

Cố định protein lên bề mặt hạt nano silica: Ứng dụng và triển vọng trong y sinh học

Phạm Hoàng Tính, Lê Khánh Thiên, Trần Văn Hiếu*



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

Bộ môn Công nghệ Sinh học phân tử - môi trường; Phòng thí nghiệm Cầm biến Sinh học, Khoa Sinh học - Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Liên hệ

Trần Văn Hiếu, Bộ môn Công nghệ Sinh học phân tử - môi trường; Phòng thí nghiệm Cầm biến Sinh học, Khoa Sinh học - Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Email: tvhieu@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 16-7-2021
- Ngày chấp nhận: 03-12-2021
- Ngày đăng: 01-2-2021

DOI: 10.32508/stdjns.v6i1.1103



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



TÓM TẮT

Hạt nano silica được biết đến là một vật liệu cơ bản được ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực y sinh nhờ vào các đặc tính có lợi như tính trơ, tương thích sinh học, diện tích bề mặt lớn, và khả năng thanh thải. Việc cố định protein lên bề mặt của vật liệu sinh học dựa trên silica đóng vai trò quan trọng trong việc phát triển cảm biến sinh học nói riêng và các ứng dụng của công nghệ sinh học hiện đại nói chung bao gồm phát hiện, chẩn đoán, và tạo ra các hệ thống phân phối thuốc tối ưu trong trị liệu, đặc biệt là trong điều trị ung thư, và gần đây nhất là ứng dụng trong phân phối vaccine cho Covid-19. Trong số các chiến lược cố định protein, việc cố định định hướng protein đảm bảo hiệu quả về ái lực tương tác và vị trí liên kết của protein với phân tử mục tiêu, từ đó hoạt tính sinh học và chức năng của protein sẽ được duy trì. Trong bài viết này, chúng tôi sẽ tổng quan một cách chi tiết về các phương pháp khác nhau để cố định protein nhằm tạo nên các vật liệu sinh học dựa trên silica được chức năng hóa protein và các ứng dụng nổi bật của chúng. Nhìn chung, nghiên cứu này sẽ cung cấp một góc nhìn mới về việc chức năng hóa sinh học của vật liệu silica cho các ứng dụng y sinh và công nghệ sinh học tiên tiến.

Từ khóa: cố định định hướng protein, silica, ung thư, vaccine, vật liệu sinh học

GIỚI THIỆU

Các hạt nano silica được cố định protein là vật liệu đầy triển vọng trong các lĩnh vực y sinh hay cảm biến sinh học. Silica có công thức phân tử là SiO_2 , được biết đến từ thời cổ đại với độ cứng, nhiệt độ nóng chảy cao, và độ hòa tan trong nước thấp. Trong tự nhiên, silica có thể tồn tại ở nhiều dạng khác nhau như cát, thạch anh, hay vỏ tảo cát (diatom). Vật liệu silica có thể có ở dạng hạt, dạng tấm, hay hình trụ... Trong đó, silica dạng hạt, được đặc biệt chú ý đến trong các ứng dụng của y sinh học. Hạt silica tồn tại ở nhiều kích thước khác nhau, từ nanomet (hạt nano) đến micromet (hạt micro)..., mỗi loại đóng vai trò nhất định trong các ứng dụng, trong đó hạt nano thường được sử dụng nhiều hơn trong y sinh vì có kích thước nhỏ nên khả năng phân tán tốt. Hạt nano silica được sử dụng phổ biến trong nhiều lĩnh vực như cảm biến sinh học, phân phối thuốc trong lĩnh vực y sinh, và điều trị. Chúng có nhiều đặc điểm nổi bật như: tính trơ, tương thích sinh học, độc tính thấp, khả năng thanh thải, diện tích bề mặt lớn^{1,2}. Có thể nói, các đặc điểm này làm hạt nano silica trở thành vật liệu đầy triển vọng và được sử dụng rộng rãi trong các ứng dụng hiện đại. Tính trơ của hạt nano silica thể hiện khả năng tồn tại ổn định của vật liệu này trong các điều kiện cực đoan như môi trường khắc nghiệt của acid dạ dày. Trong các ứng dụng, vật liệu có tính trơ cao mang lại nhiều

lợi thế và được ưu tiên sử dụng so với vật liệu có tính trơ thấp. Đối với ứng dụng của hạt silica trong hệ thống phân phối thuốc, tính trơ của vật liệu đảm bảo sự toàn vẹn của vật liệu trong quá trình vận chuyển thuốc đến mục tiêu cũng như đảm bảo nồng độ của thuốc trị liệu tại vị trí đích. Trong cấy ghép, tính trơ duy trì bản chất của vật liệu không đổi trong suốt thời gian vật liệu tồn tại bên trong cơ thể, đảm bảo hiệu quả của quá trình cấy ghép. Như vậy, tính trơ đảm bảo sự ổn định của vật liệu dưới các tác động bên ngoài cũng như nâng cao hiệu quả ứng dụng³.

Tính tương thích sinh học của hạt nano silica là khả năng vật liệu không gây ra bất kỳ tác dụng phụ nào khi tồn tại bên trong cơ thể, bao gồm: không gây độc, không sinh miễn dịch, không sinh huyết khối và không gây ung thư⁴. Zhang và cộng sự (2017)⁵ đã chứng minh silica là vật liệu không gây độc dựa trên thí nghiệm về những thay đổi về mặt hình thái và khả năng sống của tế bào ruột kết (Caco-2/HT-29). Các thí nghiệm đánh giá về tính tương thích sinh học của silica thông qua việc quan sát sự tổn thương mô ở chuột BALB/c cũng được thực hiện bởi Delalat và cộng sự (2015)⁶, cho thấy không xuất hiện tổn thương mô cấp tính cũng như không có sự bất thường ở các cơ quan chính như não, tim, thận, gan và phổi, hoặc đuôi. Các thử nghiệm trên cung cấp thông tin về mức độ tương thích sinh học của hạt silica đối với cơ thể.

Trích dẫn bài báo này: Tính P H, Thiên L K, Hiếu T V. **Cố định protein lên bề mặt hạt nano silica: Ứng dụng và triển vọng trong y sinh học.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 6(1):1775-1800.

Bên cạnh đó, vật liệu silica cũng đã được Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) công nhận là an toàn (GRAS) và được ứng dụng rộng rãi trong các ứng dụng y sinh học⁷.

Khả năng thanh thải đảm bảo vật liệu được thải ra bên ngoài cơ thể một cách an toàn sau khi quá trình phân phối thuốc kết thúc. Quá trình thanh thải làm hạn chế sự tích tụ của vật liệu silica trong cơ thể, từ đó giảm thiểu tác dụng phụ mà vật liệu này mang lại. Mặc dù các thử nghiệm trước đó đã chứng minh vật liệu silica là an toàn, nhưng vẫn còn một số tranh cãi về khả năng an toàn của silica khi tồn tại trong cơ thể một thời gian dài. Do đó, tiêu chí về khả năng thanh thải vẫn là tiêu chí quan trọng để đánh giá vật liệu trong các ứng dụng⁸.

Diện tích bề mặt của hạt nano silica ảnh hưởng đến khả năng mang/liên kết các phân tử của vật liệu, từ đó quyết định hiệu quả ứng dụng của vật liệu trong y sinh học⁹. Cụ thể, diện tích bề mặt tăng sẽ giúp tăng khả năng mang và giải phóng thuốc của silica đối với ứng dụng phân phối thuốc. Kích thước hạt silica ảnh hưởng đến diện tích bề mặt, kích thước hạt càng lớn, diện tích bề mặt càng lớn và ngược lại. Mặc dù vậy, trong cùng một thể tích, các hạt có kích thước nhỏ có nhiều lợi thế hơn về diện tích bề mặt do tận dụng tối đa được không gian. Bên cạnh kích thước hạt, kích thước và số lượng lỗ trên hạt cũng góp phần làm tăng diện tích bề mặt của hạt silica. Nhìn chung, diện tích bề mặt lớn góp phần tạo nên tính hiệu quả của vật liệu khi áp dụng thực tiễn và do đó việc cải thiện diện tích bề mặt của các vật liệu là cần thiết trong các ứng dụng. Bên cạnh các đặc tính nổi bật làm cho hạt nano silica trở thành vật liệu tiềm năng khi ứng dụng vào lĩnh vực y sinh học, việc cố định protein lên bề mặt vật liệu là rất cần thiết. Protein sẽ đóng vai trò là phân tử dẫn đường để hạt nano silica tương tác với các hệ thống sinh học.

Quá trình cố định định hướng protein lên vật liệu silica đóng vai trò quan trọng trong các ứng dụng thực tiễn, từ các quá trình cảm biến nhằm phát hiện, theo dõi, chẩn đoán các bệnh cho đến việc tạo nên hệ thống phân phối thuốc nhắm trúng đích. Sự cố định protein có thể hiểu là quá trình gắn protein lên bề mặt vật liệu thông qua các tương tác, nhằm tạo nên một thực thể thống nhất. Vật liệu được cố định đa dạng về loại, hình thái, đặc điểm và trong đó vật liệu silica chiếm được nhiều ưu thế (đã được trình bày ở phần trước). Các protein được cố định có thể là enzyme, kháng thể hay protein chức năng, đóng vai trò nhất định trong sinh học.

Kháng thể là một protein của hệ miễn dịch (immunoglobulin) đóng vai trò quan trọng trong quá trình đáp ứng và trung hòa kháng nguyên của cơ thể.

Ở mỗi kháng thể tồn tại hai vùng chức năng: vùng Fc còn gọi là vùng hằng định – vùng bảo tồn ở hầu hết các lớp của kháng thể và vùng Fab hay vùng biến đổi – vùng đảm nhiệm vai trò tương tác với kháng nguyên và đây cũng là vùng quan trọng nhất của kháng thể. Do đó, việc cố định định hướng kháng thể nhằm hướng vùng tương tác kháng nguyên (Fab) của kháng thể ra bên ngoài, tạo điều kiện tối ưu cho sự đáp ứng. Tương tự đối với các protein là enzyme, chức năng của enzyme được duy trì bởi vùng chức năng trên enzyme. Đây là vùng quan trọng, bất kỳ sự tác động làm ảnh hưởng đến vùng này đều có thể dẫn đến enzyme bị mất hoạt tính, và mất chức năng. Do đó, trong các ứng dụng, việc cố định enzyme lên bề mặt vật liệu mà vẫn giữ được vùng hoạt tính của enzyme để tương tác thuận lợi với cơ chất là rất quan trọng. Điều này không chỉ giúp tăng hiệu quả, tiết kiệm thời gian, chi phí của thí nghiệm mà còn tránh các hiện tượng như dương tính giả. Cố định định hướng enzyme góp phần giữ vững hoạt tính của các enzyme được cố định. Chính vì thế, việc lựa chọn hình thức hay phương pháp cố định enzyme rất được quan tâm. Nhìn chung, các phân tử protein đều hình thành từ các amino acid, được liên kết với nhau thông qua cấu nối peptide. Các protein có thể hình thành các cấu trúc ba chiều và chứa nhiều nhóm chức khác nhau thuộc các nhánh bên của amino acid như carboxyl, amine, hydroxyl, và sulfhydryl. Nhờ vào các nhóm chức, protein có thể hình thành tương tác với bề mặt silica. Trên cơ sở đó, nhiều phương pháp khác nhau trong việc cố định định hướng protein lên hạt nano silica đã được phát triển, chủ yếu dựa trên các tương tác cộng hóa trị và không cộng hóa trị. Sự cố định định hướng đảm bảo hoạt tính và ái lực tương tác của protein với phân tử mục tiêu. Phân tử mục tiêu có thể là kháng nguyên, enzyme, thụ thể hay bất kỳ phân tử đặc trưng nào trên tế bào/mô cần nhắm đến. Chính vì thế, các phương pháp cố định định hướng protein lên bề mặt vật liệu góp phần nâng cao hiệu quả ứng dụng. Các chiến lược này sẽ được nêu ra một cách chi tiết trong phần tiếp theo của bài báo.

