطالعه‌ای اثر مهاری Apigenin را روی عدم تشکیل پلاک از طریق مهار ژن-های *gtf* در سویه استرپتوکوکوس موتانس UA159 بررسی کردند و نتایج قابل توجهی از مهار ژن‌هـای *gtfB* و *gtfC* دخیل در سنتز پلی‌ساکارید خارج سـلولی گـزارش کردند (۴۱). Passos و همکاران نیز فعالیت‌های ضد پوسیدگی Libidibia ferrea، گالیک‌اسید و اتیل‌گالات علیه استرپتوکوکوس‌موتانس در مدل بیوفیلم را مورد بررسی نمودند. طبق نتایج، اتیل گالات و گالیک‌اسید باعث کاهش گلوکان‌های محلول در قلیایی، سلول‌های زنده و بیان ژن‌های *gtfB*، *gtfC* و *gtfD* در بیوفیلم‌ها شدند (۴۲). از بین ۳ ژن تحت مطالعه، فقط میزان بیان ژن *gftC* در سلول‌های تیمار شده با نانوکامپوزیت با تفاوت معنی‌داری نشان داده شد که بیانگر اثر قوی نانوکامپوزیت در کاهش میزان بیان ژن*gftC* درتشکیل بیوفیلم میکروبی دندان است. ارتباط معناداری در بیان ژن‌های *gtfB* و*gtfD*، در سلول‌های تیمار شده با نانوکامپوزیت نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. در مطالعات متعدد نشان داده شده برخی عصاره‌های گیاهی اثرات مهاری روی تشکیل بیوفیلم توسط سرکوب ژن خانواده *gtf* دارند. نتایج مطالعه Xu و همکاران نشان داد چای کاتیدین اپیکالاکتاچین گالات با سرکوب ژن‌های *gtfB, C ,D* در مقادیر کم‌تر از MIC باعث مهار تشکیل بیوفیلم توسط *استرپتوکوکوس‌موتانس* می‌شود (۴۳). نتایج پژوهش یانو و همکاران نشان داد کریستال فنل حاصل از وتیس‌کویجنتیا می‌تواند نقش کلیدی در جلوگیری از اتصال *استرپتوکوکوس‌موتانس* داشته باشد، هم‌چنین دارای پتانسیل دارویی برای کاهش پوسیدگی دندان به-صورت افزودنی مواد غذایی است (۴۴).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

نتیجه‌گیری

در مطالعه اخیر اثر نانوکامپوزیت زنیان/کیتوزان/کربوکسی-متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم بر بیان ژن‌های *gtfB, gtfC, gtfD* /*استرپتوکوکوس‌موتانس* ارزیابی شد. ابتدا نانوکامپوزیت ساخته شد، سپس مورفولوژی، خصوصیات ساختاری و فعالیت ضد میکروبی آن بررسی گردید. اثر ضد میکروبی نانوکامپوزیت زنیان/ کیتوزان/ کربوکسی‌متیل‌نشاسته/کربن‌کوانتوم‌دات-منیزیم۰/۱۶۸میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. نتایج بیان ژن‌ها نشان داد میزان بیان‌ژن *gftC* در سلول‌های تیمار شده با نانوکامپوزیت کاهش داشته است و این نانوکامپوزیت داری اثرقوی در سرکوب ژن*gtfC* و کاهش تشکیل بیوفیلم میکروبی دندان است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

منابع

1. Denisa F, Mihai S, Anton F, Ecaterina A, Mehmet Y, Omer BA. Drug Delivery Systems for Dental Applications. Current Organic Chem. 2017; 21(1):64-73.

2. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Periasamy S, Jakubovics N.S. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. Nature reviews Microbiology. 2011; 8(7):471-480.

3. Irague R, Tarquis L, André I, Moulis C, Morel S, Monsan P. Combinatorial engineering of dextransucrase specificity. PloS One. 2013; 8(10): e77837

4. Biswas S, Biswas I. Role of HtrA in surface protein expression and biofilm formation by Streptococcus mutans. Infection and immunity. 2005; 73(10): 6923-34.

5. Bowen WH, Koo H. Biology of Streptococcus mutans-Derived Glucosyl transferases: Role in Extracellular Matrix Formation of Cariogenic Biofilms. Caries Research. 2011; 45(1):69-86.

6. Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Park YK, Bowen WH. Effects of compounds found in propolis on Streptococcus mutans growth and on glucosyltransferase activity. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2002; 46(5):1302-1309.

7. Raut JS, Karuppayil SM. A status review on the medicinal properties of essential oils. Industrial Crops and Products. 2014; 62:250-264.