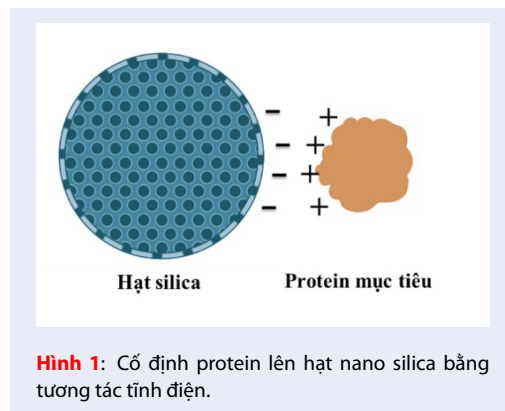
PHƯƠNG PHÁP CỐ ĐỊNH PROTEIN LÊN BỀ MẶT HẠT NANO SILICA

Cố định bằng tương tác không cộng hóa trị

- Cố định bằng tương tác tĩnh điện trực tiếp

Tương tác tĩnh điện là chiến lược đơn giản có thể được áp dụng để cố định protein lên bề mặt hạt nano silica. Tương tác được hình thành nhờ lực hút giữa các nhóm chức mang điện tích trái dấu trên bề mặt silica và phân tử sinh học. Tương tác tĩnh điện bao gồm ba

loại chính: tương tác lưỡng cực-lưỡng cực, lực phân tán London, và liên kết hydrogen¹⁰. Bên cạnh đó, tương tác ion-ion hay lưỡng cực-ion cũng được biết đến là hai loại tương tác tĩnh điện phụ. Nhìn chung, dạng tương tác tĩnh điện được dùng phổ biến nhất để cố định protein lên vật liệu silica là tương tác ion-ion (Hình 1). Cụ thể, các nhóm chức silanol (SiO^-) tích điện âm trên bề mặt silica hình thành tương tác tĩnh điện với các nhóm chức tích điện dương trên protein thí dụ như nhóm $-\text{NH}_3^+$. Sự hấp phụ protein L2, một protein có nguồn gốc từ ribosome của *Escherichia coli*, được đánh giá có ái lực cao với bề mặt silica¹¹. Protein này còn được gọi là “Si-tag”, một thẻ dung hợp có thể được dùng trong tinh sạch protein sử dụng silica¹². Si-tag hình thành tương tác tĩnh điện giữa các amino acid tích điện dương trên protein như lysine, arginine với nhóm SiO^- trên bề mặt silica. Tuy nhiên, tương tác tĩnh điện hình thành giữa protein và vật liệu một cách không định hướng do sự phân bố ngẫu nhiên của các nhóm chức trên protein. Chính vì thế, các đánh giá và phân tích về cấu trúc, vùng chức năng của protein trước khi cố định, cũng như phát triển những phương pháp cố định có tính định hướng cao hơn là rất cần thiết.



Hình 1: Cố định protein lên hạt nano silica bằng tương tác tĩnh điện.

- Cố định qua trung gian protein A và protein G

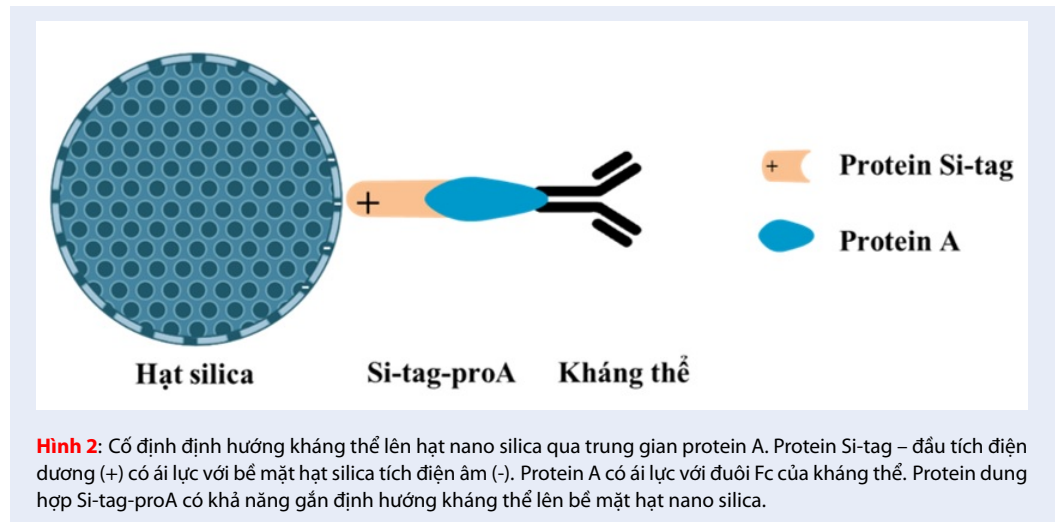
Cố định định hướng kháng thể qua trung gian protein A và protein G lên bề mặt silica được đánh giá là có độ đặc hiệu, ái lực và độ ổn định cao. Protein A có nguồn gốc từ vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, đóng vai trò quan trọng trong sự đề kháng với hệ miễn dịch của vật chủ nhờ vào khả năng liên kết với đuôi Fc của kháng thể¹³. Protein G hình thành từ vách tế bào của liên cầu khuẩn bao gồm ba vùng liên kết kháng thể (I, II, và III) và có ái lực với đuôi Fc của kháng thể tương tự protein A. Nhờ vào đặc tính liên kết với kháng thể, các protein A và protein G được

sử dụng phổ biến trong tinh sạch kháng thể sử dụng các hạt resin như agarose¹⁴. Bên cạnh đó, protein A và protein G cũng được quan tâm trong lĩnh vực cố định protein vì chúng hỗ trợ gắn kháng thể một cách định hướng lên bề mặt silica. Mặc dù protein A và protein G có khả năng liên kết định hướng kháng thể nhưng lại không liên kết (hoặc liên kết rất yếu) với bề mặt của silica. Các phương pháp hấp thụ vật lý không phải là chiến lược tối ưu để gắn định hướng protein A và protein G do khả năng gắn ngẫu nhiên không định hướng, ái lực thấp và không ổn định. Do đó, sự hiện diện của phân tử liên kết có ái lực cao với silica là rất cần thiết để tối ưu hóa sự cố định protein A và protein G.

T. Ikeda và cộng sự (2009)¹⁵ đã dung hợp protein A với protein Si-tag nhằm tăng cường khả năng cố định kháng thể IgG lên bề mặt silica (Hình 2). Hiệu quả gắn IgG được so sánh với phương pháp hấp thụ vật lý và cho kết quả khả quan. Protein A dung hợp Si-tag tăng 30-70% lượng kháng thể IgG bám lên silica thông qua các phân tích khối phổ. Và do đó, lượng kháng nguyên tương tác với bề mặt cũng tăng từ 4-5 lần. Như vậy, protein A dung hợp Si-tag được đánh giá cao trong việc cố định định hướng kháng thể lên bề mặt silica. Dựa trên cơ sở đó, việc tạo nên protein dung hợp giữa protein A hoặc protein G với đầu N hoặc đầu C tích điện dương của protein Si-tag sẽ trở thành một trong các chiến lược hiệu quả để gắn định hướng kháng thể¹¹. Quá trình dung hợp được thực hiện thông qua kỹ thuật DNA tái tổ hợp, tạo nên protein dung hợp vừa có khả năng liên kết với silica vừa có khả năng gắn định hướng kháng thể mục tiêu. Nhìn chung, phương pháp cố định protein qua trung gian các protein A và protein G có nhiều ưu điểm và đã đạt được nhiều thành công. Phương pháp này hứa hẹn trở thành phương pháp tối ưu trong việc cố định định hướng kháng thể, tiềm năng ứng dụng trong các lĩnh vực y sinh, phân phối thuốc nhắm trúng đích.

- Cố định qua trung gian DNA

Cố định protein qua trung gian DNA là một trong các chiến lược cố định định hướng protein mang lại hiệu quả cố định cao. Phương pháp cố định được ra đời dựa trên nguyên tắc bắt cặp bổ sung đặc hiệu của các nucleotide trên hai mạch đơn DNA. Cụ thể, protein quan tâm được biến đổi bằng cách gắn một đoạn DNA mạch đơn tại vị trí nhất định. Bề mặt hạt silica cũng sẽ được biến đổi với mạch đơn DNA bổ sung tương ứng. Liên kết không cộng hóa trị được hình thành giữa hạt silica và protein biến đổi thông qua sự bắt cặp bằng liên kết hydrogen giữa hai mạch đơn DNA (Hình 3). Có nhiều phương pháp được áp dụng để gắn nucleic



acid lên protein quan tâm như sự tương tác biotin-avidin¹⁶, sự tương tác giữa nickel-nitrilotriacetic acid (Ni-NTA) và đuôi 6xHis (đoạn peptide gồm sáu histidine liên kết hay sự ghép nối giữa nhóm thiol (-SH) và maleimide¹⁷). Tương tự, các quá trình biến đổi bề mặt silica để mang các nhóm chức có khả năng gắn kết DNA là điều cần thiết cho quá trình cố định. Có thể nói, phân tử DNA đóng vai trò như “mỏ neo”, giúp neo protein quan tâm lên silica. Năm 2018, Leidner và cộng sự¹⁸ đã tiến hành đánh giá sự cố định protein FlipHOB lên bề mặt silica nhằm phát hiện glucose trong cơ thể. Kết quả sự cố định protein dựa trên DNA vượt trội hơn so với phương pháp cố định ngẫu nhiên thông qua glutaraldehyde.

Phương pháp cố định protein thông qua DNA không chỉ được thực hiện đơn giản, hiệu quả mà còn có thể cố định đồng thời nhiều protein liên kết DNA mạch đơn khác nhau. Mặc dù vậy, một số phương pháp cố định không định hướng phân tử nucleic acid lên protein, từ đó làm giảm hiệu quả của protein trong các ứng dụng. Do đó, cần có thêm nhiều nghiên cứu để tìm ra nhiều phương pháp hiệu quả hơn trong việc liên hợp các nucleotide vào đúng vị trí chọn lọc trên protein quan tâm. Ngoài ra, các biến đổi hóa học sơ cấp là cần thiết đối với protein hay silica trước khi cố định¹⁹. Nhìn chung, việc cố định protein qua trung gian DNA là một phương pháp tiềm năng cho việc cố định protein với độ đặc hiệu và độ ổn định cao.

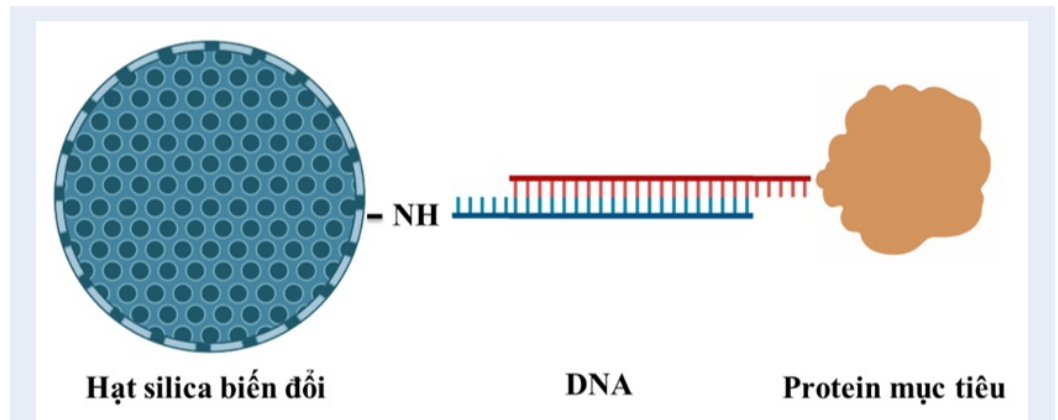
- Cố định qua trung gian aptamer

Aptamer là các đoạn nucleotide ngắn (kích thước 20–60 nucleotide), sợi đơn và có khả năng liên kết đặc hiệu với protein cần cố định, đóng góp tiềm năng to lớn trong quá trình cố định định hướng protein lên bề

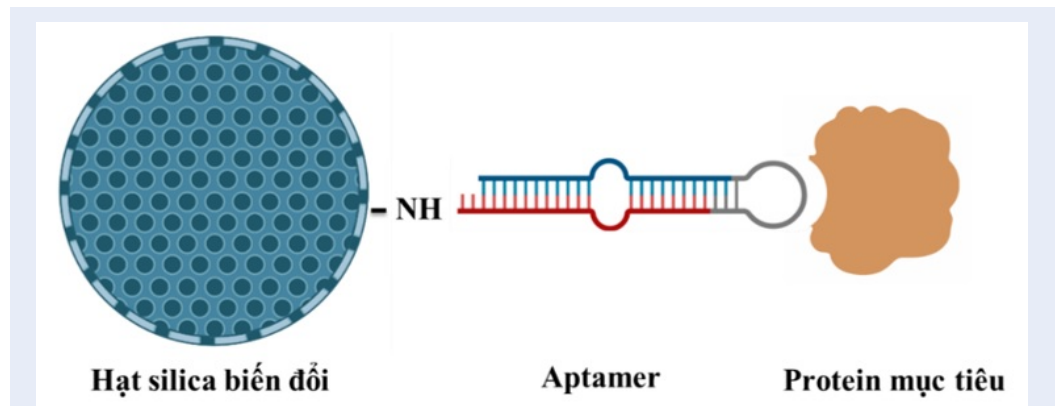
mặt hạt silica (Hình 4). Một số mục tiêu của aptamer bao gồm protein, peptide, carbohydrate, và thậm chí cả tế bào sống. Các aptamer được tạo ra thông qua các quá trình chọn lọc *in vitro* (Sequential Evolution of Ligands by Exponential Enrichment/SELEX)²⁰ và từ đó tạo nên các aptamer đặc hiệu với mục tiêu. Aptamer có nhiều hình dạng ba chiều khác nhau dựa trên sự tự bắt cặp bổ sung nội phân tử và hình thành thùy tròn (loop) của các mạch đơn²¹. Kể từ khi ra đời cho đến nay, aptamer đóng vai trò quan trọng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như cảm biến sinh học, chẩn đoán, điều trị hay ứng dụng trong hệ thống phân phối thuốc. Việc cố định định hướng protein mục tiêu dựa trên aptamer mang lại nhiều lợi ích như việc hình thành liên kết đặc hiệu và có ái lực cao với protein. Bên cạnh đó, việc không cần các xử lý trước khi cố định sẽ đảm bảo protein không có sự thay đổi về cấu trúc dẫn đến mất hoặc thay đổi hoạt tính. Tuy nhiên, bề mặt hạt silica cần được chức năng hóa với các nhóm chức để liên kết với aptamer. Ngoài ra, các aptamer có thể bị biến tính ở pH kiềm và nhiệt độ cao, do đó có thể ảnh hưởng đến độ bền liên kết với protein trong các thử nghiệm. Số lượng các aptamer đặc hiệu cho protein còn hạn chế, làm ảnh hưởng đến khả năng ứng dụng thực tế. Mặc dù vậy, số lượng aptamer có thể được cải thiện dựa trên các phương pháp, phân tích và cải thiện các kỹ thuật sàng lọc, hứa hẹn mang đến một phương pháp cố định định hướng protein lên vật liệu silica sử dụng aptamer tiềm năng trong tương lai.

- Cố định qua trung gian His-tag

Polyhistidine hay polyhis hay His-tag là đoạn peptide có thể hỗ trợ cố định định hướng protein lên bề mặt



Hình 3: Cố định protein lên hạt nano silica qua trung gian DNA. Bề mặt hạt nano silica được biến đổi biểu hiện các nhóm amine (-NH₂) để gắn với một đoạn DNA mạch đơn. Tương tự, protein mục tiêu cũng gắn với một mạch đơn DNA bổ sung tương ứng. Sự hình thành liên kết hydrogen giữa hai mạch DNA giúp protein mục tiêu được cố định lên bề mặt hạt nano silic.



Hình 4: Cố định protein lên hạt nano silica qua trung gian aptamer. Bề mặt hạt nano silica được biến đổi để gắn với aptamer. Aptamer hình thành tương tác không cộng hóa trị với protein mục tiêu, giúp cố định protein lên bề mặt hạt nano silica

silica một các hiệu quả (Hình 5). Chúng là chuỗi lặp lại các amino acid histidine (His), thông thường sự lặp lại vào khoảng sáu amino acid (6xHis). His-tag có thể gắn vào vị trí đầu N hay đầu C trong quá trình tạo protein tái tổ hợp, và các vị trí gắn cách xa vùng chức năng của protein, điều này đảm bảo sự cố định diễn ra không tác động đến vùng chức năng này²². Nhờ vào khả năng liên kết ổn định của His-tag với Ni-NTA, việc cố định protein dung hợp đuôi His-tag lên vật liệu silica được chức năng hóa bằng Ni-NTA là chiến lược có thể áp dụng trong các thử nghiệm.

Năm 2018, Zhou và cộng sự²³ đã tiến hành thí nghiệm cố định định hướng enzyme lên bề mặt silica thông qua đuôi His-tag và thu được các kết quả đáng tin cậy. Cụ thể, enzyme organophosphohydrolyase (OpdA) gắn thẻ His-tag được ủ với các hạt sil-

ica biến đổi bề mặt để gắn Ni-NTA. OpdA là một enzyme phân hủy methyl parathion, một hợp chất phosphate hữu cơ và là loại thuốc trừ sâu cực mạnh. Kết quả khảo sát cho thấy ở điều kiện tối ưu hoạt tính của OpdA được cố định trên silica cao hơn hoạt tính của OpdA tự do trong dịch ly giải tế bào. Bên cạnh đó, khả năng phân hủy methyl parathion có thể được duy trì ở mức trên 90%. Từ các kết quả nghiên cứu, việc cố định OpdA lên bề mặt silica thông qua Ni-NTA hứa hẹn tạo nên vật liệu sinh học nano để phân hủy các loại thuốc trừ sâu phosphate hữu cơ.

Bên cạnh nhiều ưu điểm, việc cố định protein dựa trên đuôi His-tag còn gặp phải nhược điểm về độ đặc hiệu. Các gốc histidine nằm rải rác trên protein quan tâm hoặc protein tạp có thể tương tác với ion kim loại được cố định trên bề mặt silica. Điều này ảnh hưởng đến

hiệu quả của quá trình cố định protein. Mặc dù vậy, nhược điểm này có thể khắc phục bằng cách bổ sung nồng độ chất rửa giải (thí dụ như imidazole) cũng như điều kiện pH phù hợp. Nhìn chung, protein được cố định qua trung gian đuôi His-tag mang lại hiệu quả trong quá trình cố định định hướng protein, mở ra tiềm năng ứng dụng mới của đuôi His trên nhiều lĩnh vực khác nhau.

- Cố định bằng tương tác biotin-avidin

Việc sử dụng các phân tử có ái lực cao với nhau như biotin-avidin mang lại hiệu quả trong quá trình cố định protein lên silica (Hình 6). Tương tác không cộng hóa trị giữa biotin-avidin là một trong các tương tác không cộng hóa trị mạnh nhất từng được biết đến. Điều này làm tăng khả năng liên kết cũng như mức độ ổn định của protein khi gắn lên silica. Biotin là phân tử có kích thước nhỏ (244.3 Dalton), tính ổn định cao và ít can thiệp vào chức năng của protein khi gắn kết. Trong các ứng dụng, protein thường được biotiny hóa bằng cách tạo liên kết amide giữa nhóm carboxyl trên biotin và nhóm amine trên protein thông qua xúc tác EDC/NHS²⁴. Avidin là phân tử glycoprotein hình thành từ bốn tiểu đơn vị giống nhau, mỗi tiểu đơn vị có ái lực cao với biotin. Chính vì thế, một phân tử avidin có thể liên kết với bốn phân tử biotin, tăng tín hiệu cho quá trình phát hiện hay nâng cao hiệu suất tinh sạch cũng như tăng lượng protein được cố định. Tương tự như avidin, streptavidin, neutravidin, tamavidin cũng có ái lực cao với biotin và do đó cũng được ứng dụng rộng rãi.

Avidin và các chất tương tự có thể được cố định vào nhiều loại chất nền khác nhau thông qua sự hấp thụ vật lý hay các tương tác cộng hóa trị. Trong một nghiên cứu của X. Wen và cộng sự (2009)²⁵, protein A gắn biotin được cố định trên bề mặt vật liệu nhờ phân tử liên kết, neutravidin. Chiến lược này làm tăng hiệu quả cố định của kháng thể cũng như khả năng bắt lấy kháng nguyên. Từ đó tạo nên tiềm năng to lớn trong việc cải thiện các kỹ thuật xét nghiệm liên quan đến miễn dịch, làm tiền đề cho các cảm biến sinh học và phân phối thuốc trong tương lai.

Ái lực cao hình thành giữa biotin-avidin được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau, trong đó bao gồm cố định protein lên silica. Tương tác giữa biotin-avidin ổn định ở các điều kiện pH cũng như nhiệt độ khác nhau. Tuy nhiên, các dung môi hoặc điều kiện rửa giải có thể dẫn đến biến tính protein quan tâm. Do đó, việc tối ưu hóa các điều kiện liên kết cũng như rửa giải protein là cần thiết. Nhìn chung, cố định protein qua trung gian tương tác biotin-avidin là một chiến lược hiệu quả và nhiều tiềm năng.

- Cố định qua trung gian phối tử (ligand)

Dựa trên tương tác ái lực giữa phối tử và thụ thể, chiến lược cố định định hướng protein mục tiêu được tạo ra và hứa hẹn mang lại nhiều thành công. Phối tử (ligand) là các phân tử có thể tạo thành phức hợp với protein mục tiêu bằng cách liên kết vào vị trí nhất định trên protein (Hình 7). Phối tử có thể là protein, DNA, ion kim loại hay các phân tử nhỏ có ái lực và độ đặc hiệu cao với protein quan tâm. Các tương tác hình thành giữa thụ thể và phối tử bao gồm tương tác kỵ nước, liên kết ion, Van der Waals, hay các tương tác liên phân tử. Nhờ vào ái lực cao giữa phối tử và protein, nhiều ứng dụng khác nhau đã được hình thành như tinh sạch protein, phát hiện và chẩn đoán bệnh hay hỗ trợ trong việc phân phối thuốc nhắm trúng đích.

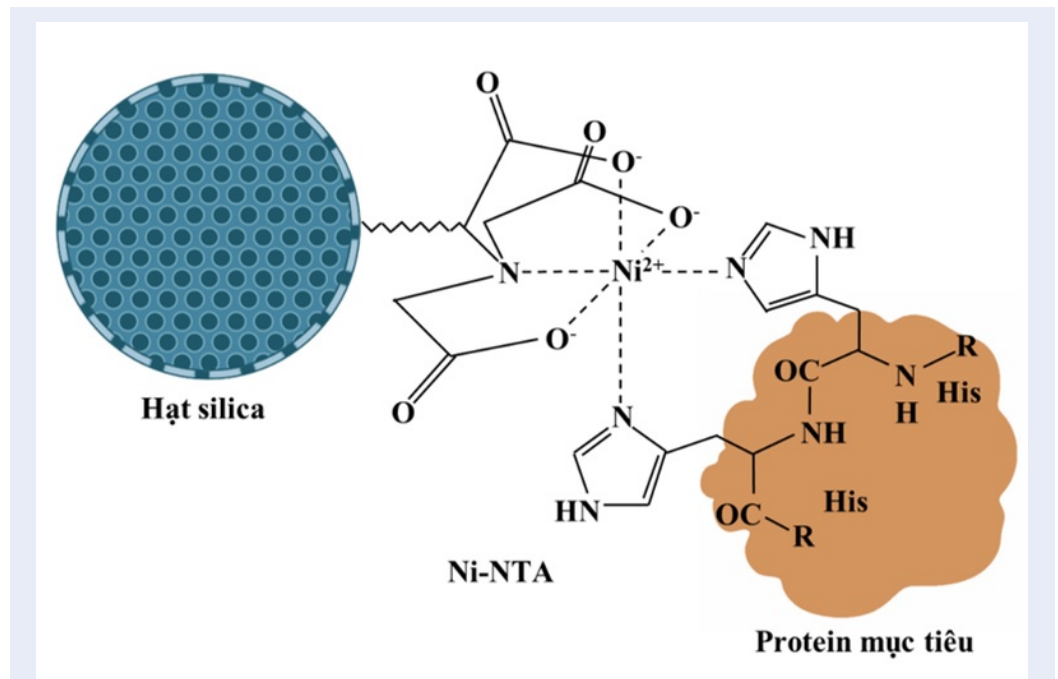
Năm 2016, L. Ma và cộng sự²⁶ đã tiến hành nghiên cứu về sự cố định albumin huyết thanh bò (BSA) lên bề mặt silica (SiO₂) nhằm đánh giá sự tương tác giữa imatinib mesylate (IM) và protein. Sản phẩm BSA-SiO₂ thu được đóng vai trò như pha tĩnh trong phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Liên kết hydrogen và tương tác Van der Waals được hình thành và góp phần vào sự tương tác giữa IM và BSA được xác định dựa trên các nghiên cứu nhiệt động lực học. Sự cố định protein lên silica mang lại nhiều ưu điểm trong phân tích HPLC như tăng độ ổn định cũng như tuổi thọ của cột (pha tĩnh). Điều này cho thấy silica là một chất nền tối ưu để cố định các phân tử sinh học, mở ra con đường ứng dụng đa dạng trong các lĩnh vực, đặc biệt là trong các thí nghiệm sàng lọc thuốc thông qua sự tương tác giữa thuốc-protein.