8. Othman AH, Mehdawi N, Abu Taha A, Hamed EM, Al-Nuri MA, Hussein AS. Synthesis and antibacterial activity of novel curcumin derivatives containing heterocyclic moiety. Iranian journal pharmaceutical research : IJPR. 2013; 12(1):47-56.

9. Chavez de Paz LE, Resin A, Howard KA, Sutherland DS, Wejse PL. Anti microbial effect of chitosan nanoparticles on streptococcus mutans biofilms. Applied and environmental microbiology. 2011; 77(11):3892-3895.

10. Narang RS, Narang J.K. Nano medicines for dental applications-scope and future perspective. International journal pharmaceutical investigation. 2015; 5(3):121-123.

11. ilpiszewska K, Antosik AK, Spychaj T. Novel hydrophilic carboxymethyl starch/montmorillonite nanocomposite films. Carbohydrate polymers. 2015; 128:82-89.

12. Nabais T, Brouillet F, Kyriacos S, Mroueh M, Amores da Silva P, Bataille B. High-amylose carboxymethyl starch matrices for oral sustained drug-release: in vitro and in vivo evaluation .European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik. 2007; eV 65(3): 371-378.

13. Georgakilas V, Perman J, Tucek J, Zboril R. Classification, chemistry, and applications of fullerenes, carbon dots, nanotubes, graphene, nanodiamonds, and combined superstructures. Chem Rev. 2015; 115:4822.

14. Yu J, Zhao Z, Sun J, Geng C, Bu Q, Wu D, et al. Electrospinning Highly Concentrated Sodium Alginate Nanofibres without Surfactants by Adding Fluorescent Carbon Dots. Nanomaterials. 2020;10(3):565.

15. Kausar A. Polymer/carbon-based quantum dot nanocomposite: forthcoming materials for technical application. Journal of Macromolecular Science, Part A, Pure and Applied Chemistry. 2019, DOI: 10.1080/10601325, 2019, 15786144.

16. Huang C, Dong H, Su Y, Wu Y, Narron R, Yong Q. Synthesis of Carbon Quantum Dot Nanoparticles Derived from Byproducts in Bio-Refinery Process for Cell Imaging and in Vivo Bioimaging. Nanomaterials. 2019; 9: 387; doi:10.3390/nano9030387.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

17. Faleiro ML. The mode of antibacterial action of essential oils, in Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances, A. Méndez-Vilas,2011; Ed., 1143-1156, Brown Walker Press, USA.

18. Zarshenas MM, Moein M, Samani SM, Petramfar P. An Overview on Ajwain (Trachyspermum ammi) Pharmacological Effects; Modern and Traditional. J Nat Remedies. 2014; 14(1): 95-105.

19. Haghiroalsadat BF, Vahidi AR, Azimzadeh M, Kalantar SM, Bernard F, Hokmollahi F. Chemical Assessment of Active Ingredients and Anti-Oxidant Effects of Trachyspermum Copticum's Seeds harvested in Yazd Province. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2012; 11(3): 197-206

20. Nedovic V, Kalusevic A, Manojlovic V, Levic S, Bugarski B. An overview of encapsulation technologies for food applications. Procedia Food Sci. 2011; 1:1806-1815.

21. Saboktakin MR, Tabatabaie RM, Maharramov A, Ramazanov MA. Synthesis and in vitro evaluation of carboxymethyl starch–chitosan nanoparticles as drug delivery system to the colon. International j biological macromolecules. 2011; 48(3): 381-385.

22. Saikia C, Hussain A, Ramteke A, Sharma HK, Maji T.K. Carboxymethyl starch chitosan-coated iron oxide magnetic nanoparticles for controlled delivery of isoniazid. J microencapsulation. 2015; 32(1):29-39.

23. Geoffrey A, Mckay SB, Francis F, Arhin T, Adam K, Belley G. Time-kill kinetics of oritavancin and comparator agents against staphylococcus aureus Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium. J Antimicrob Chemother. 2009; 63:1191-1199.

24. Maurya A, Chauhan P, Mishra A, Pandey A.K. Surface Functionalization of TiO2 with Plant Extracts and their Combined Antimicrobial Activities Against E. faecalis and E. Coli. Life science Global. 2012; 1:43-51.

25. Noorani B, Tabandeh F, Yazdian F, Soheili ZS, Shakibaie M, Rahmani S.h. Thin natural gelatin/chitosan nanofibrous scaffolds for retinal pigment epithelium cells. Int J Polymeric Mater. 2018; 67: 754-763.