Nhiều ưu điểm và hiệu quả khác nhau đạt được khi ứng dụng vào các thí nghiệm thực tiễn dựa trên ái lực tương tác giữa các phối tử với protein quan tâm. Tuy nhiên, số lượng các phối tử đặc hiệu cho protein hiện nay vẫn còn hạn chế. Bên cạnh đó, các quá trình sàng lọc cũng như tìm ra các phối tử đặc hiệu mới mất nhiều thời gian, công sức và chi phí. Chính vì vậy, việc nâng cao, cải thiện các trang thiết bị cũng như mở rộng nghiên cứu nhằm gia tăng số lượng phối tử đặc hiệu cần được quan tâm. Nhìn chung, chiến lược cố định protein dựa trên tương tác phối tử - protein là một chiến lược có giá trị cao và mang lại nhiều lợi thế.

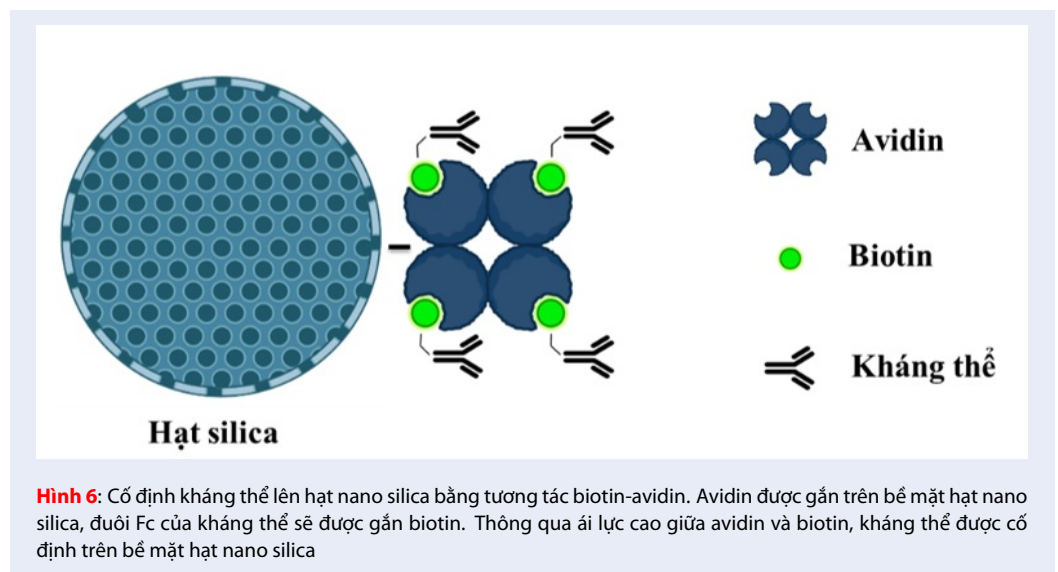
Cố định bằng liên kết cộng hóa trị

- Cố định bằng liên kết với gốc carbohydrate

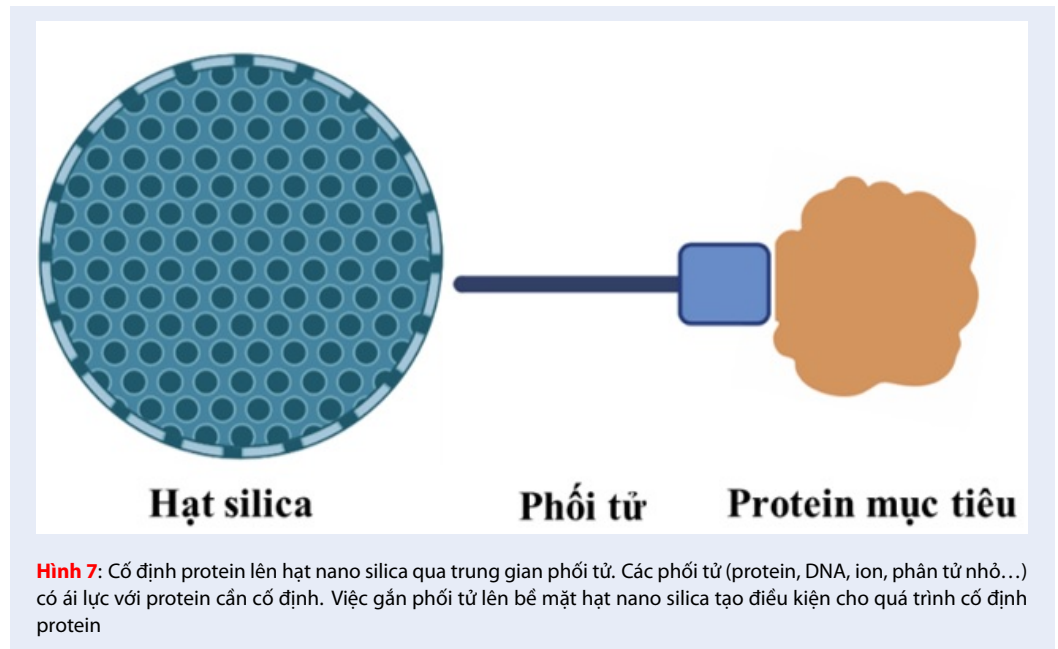
Cố định protein qua trung gian gốc carbohydrate để hình thành tương tác cộng hóa trị là một trong các chiến lược được quan tâm rộng rãi (Hình 8). Các protein như kháng thể hay một số enzyme có bản chất



Hình 5: Cố định định hướng protein lên hạt nano silica qua trung gian His-tag. Đuôi His-tag dung hợp với protein cần cố định có ái lực cao với Ni-NTA. Các Ni-NTA gắn lên hạt nano silica đã được biến đổi bề mặt sẽ cố định protein thông qua His-tag



Hình 6: Cố định kháng thể lên hạt nano silica bằng tương tác biotin-avidin. Avidin được gắn trên bề mặt hạt nano silica, đuôi Fc của kháng thể sẽ được gắn biotin. Thông qua ái lực cao giữa avidin và biotin, kháng thể được cố định trên bề mặt hạt nano silica



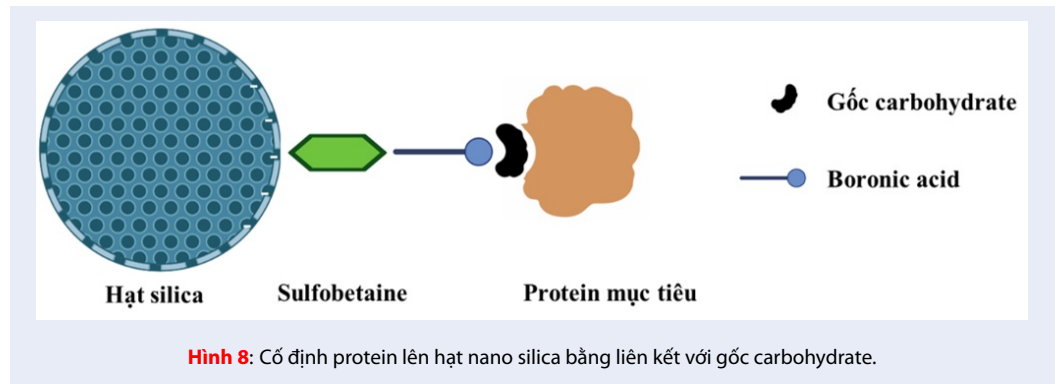
là glycoprotein, chứa các gốc carbohydrate tại vị trí nhất định trên cấu trúc. Điều đặc biệt là trong một số trường hợp, các vị trí này nằm cách xa các vùng chức năng của protein. Thí dụ như kháng thể, gốc carbohydrate nằm tại vùng Fc, cách xa vùng đảm nhận vai trò nhận diện kháng nguyên (Fab) của kháng thể. Điều này đảm bảo rằng chúng ta có thể cố định định hướng các protein như kháng thể lên hạt nano silica thông qua việc nhắm đến các gốc carbohydrate mà không ảnh hưởng đến hoạt tính của protein được cố định. Sự biến đổi trên bề mặt silica cũng như trên protein là cần thiết để tạo nên các nhóm chức có ái lực tương tác với nhau. Quá trình oxy hóa các gốc carbohydrate trên protein được diễn ra nhằm tạo nên các nhóm aldehyde, nhóm chức giúp hình thành liên kết với các nhóm amine (-NH₂) hay hydrazide (-CO-NH-NH₂) trên bề mặt vật liệu silica đã được biến đổi. Năm 2013, Song và cộng sự²⁷ đã biến đổi bề mặt silica với sulfobetaine (SB) có chứa boronic acid (BA) nhằm cố định định hướng kháng thể. BA liên kết cộng hoá trị với hai nhóm hydroxyl liền kề nhau trên sườn carbohydrate nên quá trình cố định mang lại kết quả khả quan, tạo nền tảng mới hứa hẹn cho các ứng dụng tiềm năng trong xét nghiệm miễn dịch²⁸. Bên cạnh đó, sự cố định định hướng kháng thể IgG lên vật liệu thông qua liên kết cộng hóa trị với carbohydrate được chứng minh tăng hiệu quả cố định gấp bốn lần so với phương pháp hấp thụ vật lý.

Mặc dù quá trình cố định thông qua carbohydrate đạt được nhiều thành công, nhưng vẫn còn một số trở ngại đối với hoạt tính của protein quan tâm sau quá

trình oxy hóa cũng như tính không đồng nhất giữa các nhóm chức. Các nhóm chức khác nhau như amine, carboxyl, thiol hay hydroxyl có thể tồn tại trên cùng một protein gây ra phản ứng không mong muốn với nhóm aldehyde tạo thành từ quá trình oxy hóa gốc carbohydrate. Bên cạnh đó, sự oxy hóa các gốc carbohydrate có thể dẫn đến sự thay đổi về cấu trúc của protein. Điều này làm ảnh hưởng đến hoạt tính của protein cũng như làm giảm hiệu suất của quá trình cố định¹⁹. Chính vì thế, việc phân tích các thành phần của protein quan tâm trước khi tiến hành lựa chọn phương pháp cố định là điều cần phải thực hiện. Tóm lại, phương pháp cố định định hướng protein dựa trên sự hình thành liên kết cộng hóa trị với carbohydrate là phương pháp tiềm năng và đầy triển vọng cho các ứng dụng thực tiễn.

- Cố định nhờ xúc tác của enzyme

Khả năng xúc tác của enzyme hỗ trợ sự hình thành liên kết cộng hóa trị giữa protein với bề mặt vật liệu, tạo tiền đề cho việc cố định định hướng protein. Trong điều kiện ổn định, enzyme có thể thúc đẩy phản ứng gắn kết giữa các nhóm chức trên protein với các nhóm chức trên bề mặt vật liệu. Phương pháp mang lại hiệu quả, độ đặc hiệu cao khi ứng dụng thực tiễn. Trên cơ sở đó, nhiều nghiên cứu khác nhau đã được tiến hành cho việc cố định protein dựa trên enzyme. Trong bài viết của L. Chan và cộng sự (2007)²⁹, quá trình cố định định hướng protein được thử nghiệm dựa trên sự xúc tác enzyme sortase A của *Staphylococcus aureus* và đã cho thấy kết quả khả quan. Trong



thử nghiệm, bề mặt vật liệu được biến đổi để biểu hiện đoạn oligoglycine. Sortase A xúc tác hình thành liên kết amide giữa nhóm carboxyl trên threonine ở vùng trình tự nhận biết LPXTG (được dung hợp với protein mục tiêu) với nhóm amine đầu N của đoạn oligoglycine (Hình 9). Bên cạnh đó, Antos và cộng sự (2016)³⁰ đã nghiên cứu về khả năng xúc tác tạo liên kết giữa hai nhóm chất khác nhau bằng sortase A và cũng đạt được kết quả khả quan.

Trong chiến lược sử dụng enzyme cho việc cố định định hướng protein, nhiều thành công khác nhau được tìm thấy khi ứng dụng thực tiễn. Mặc dù chiến lược này mang lại hiệu quả tối ưu, độ đặc hiệu cao của enzyme với protein mục tiêu, nhưng vẫn còn các vấn đề về chi phí, hoạt tính của enzyme cũng cần được quan tâm¹⁹. Sự tối ưu hóa các điều kiện cố định là cần thiết nhằm đảm bảo hoạt tính của enzyme cũng như tránh sự biến tính diễn ra. Tuy nhiên, đây được đánh giá là một trong các phương pháp tiềm năng và được cân nhắc để sử dụng trong cố định định hướng protein.

- Cố định bằng liên kết với nhóm hydroxyl

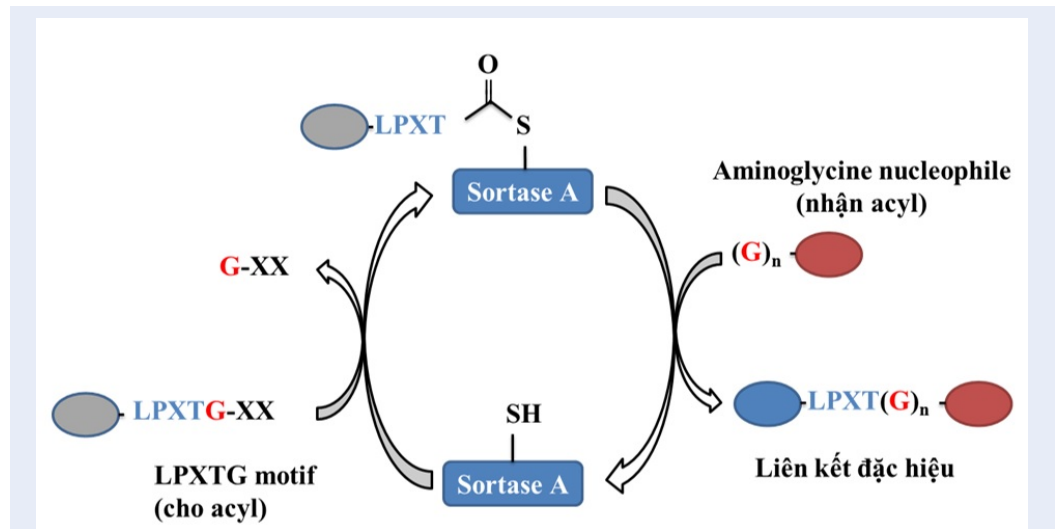
Chiến lược sử dụng epoxy là một chiến lược thích hợp cho quá trình cố định protein lên bề mặt vật liệu. Bề mặt vật liệu được biến đổi với epoxy để hình thành các nhóm chức tương tác cộng trị với protein quan tâm. Sự tương tác có thể hình thành giữa epoxy với nhiều nhóm chức khác nhau trên protein như amine (-NH₂), carboxyl (-COOH), thiol (-SH), hydroxyl (-OH) (Hình 10). Các liên kết được cho là ổn định ở các điều kiện pH khác nhau, từ pH trung tính cho đến pH kiềm. Nhờ vào sự ổn định của tương tác cũng như ái lực tương tác cao, các epoxy được ứng dụng trong nhiều kỹ thuật khác nhau. Epoxy gắn với hạt agarose có thể được sử dụng trong các kỹ thuật như sắc ký ái lực, tinh sạch kháng nguyên, kháng thể. Bên cạnh đó, quá trình cố định protein dựa trên nhóm epoxy cũng được các nhà nghiên cứu quan tâm.

M. Mohammadi và cộng sự (2018)³¹ đã tiến hành thí nghiệm cố định enzyme laccase lên bề mặt của silica đã được biến đổi với epoxy nhằm ứng dụng phân hủy các hợp chất phenolic. Sự cố định enzyme được đánh giá là có độ ổn định cao và lượng enzyme đạt 30 mg/g dưới điều kiện tối ưu (pH 4,5). Bên cạnh đó, hiệu quả phân hủy các nhóm chất phenolic như phenol, *p*-chlorophenol và catechol cũng được phân tích và kết quả đạt hơn 95% sau hai giờ. Từ đó, sự cố định laccase thông qua nhóm epoxy mang lại hiệu quả cao trong ứng dụng phân hủy hợp chất của phenol, góp phần bảo vệ và tránh ô nhiễm nguồn nước.

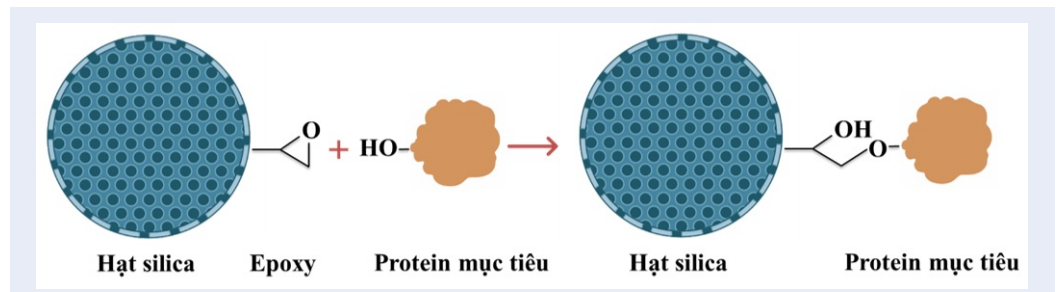
Mặc dù đạt được nhiều thành công, sự cố định thông qua nhóm epoxy còn gặp phải một số vấn đề về khả năng định hướng protein. Như đã đề cập, epoxy hình thành liên kết với các nhóm chức trên protein như amine, carboxyl, thiol hay hydroxyl. Ở một số protein, các nhóm chức này không phải là duy nhất, nghĩa là cùng tồn tại nhiều nhóm chức giống nhau trên protein và sự phân bố các nhóm chức là ngẫu nhiên. Trong một số trường hợp, nhóm chức nằm tại vị trí hoạt động hoặc vị trí liên kết của protein, điều này sẽ dẫn đến sự cố định protein không kiểm soát và ảnh hưởng đến chức năng của protein. Vì vậy, cần tiến hành khảo sát cũng như các phân tích về cấu trúc và các vùng hoạt động của protein trước khi cố định nhằm tối đa hóa hiệu quả. Nhìn chung, sự cố định protein trên bề mặt silica qua trung gian nhóm epoxy được đánh giá cao về ái lực và độ ổn định.

- Cố định bằng phản ứng của các gốc tự do

Các gốc tự do có khả năng hình thành liên kết cộng hóa trị với phân tử sinh học và mang lại nhiều kết quả tối ưu trong quá trình cố định protein. Chúng là các phân tử chứa một điện tử (electron) độc lập, do đó các gốc tự do rất dễ phản ứng và sẵn sàng kết hợp với các phân tử khác (như protein, DNA, RNA...) để hình thành liên kết. Điều này gây nên bất lợi đối với việc ngoài protein quan tâm, sự gắn kết protein ngoài lai



Hình 9: Cố định định hướng protein lên hạt nano silica bằng xúc tác của enzyme Sortase A. Bề mặt hạt nano silica được biến đổi để biểu hiện đoạn oligoglycine (G)_n. Nhóm carboxyl trên threonine ở trình tự nhận biết LPXTG dung hợp với protein mục tiêu hình thành liên kết cộng hóa trị với nhóm amine đầu N của đoạn oligoglycine nhờ sự xúc tác của Sortase A³⁰.



Hình 10: Cố định protein bằng liên kết giữa nhóm epoxy trên silica và nhóm hydroxyl trên protein. Bề mặt hạt silica được biến đổi để gắn với nhóm epoxy. Epoxy có thể hình thành liên kết cộng hóa trị với nhóm -OH trên protein. Từ đó, protein được cố định lên bề mặt silica.

lên bề mặt vật liệu sẽ xảy ra. Mặc dù vậy, nhược điểm này không đáng lo ngại nếu protein quan tâm có độ tinh sạch cao. Bên cạnh đó, ngoài việc đóng vai trò nhất định trong các hoạt động bình thường của sinh vật, các gốc tự do được đánh giá là có hại đối với các tế bào bên trong cơ thể³². Do đó, cần cân nhắc sử dụng các gốc tự do đối với các thí nghiệm *in vivo* nhằm tối thiểu hóa rủi ro cho sức khỏe.

Trong ứng dụng cố định protein lên vật liệu silica, sự kích thích bởi tia UV là cần thiết để tạo ra các gốc tự do và thúc đẩy sự hình thành liên kết. Một số chất có thể được kích thích để tạo gốc tự do bao gồm arylazide, benzophenone, diazirine, và các nhóm nitrobenzyl³³. Thí dụ như benzophenone (BP) có thể nhận bước sóng kích thích từ 350–360 nm (Hình 11). Giống với các gốc tự do khác, BP được đánh giá là có

độ ổn định cao cũng như không bị biến tính dưới sự tác động của tia UV. Điều này đảm bảo hiệu quả của các gốc tự do trong các ứng dụng.

M. M. M. Bilek và cộng sự (2011)³⁴ đã tiến hành cố định protein tropoelastin thông qua các gốc tự do lên trên bề mặt của vật liệu nhằm ngăn chặn các phản ứng bất lợi của cơ thể đối với vật liệu sau khi cấy ghép. Một số phản ứng bất lợi có thể xảy ra bao gồm sự viêm nhiễm, đào thải vật liệu cũng như các phản ứng xơ hóa quá mức. Việc “che phủ” bề mặt của các vật liệu y sinh bằng các phân tử protein sinh học như tropoelastin nhằm bảo vệ vật liệu cũng như giảm phản ứng của cơ thể chủ. Các kết quả phân tích thu được cho thấy khả năng gắn kết protein của vật liệu và sự tương thích sinh học *in vivo* cũng được chứng minh khi tiến hành các thí nghiệm mô phỏng dòng chảy của máu

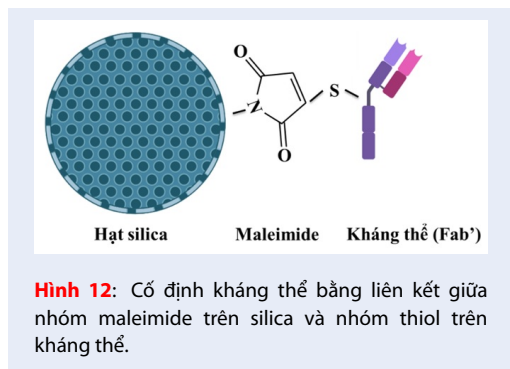
tuần hoàn trong động mạch. Như vậy, việc cố định protein dựa trên các gốc tự do mang lại nhiều kết quả khả quan trong việc cấy ghép vật liệu y sinh, từ đó mở rộng ra các ứng dụng về cảm biến sinh học hay chẩn đoán bệnh.

Nhìn chung, sự cố định protein qua trung gian gốc tự do lên bề mặt vật liệu được ứng dụng trên nhiều lĩnh vực và mang lại các kết quả khả quan. Mặc dù còn gặp phải một số vấn đề về độ đặc hiệu và khả năng tác động của các gốc tự do đối với cơ thể, nhưng đây vẫn là một chiến lược tiềm năng và cần được cân nhắc áp dụng trong các ứng dụng cố định protein.

- Cố định bằng liên kết với nhóm thiol

Các nhóm thiol (-SH) trên protein là vị trí đích lý tưởng cho việc cố định định hướng protein lên bề mặt vật liệu rắn như silica. Nhóm thiol tồn tại ở protein, phổ biến nhất là kháng thể, góp phần tạo nên các cầu nối disulfide (S-S) giúp ổn định về mặt cấu trúc cũng như chức năng của protein. Ở kháng thể, các liên kết disulfide tồn tại ở vùng bản lề giúp liên kết hai chuỗi nặng của kháng thể lại với nhau. Ngoài ra, sự gắn kết giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ cũng do sự hỗ trợ của các cầu nối S-S. Để tiến hành việc cố định kháng thể lên silica, sự thiol hóa được diễn ra tạo nên các kháng thể đơn giá (Fab'), các kháng thể chỉ tồn tại một chuỗi nặng và một chuỗi nhẹ. Sự thiol hóa xảy ra có thể dẫn đến các cầu nối S-S liên kết giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ bị cắt đứt, dẫn đến sự biến đổi và mất đi vùng paratope. Vì vậy, các phân tích và kiểm tra hoạt tính của kháng thể sau quá trình thiol hóa diễn ra là cần thiết để đảm bảo hiệu quả của phản ứng cũng như của các thí nghiệm. Ngoài ra, nhiều xúc tác khác nhau như maleimide (Hình 12) hay SPDP [succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionate] (Hình 13) có thể được dùng để thúc đẩy sự hình thành liên kết cộng hóa trị với nhóm thiol trên protein. Nhìn chung, các nghiên cứu về sự cố định protein dựa trên nhóm chức thiol đã được triển khai và mang lại nhiều kết quả khả quan^{35,36}.