26. Johanna J, Leena N, Lea-Ann K, Calum J, Andrew S, Tim J. Identification of a Secreted Cholesterol-Dependent Cytolysin (Mitilysin) from Streptococcus mitis. J Bacteriolo. 2007; 2: 627-632.

27. Telma B, Louis G, Denise P, Daniel G. Subinhibitory Concentrations of Triclosan Promote Streptococcus mutans Biofilm Formation and Adherence to Oral Epithelial Cells. PLoS ONE. 2014; 9:1-6.

28. Chandra S, Pradhan S, Mitra Sh, Patra P, Bhattacharya A. a Panchanan Pramanikb and Arunava Goswamia, High throughput electron transfer from carbon dots to chloroplast: a rationale of enhanced photosynthesis. Nanoscale. 2014; 6: 3647.

29. Park BS, Kim JG, Kim MR, Lee SE, Takeoka GR, Oh KB. Curcuma longa L. constituents inhibit sortase A and Staphylococcus aureus cell adhesion to fibronectin. J Agricultural Food Chemi. 2005; 53: 9005–9009.

30. Pavia D, Kriz GS, Vyvyan J.A. Introduction to Spectoroscopy. Cengage Learning. 2008.

31. Bahreloloum Tabatabai M, Mirjalili M, Yazdiyan F, Hekmatimoghaddam Sh. Design and Production of A Wound Cover Containing Essence of Ajwain (Trachyspermum) by Nanoliposome Technique, and Assessment of Its Physical, Chemical, Antibacterial and Cytotoxicity Properties. J Arak Univ Med Sci. 2019; 22(1).

32. Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic-Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. J Microbiol Methods. 2000; 40:175-179.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]

33. Yano A, Kikuchi S, Takahashi T, Kohama K, Yoshida Y. Inhibitory effects of the phenolic fraction from the pomace of Vitis coignetiae on biofilm formation by Streptococcus mutans. Archives of oral biology. 2012; 57(6):711-919.

34. Yoshida A, Kuramitsu H. Streptococcus mutans biofilm formation: utilization of a gtfB promoter-green fluorescent protein (PgtfB: gfp) construct to monitor development. Microbiology. 2002; 148(Pt 1): 3385-3394.

35. Stojiljkovic J, Trajchev M, Nakov D, Petrovska M. Antibacterial activities of rosemary essential oils and their components against pathogenic bacteria. Adv Cytol Pathol. 2018; 3(4):93-96.

36. Hadian M, Rajaee A, Mohsenifar A, abatabaei M.T. LWT. 2017; 84: 394-401.

37. Piri Dogaheh H, Jafari AR, Arzanloo M, Jedi F, Hossein Ali Z. The effect of Silicon dioxide nanoparticle and Zinc dioxide/Zeolite nanocomposite on ftf, gtfB, vicR, gbpB genes and biofilms formation by Streptococcus mutans, Master (thesis) Ardabil Univ Med Sci. 2021.

38. Lapinska B, Szram A, Zarzycka B, Grzegorczyk J, Hardan L, Sokolowski J, Lukomska-Szymanska M. An in Vitro Study on the Antimicrobial Properties of Essential Oil Modified Resin Composite against Oral Pathogens. Materials. 2020; 13: 4383. doi:10.3390/ma13194383.

39. Kazemi Oskuee R, Behravan J, Ramezani M. Chemical composition, antimicrobial activity and antiviral activity of essential oil of Carum copticum from Iran. Avicenna J Phytomedicine. 2011; 1(2):83-90.

40. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. Community dentistry and oral epidemiology. 2005; 33(4):248-255.

41. Koo H, Seils J, Abranches J, Burne RA, Bowen WH, Quivey RG. Influence of apigenin on gtf gene expression in Streptococcus mutans UA159. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2006; 50(2):542-546.

42. Passos MR, Almeida R, Oliveira Lima B, Rodrigues JZ, deMacêdo Neres N. J Ethnopharmacol. 2021; 274:114059.

43. Xu X, Zhou XD, Wu CD. Tea catechin epigallocatechin gallate inhibits Streptococcus mutans biofilm formation by suppressing gtf genes. Archives of oral biology. 2012; 57(6):678-683.

44. Yano A, Kikuchi S, Takahashi T, Kohama K, Yoshida Y. Inhibitory effects of the phenolic fraction from the pomace of Vitis coignetiae on biofilm formation by Streptococcus mutans. Archives of oral biology. 2012; 57(6):711-919.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1401.12.48.2.1]