Hortigueela M.J. và cộng sự (2013)³⁷ đã thiết kế các kháng thể kháng domoic acid gắn các gốc cysteine và gắn lên bề mặt vật liệu được biến đổi với maleimide. Kết quả cho thấy khả năng cố định hiệu quả của kháng thể lên bề mặt vật liệu thông qua các nhóm thiol. Ái lực tương tác được cải thiện và khó bị rửa giải hơn so với các kháng thể không gắn gốc cysteine. Bên cạnh đó, sự cố định còn tăng cường sự ổn định của liên kết và đạt hiệu quả trong việc gắn kết với kháng nguyên hơn so với các hấp thụ ngẫu nhiên. Tóm lại, cách tiếp cận dựa trên sự hình thành liên kết cộng hóa trị thông qua các nhóm thiol mang lại độ nhạy cao đối với các

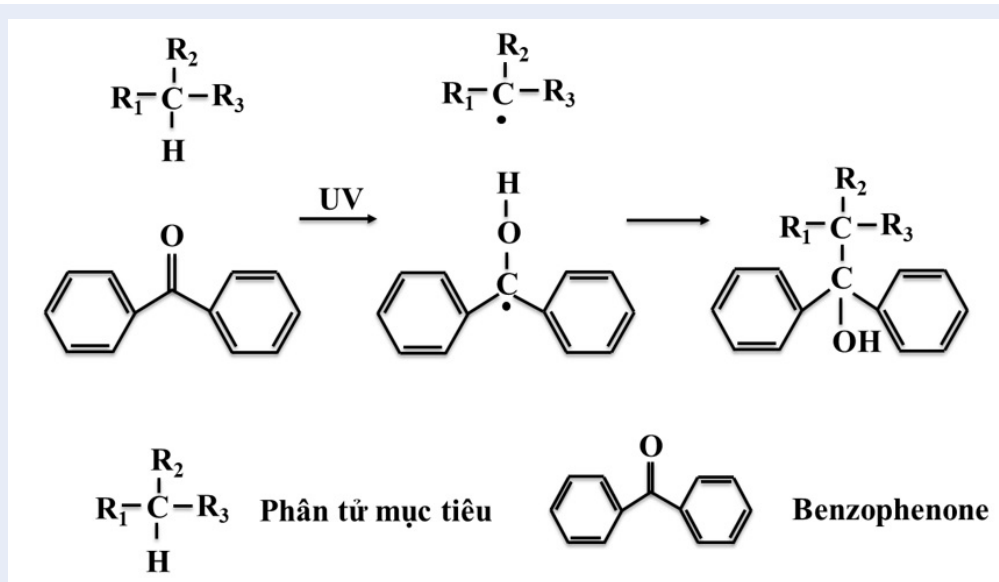


chất gây độc thần kinh cho hải sản như domoic acid nói riêng hay các chất khác nói chung, tạo điều kiện cho các phát triển của cảm biến sinh học.

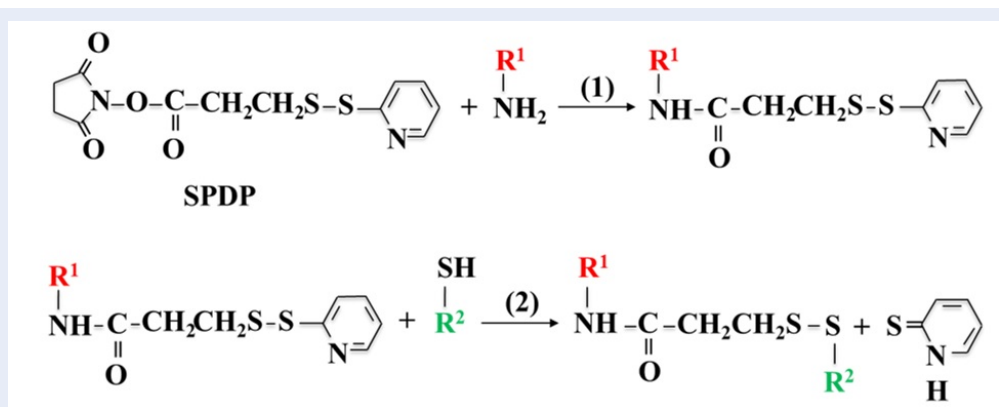
Nhìn chung, sự cố định dựa trên nhóm thiol mang lại nhiều hiệu quả về độ đặc hiệu và độ ổn định trong quá trình gắn protein lên silica. Mặc dù gặp phải một số nhược điểm về khả năng gắn định hướng protein nhưng chiến lược dựa trên nhóm thiol là một trong các hướng tiếp cận tiềm năng và có thể phát triển trong tương lai.

Cố định bằng liên kết amide giữa nhóm carboxyl và amine

Cố định protein dựa trên nhóm chức carboxyl cho phép cố định nhiều loại protein khác nhau lên bề mặt rắn. Aspartic acid và glutamic acid là các thành phần chính trên protein, chính vì thế, hầu hết các protein đều có thể áp dụng phương pháp này để cố định lên bề mặt rắn như silica. Tương tự với nhóm chức carboxyl, việc cố định protein thông qua nhóm chức amine cũng mang lại nhiều ưu điểm nổi bật. Các lysine chứa các nhóm amine tồn tại thường trực trên các phân tử protein, tạo khả năng cũng như ái lực cố định protein lên bề mặt vật liệu. Bề mặt vật liệu mang nhóm chức carboxyl tương tác với nhóm amine trên protein và ngược lại, bề mặt vật liệu có nhóm amine gắn với nhóm carboxyl trên protein. Hiện nay, một số chất khác nhau có thể được sử dụng cho việc cải thiện hiệu quả liên kết giữa các nhóm chức carboxyl/amine, phổ biến nhất là EDC [1-ethyl-3-(3-dimethylamoniopropyl)carbodiimide] với các ưu điểm như khả năng hòa tan tốt trong nước và không cần dung dịch đệm chuyên biệt. Trong dung dịch, EDC phản ứng với nhóm chức -COOH để tạo nên sản phẩm trung gian *o*-acylisourea. Sản phẩm này tương tác với nhóm -NH₂ để tạo nên cấu trúc cộng hóa trị amide. Mặc dù vậy, phản ứng xảy ra giữa *o*-acylisourea với gốc amine chậm và sản phẩm trung gian dễ bị thủy phân trong dung dịch nước. Chính vì



Hình 11: Tia UV kích thích BP hình thành gốc tự do và liên kết với phân tử cần cố định³³. Dưới sự xúc tác của UV, nhóm carbonyl (-C=O) của BP hình thành gốc tự do ketyl và “giành lấy” hydro từ liên kết C-H của phân tử cần cố định. Sau đó điện tử tự do của hai nguyên tử carbon liên kết với nhau hình thành liên kết cộng hóa trị C-C.



Hình 13: Xúc tác SPDP hình thành liên kết giữa hạt nano silica (R¹) mang nhóm amine với protein (R²) mang nhóm thiol.

thể, NHS (*N*-hydroxysuccinimide) được sử dụng để hỗ trợ khả năng xúc tác của EDC (Hình 14). Có thể nói, EDC/NHS là một trong những chất xúc tác kinh điển cho sự hình thành của liên kết amide giữa amine và carboxyl, mang lại nhiều tiềm năng ứng dụng cho các lĩnh vực tương tác protein³⁸.

Y. T. Zhu và cộng sự (2014)³⁹ đã tạo ra các hạt từ có kích thước nano phủ silica và gắn các nhóm carboxyl để cố định lipase tuyến tụy của lợn (PPL) dưới sự xúc tác của EDC/NHS. Dựa trên các phân tích, hoạt tính của PPL sau cố định cao hơn so với PPL tự do, hiệu suất cố định đạt 50 mg enzyme/hạt. Bên cạnh đó,

hệ thống cố định enzyme bền với nhiệt khi ở 70 °C, khoảng 60% hoạt tính của PPL vẫn được ghi nhận. Có thể thấy, PPL được cố định trên các hạt dựa trên EDC/NHS mang lại hiệu quả trong các ứng dụng sàng lọc các chất ức chế lipase như orlistate hay EGCG, EGC.

Nhìn chung, sự cố định protein dựa trên các tương tác cộng hóa trị hình thành giữa các nhóm chức carboxyl/amine có một đặc điểm chung. Đó là cần biến đổi bề mặt vật liệu. Kết quả của sự biến đổi hình thành nên các nhóm chức có ái lực với nhóm chức trên protein, cụ thể là carboxyl và amine. Do sự phân bố ngẫu

nhiên của các nhóm chức carboxyl/amine trên phân tử protein, sự cố định protein không định hướng có thể xảy ra và ảnh hưởng đến hiệu quả cố định. Vì vậy, các phân tích khác nhau cần được tiến hành để hạn chế sự gắn kết không kiểm soát. Mặc dù gặp phải một số hạn chế, sự cố định protein dựa trên hai nhóm chức carboxyl và amine là phương pháp tiềm năng để phát triển hạt nano silica chức năng hóa protein.

Cố định thông qua phản ứng “click”

Phản ứng “click” cung cấp một chiến lược hữu ích cho quá trình cố định chọn lọc protein mục tiêu lên trên bề mặt chất nền cụ thể dựa trên tương tác cộng hóa trị. Năm 2001, nhà khoa học Sharpless đã đưa ra thuật ngữ “click chemistry” để mô tả các phản ứng xảy ra một cách nhanh chóng, đơn giản trong điều kiện cơ bản và thu được năng suất cao. Phản ứng “click” hình thành giữa một alkyne ($-C\equiv C-$) và một azide ($-N=N=N$) tạo ra sản phẩm vòng năm cạnh (phản ứng 1,3-dipolar cycloaddition) (Hình 15). Để tiến hành phản ứng, protein quan tâm hoặc bề mặt vật liệu silica cần gắn kết với một phân tử alkyne hoặc azide. T. Lummerstorfer và cộng sự (2004)⁴⁰ đã gắn kết 11-azidoundecylsiloxane lên bề mặt silica và cố định lần lượt với các dẫn xuất của acetylene: n-hexyl-acetylene, methoxycarbonyl acetylene và bis-(ethoxy-carbonyl)acetylene. Sản phẩm 1,2,3-triazole tạo thành và được đánh giá thông qua các kỹ thuật quang phổ. Các kết quả thu được cho thấy phản ứng “click” hoàn toàn có thể trở thành ứng cử viên cho các quá trình cố định phân tử sinh học lên chất nền. Từ đó, phản ứng này được áp dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như nghiên cứu vật liệu, hóa học polymer và khoa học dược phẩm⁴¹.

Mặc dù có nhiều ưu điểm, phản ứng “click” còn gặp phải một số vấn đề về điều kiện xảy ra phản ứng. Một số phản ứng “click” thông thường yêu cầu các kim loại đóng vai trò làm chất xúc tác như đồng. Trong cơ thể, sự dư thừa kim loại đồng có thể dẫn đến các tác động đến hệ thần kinh và ảnh hưởng đến một số cơ quan khác như gan, thận. Tuy nhiên, vấn đề này được giải quyết khi phản ứng “click” được cải tiến để sử dụng các alkyne dạng vòng không cần xúc tác đồng – copper-free click chemistry. Mặt khác, nhiệt độ cao cũng có thể cản trở đến phản ứng “click” xảy ra⁴². Vì vậy, sự tối ưu hóa về điều kiện phản ứng là cần thiết để nâng cao hiệu quả của thí nghiệm. Nhìn chung, phản ứng “click” có thể được áp dụng cho các thí nghiệm khác nhau và mang lại hiệu quả nhất định, đặc biệt trong các ứng dụng liên quan đến sự cố định protein nói riêng và của cảm biến sinh học nói chung.

Sau khi giới thiệu về các phương pháp cố định các protein cũng như tiến hành so sánh ưu và nhược điểm

giữa các phương pháp (Bảng 1), các ứng dụng thực tế mà các quá trình cố định protein mang lại được tiếp tục trình bày, đặc biệt tập trung vào hai ứng dụng chính là cảm biến sinh học và phân phối thuốc.

ỨNG DỤNG CỦA HẠT NANO SILICA ĐƯỢC CỐ ĐỊNH PROTEIN

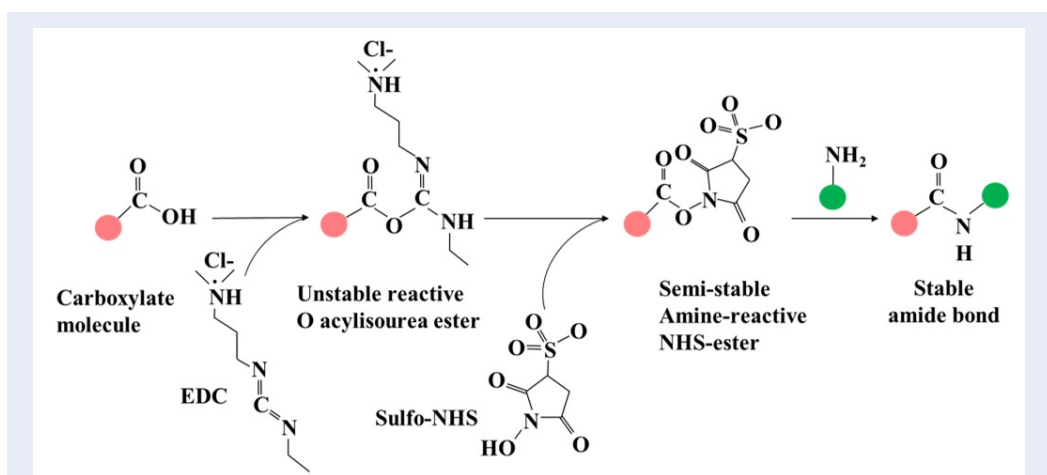
Hệ thống phân phối thuốc

Sự vận chuyển thuốc đến đúng vị trí mục tiêu bên trong cơ thể đang ngày càng được quan tâm, nhằm cải thiện hiệu quả của việc sử dụng thuốc trong điều trị. Hệ thống phân phối thuốc (Drug delivery system/DDS) đảm bảo nồng độ tối ưu của thuốc tại vị trí bệnh cũng như hạn chế khả năng thuốc sẽ tác động đến các tế bào không mục tiêu. Bên cạnh đó, các rào cản vật lý hay hóa học trên con đường thuốc di chuyển đến vị trí đích cũng là vấn đề cần được quan tâm. Đối với quá trình vận chuyển thuốc đường uống, thuốc trị liệu cần vượt qua được điều kiện acid ở dạ dày, các enzyme tiêu hóa cũng như giữ vững hoạt tính nhằm tối ưu hiệu quả hiệu quả trị liệu. Các phương tiện vận chuyển thuốc như DDS ngoài việc nhắm trúng đích mục tiêu, chúng còn hỗ trợ sự toàn vẹn của thuốc trong quá trình di chuyển.

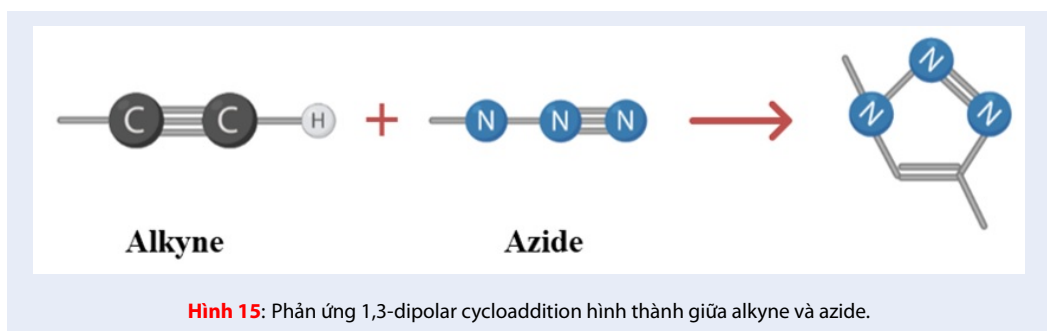
Hiện nay, nhiều vấn đề được nêu ra nhằm đảm bảo hiệu quả của hệ thống phân phối thuốc trong điều trị. Trong đó, các vấn đề quan trọng của DDS cần được quan tâm bao gồm: tính tan của DDS, khả năng mang và bảo vệ thuốc, tính tương thích sinh học, và khả năng thanh thải. Tính tan của DDS quyết định khả năng di chuyển theo hệ tuần hoàn đến vị trí tác động của DDS. Khả năng mang và bảo vệ thuốc của DDS sẽ quyết định tải lượng và hiệu quả của thuốc tác động lên vị trí đích. Sự kém hòa tan cũng như không tan của các loại thuốc trị liệu không chỉ ảnh hưởng rất lớn đến kết quả điều trị bệnh mà còn gây tổn kém về tiền bạc, thời gian và công sức. Bên cạnh đó, một số loại thuốc bị phân hủy hoặc kém bền trong điều kiện đường tiêu hóa khi đưa thuốc vào trong cơ thể qua đường uống. DDS là một công cụ có khả năng vận chuyển các loại thuốc không tan trong cơ thể, bảo vệ sự toàn vẹn của thuốc, từ đó làm tăng hiệu quả điều trị^{43,44}. Tính tương thích sinh học đảm bảo DDS sẽ không gây độc hoặc sinh miễn dịch trong cơ thể. Cuối cùng, khả năng thanh thải sẽ giúp DDS tránh bị tổn động trong cơ thể sau quá trình điều trị. Các DDS có khả năng thanh thải kém sẽ dễ bị tích lũy trong các cơ quan nội tạng như thận, gan, lách làm ảnh hưởng đến chức năng của các cơ quan này. Nhìn chung, có nhiều tiêu chí khác để đánh giá hiệu quả của DDS, nhưng các tiêu chí/vấn đề nêu trên đóng vai trò then

Bảng 1: So sánh ưu nhược điểm của các phương pháp cố định protein lên silica. KXĐ: không xác định; 0: thấp; 1: trung bình; 2: khá; 3: cao.

Tiêu chí		Khả năng định hướng	Độ đặc hiệu	Độ ổn định	Ái lực	Tiến biến đổi protein	Tiến biến đổi bề mặt silica
Chiến lược cố định							
Tương tác tĩnh điện	Ưu				2	Không	
	Nhược	0	0	1			KXĐ
Protein A, protein G (gắn kháng thể)	Ưu	3	3	3	3	Không	
	Nhược						Có
DNA	Ưu		3		3		
	Nhược	0		1		Có	Có
Aptamer	Ưu		3		3	Không	
	Nhược	KXĐ		1			Có
His-tag	Ưu	3	2		3	Không	
	Nhược			1			Có
Biotin-avidin	Ưu		3	3	3		
	Nhược	0				Có	Có
Phối tử	Ưu		3	3	3	Không	
	Nhược	KXĐ					Có
Carbohydrate	Ưu			2	3	Không	
	Nhược	KXĐ	0				Có
Enzyme	Ưu			3	3	Không	
	Nhược	0	0				Có
Epoxy	Ưu			3	3	Không	
	Nhược	0	0				Có
Gốc tự do	Ưu			3	3	Không	
	Nhược	0	0				Có
Nhóm thiol	Ưu			3	3		
	Nhược	0	0			KXĐ	Có
Nhóm amine/carboxyl	Ưu			3	3		
	Nhược	0	0			KXĐ	Có
Click chemistry	Ưu		3	3	3		
	Nhược	0				Có	Có



Hình 14: Sự hình thành liên kết amide giữa nhóm carboxyl trên hạt nano silica (đỏ) và nhóm amine trên protein cần cố định (xanh) nhờ sự xúc tác của EDC/NHS.



Hình 15: Phản ứng 1,3-dipolar cycloaddition hình thành giữa alkyne và azide.

chốt và quan trọng, là tiền đề để tạo ra các DDS hiệu quả.

Gần đây, nhiều vật liệu được sử dụng phổ biến trong phân phối thuốc như: liposome, dendrimer, carbon nanotube và silica (SiO₂) do các vật liệu này có nhiều đặc tính nổi bật. Mặc dù vậy, đa số các vật liệu đều không có tính trợ cao khi phân phối thuốc qua đường uống – tính trợ của vật liệu thể hiện khả năng chịu được các điều kiện bất lợi của cơ thể như acid dạ dày. Vì vậy, khi xâm nhập vào đường ruột, các vật liệu sẽ không ổn định, dễ bị phân hủy và do đó làm giảm đáng kể hiệu quả phân phối thuốc. Trong khi đó, vật liệu SiO₂ không chỉ có tính trợ cao mà còn đảm bảo tính tương thích sinh học, khả năng thanh thải cũng như giữ vững hoạt tính của thuốc, tạo tiền đề trở thành vật liệu phân phối thuốc tối ưu⁴⁵. Một số hạt nano silica tổng hợp được sử dụng phổ biến trong ứng dụng phân phối thuốc như SBA-15, MCM-41, và MCM-48 bởi diện tích bề mặt, độ xốp cao, thể tích lỗ có thể điều chỉnh, và không gây độc cho tế bào^{46,47}.

Albayati và cộng sự (2019)⁴⁸ đã tổng hợp và biến đổi bề mặt các hạt silica SBA-15 nhằm phân phối thuốc

kháng sinh chloramphenicol. Bề mặt silica được biến đổi tạo nên các nhóm amine (-NH₂) làm tăng khả năng hấp thụ thuốc của vật liệu. Các kết quả thu được cho thấy hiệu quả mang thuốc của SBA-15 đạt 51%. Bên cạnh đó, khả năng giải phóng thuốc của vật liệu cũng được đánh giá trong 30 phút đầu ở mức 41% và tiếp tục sau đó sáu giờ. Quá trình phân phối thuốc chloramphenicol dựa trên silica đạt hiệu quả trong việc hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan đến nhiễm khuẩn. Từ đó, vật liệu SBA-15 hứa hẹn trở thành hệ thống phân phối thuốc tiềm năng trong tương lai. Vật liệu MCM-41 và MCM-48 được Shah và cộng sự (2019)⁴⁹ đánh giá về khả năng hấp thụ cũng như tính khả dụng của thuốc raloxifene (RLF) *in vitro* đối với tế bào ung thư Caco-2. Kết quả thu được cho thấy tính thấm của các hạt nano silica cao hơn so với các RLF tự do và tính khả dụng sinh học của thuốc cũng tăng hơn gấp ba lần. Các nghiên cứu đã cho thấy vật liệu silica tiềm năng trong việc phân phối thuốc cũng như cải thiện hoạt tính sinh học của thuốc, mở ra cơ hội mới trong lĩnh vực dược phẩm. Không dừng lại ở đó, Popova và cộng sự (2020)⁵⁰ cũng đã phát triển các hạt

oxide sắt từ phủ silica MCM-41 (MM) nhằm tạo nên hệ thống phân phối thuốc tamoxifen nhằm mục tiêu tế bào ung thư MCF-7. Vật liệu MM được biến đổi bề mặt với các nhóm chức $-NH_2$ hoặc $-COOH$ và sau đó là các chuỗi PEG. Các phân tích khả năng tải thuốc của vật liệu MCM-41 cho thấy khoảng 19.4–31.4% trọng lượng thuốc được lắng đọng bên trong các lỗ của silica. Đánh giá sự giải phóng thuốc trong điều kiện pH 7 và kết quả thu được sự thuốc giải phóng bền vững sau 7 giờ. Nhìn chung, MCM-41 tải thành công thuốc tamoxifen và sự giải phóng lâu dài của thuốc cũng được thiết lập, tạo cơ sở phân phối thuốc nhằm mục tiêu các tế bào MCF-7. Năm 2021, các hạt nano silica MCM-41 và MCM-48 được Christoforidou và cộng sự⁵¹ đánh giá cao về khả năng tương tích sinh học, không gây độc tính với các thử nghiệm trên tế bào Caco-2. Bên cạnh đó, khả năng mang và vận chuyển thuốc kém tan như aprepitant của vật liệu này cũng mang lại các kết quả khả quan. Có thể nói, hạt nano silica là phương tiện phân phối thuốc đạt hiệu suất cao và đầy hứa hẹn khi ứng dụng trong việc điều trị.

Mặc dù đạt được nhiều thành công trong các ứng dụng, các vật liệu SiO_2 hiện nay như MCM-41, MCM-48 và SBA-15 còn gặp phải khó khăn trong quá trình tổng hợp như: tốn thời gian, chi phí cao, sử dụng hóa chất độc hại và đặc biệt là không tổng hợp được hạt SiO_2 có lỗ xốp². Yêu cầu vật liệu thay thế silica tổng hợp như diatom: có các đầy đủ các đặc điểm của silica, nguyên liệu tự nhiên, rẻ và có lỗ xốp. Lỗ xốp của SiO_2 giúp gia tăng đáng kể khả năng vận chuyển thuốc của vật liệu này do làm tăng diện tích bề mặt, tăng khả năng hấp thụ thuốc của vật liệu (Hình 16).

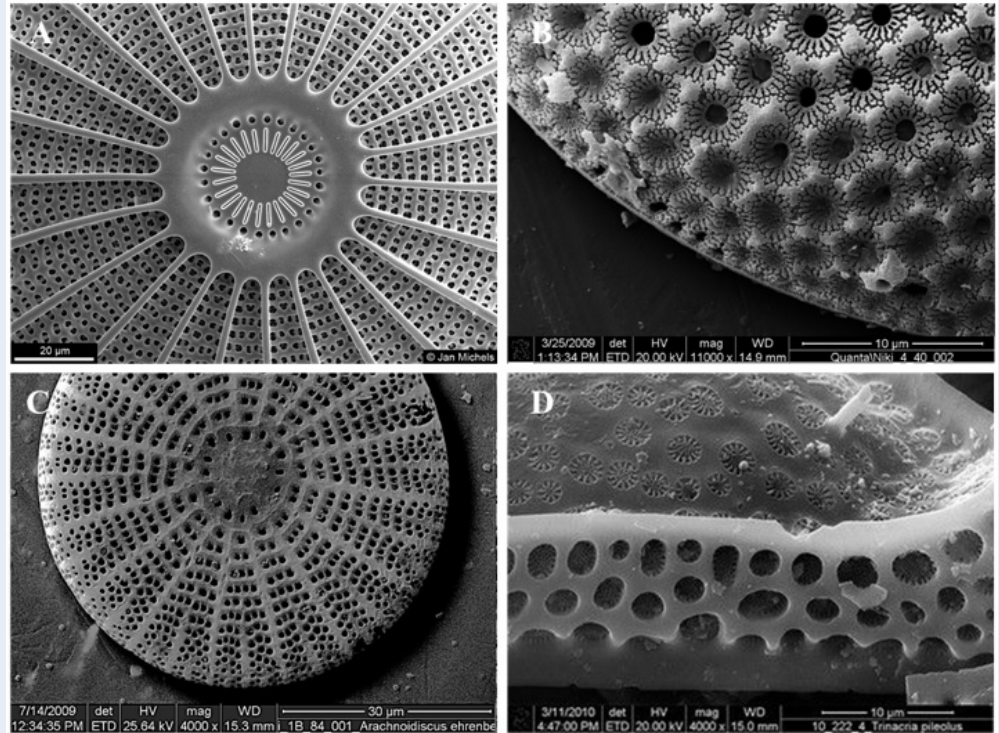
Trong những năm trước đây, nhiều nghiên cứu trên vật liệu diatom cũng đã được tiến hành và mang lại nhiều thành công. Bariana và cộng sự (2013)^{55,56} đã đánh giá khả năng mang và giải phóng của hai loại thuốc kháng sinh indomethacin và gentamicin nhưng sử dụng khung diatom được biến đổi bề mặt bằng organosilane và phosphonic acid. Sự biến đổi bề mặt đã cải thiện thời gian giải phóng thuốc từ 13–26 ngày và tùy thuộc vào nhóm chức hiện diện trên bề mặt diatom. Các kỹ thuật phân tích cho thấy bề mặt ưa nước được biến đổi bởi các chất như APTES (3-aminopropyltriethoxysilane) và 2-CEPA (2-carboxyethylphosphonic acid) tăng sự hiện diện của nhóm carboxyl phân cực, amine hoặc nhóm epoxy, do đó cho phép tăng cường khả năng mang và giải phóng indomethacin có kiểm soát. Trong khi bề mặt diatom kỵ nước được biến đổi bởi các hydrocarbon hữu cơ như 16-PHA (16-phosphono-hexadecanoic acid) và OTS (7-octadecyltrichlorosilane), cải thiện khả năng mang

thuốc và giải phóng gentamicin. Các đánh giá đã chứng minh vai trò của việc chỉnh sửa bề mặt hạt silica trong quá trình phân phối thuốc, từ đó cải thiện hiệu quả trong các ứng dụng.

Uthappa và cộng sự (2018)⁵⁷ đã nhận thấy tiềm năng ứng dụng của khung diatom cho việc phân phối thuốc như tính tương hợp sinh học, không độc tính, độ xốp cao và diện tích bề mặt lớn. Bên cạnh các ưu điểm, diatom có tải lượng thuốc không cao cũng như sự giải phóng thuốc ban đầu khá lớn. Chính vì vậy, vật liệu lai giữa diatom và xerogel (DE-XER) đã được tạo ra bằng phương pháp sol-gel nhằm cải thiện hiệu quả phân phối thuốc. Thuốc diclofenac sodium (DS), là một loại thuốc chống viêm không steroid được sử dụng để thử nghiệm. Hạn chế của DS là thời gian bán hủy ngắn và tốc độ chuyển hóa cao nên cần phải sử dụng thuốc thường xuyên. Việc sử dụng vật liệu lai DE-XER cải thiện hoạt tính của thuốc cũng như đạt được mức độ giải phóng thuốc có kiểm soát. Hứa hẹn tiềm năng ứng dụng trong các lĩnh vực khác nhau của vật liệu.

Mancera-Andrade và cộng sự (2019)⁵⁸ đã sử dụng khung diatom silica sinh học (bSi) phân phối thuốc kém tan Isorhamnetin và đạt được các kết quả khả thi. Khung bSi thu nhận từ tảo cát *Cyclotella* sp., đóng vai trò là vật liệu mang thuốc. Các đánh giá cho thấy khả năng mang thuốc cao của bSi cùng với đó là quá trình giải phóng thuốc trong giờ đầu tiên đạt 48.26 % và kéo dài trong 3 giờ. Có thể nói, các đặc điểm về tương thích sinh học, an toàn, và sự phân bố các nhóm chức đã làm bSi trở nên đầy triển vọng trong ứng dụng DDS nói riêng và công nghệ sinh học nói chung.

Dựa trên sự thành công của các tiến nghiên cứu, ứng dụng của diatom trong các lĩnh vực ngày càng được chú ý. Chẳng hạn, Ibrahim và cộng sự (2021)⁵⁹ đã phát triển vật liệu nanocomposite dựa trên diatomite và chitosan (CS/D) nhằm nâng cao khả năng phân phối thuốc ibuprofen (IB). Dựa trên các đánh giá, khả năng mang thuốc của CS/D đạt mức 562,6 mg/g. Trong dịch dạ dày (pH = 1,2), khả năng giải phóng thuốc ở ngưỡng xấp xỉ 91,5% trong thời gian kéo dài đến hơn 200 giờ, trong khi đó ở dịch ruột (pH = 7,4), mức độ giải phóng đạt 97,3% trong thời gian tương ứng. Bên cạnh đó, hàm lượng chitosan trong vật liệu CS/D có thể thay đổi để kiểm soát tốc độ thuốc giải phóng. Nhìn chung, việc ứng dụng vật liệu có nguồn gốc từ silica như diatomite mang lại hiệu quả nhất định trong việc nâng cao hiệu quả sử dụng của thuốc. Hiện nay, nhiều vật liệu khác nhau có thể được sử dụng cho các quá trình phân phối thuốc điều trị ung thư. Trong đó, các hạt silica là chất mang hiệu quả để vận chuyển các loại thuốc với nhiều đặc tính nổi bật như đã đề cập, bao gồm: tính tương thích sinh học,



Hình 16: Ảnh chụp SEM cấu trúc của diatom⁵²⁻⁵⁴ A: Tảo cát *Arachnoidiscus*; B: Tảo cát *Coscinodiscus simbirskianus*; C: Tảo cát *Arachnoidiscus ehrenbergii*; D: Tảo cát *Trinacria pileolus*.

tính trợ, khả năng thanh thải, diện tích bề mặt lớn. Nhiều nghiên cứu khác nhau đã được thực hiện trên hạt silica nhằm đánh giá khả năng mang và giải phóng thuốc cho các khối u. Harun và cộng sự (2021)⁶⁰ đã sử dụng các hạt nano silica trung tính (Mesoporous silica nanoparticles/MSN) để phân phối thuốc ruthenium polypyridyl (Ru-PIP) trong điều trị ung thư và đạt được nhiều thành công. Ru-PIP được đánh giá có khả năng tích tụ trong MSN ở mức 18,84%. Bên cạnh đó, khả năng giải phóng thuốc chậm thông qua khuếch tán cũng được ghi nhận sau 72 giờ. MSN-Ru-PIP được đánh giá độc tính đối với các dòng tế bào ung thư như Hela, A549, T24, và cho thấy hoạt tính ức chế của thuốc gia tăng một cách đáng kể. Có thể nói, MSN là một vật liệu phân phối thuốc hiệu quả khi đảm bảo hoạt tính, khả năng mang và giải phóng thuốc một cách bền vững.

Các hạt nano silica trung tính phủ lipid (MSN-Lip) cũng được Amin và cộng sự (2021)⁶¹ dùng để phân phối thuốc doxorubicin (DOX) trong liệu pháp ung thư và mang lại nhiều kết quả khả quan. Việc phủ lớp lipid không chỉ tăng tính ổn định, tính tương thích sinh học mà còn gia tăng thời gian giải phóng thuốc của MSN. Việc hạn chế tối đa hiện tượng thuốc rò rỉ cũng được đảm nhận bởi lớp phủ lipid. Các MSN-Lip

cho thấy khả năng thâm nhập tốt vào tế bào trị liệu. Cấu trúc lỗ xốp của MSN mang lại khả năng mang thuốc cao và giải phóng thuốc chậm theo thời gian. Bên cạnh đó, độc tính cao đối với các khối u của MSN-Lip-DOX cũng được đánh giá và không nhận thấy tác dụng phụ. Đây được xem là một trong các chiến lược triển vọng nhằm duy trì nồng độ ổn định của thuốc tại các tế bào ung thư.

Gần đây, các vật liệu silica tổng hợp dần được thay thế bởi vật liệu silica sinh học có nguồn gốc từ diatom do vật liệu này gặp nhiều vấn đề về môi trường và tổng hợp. Diatom (khuê tảo) với khung tế bào bằng silica, an toàn, ít độc hại và thân thiện môi trường là vật liệu đầy triển vọng đối với việc hỗ trợ trị liệu các bệnh ung thư. Thuốc curcumin (CUR) đã được sử dụng để đánh giá khả năng mang và giải phóng thuốc của diatom trong điều trị ung thư và đạt được các thành công nhất định bởi Uthappa và cộng sự (2019)⁶². CUR là loại thuốc chống oxy hóa, kháng viêm và hỗ trợ điều trị ung thư. Diatom được biến đổi là chất mang hiệu quả để cải thiện tính khả dụng cũng như khả năng hấp thụ của CUR. Sự giải phóng thuốc được kéo dài (tăng 11,82% khi ở pH 1,2 và 15,63% khi ở pH 7,4) khi diatom được biến đổi với polydopamine

(PDA) và khả năng nhắm trúng đích nhờ liên hợp với một phối tử folic acid (FA).

Sasirekha và cộng sự (2019)⁶³ đã sử dụng tảo cát *Amphora subtropica* để thay thế vật liệu silica tổng hợp trong ứng dụng phân phối thuốc đến các tế bào ung thư phổi (A549). Tảo cát được thu thập và xử lý hóa học để loại bỏ toàn bộ chất hữu cơ, còn lại khung bằng silica (AF). Sau đó, khung AF được biến đổi bề mặt với chitosan (Chi) và liên hợp với thuốc doxorubicin (DOX). Các thí nghiệm đã chứng minh khả năng tải thuốc cao, tính chất phân hủy sinh học và tương hợp sinh học của AF-Chi-DOX. Tóm lại, AF có thể là vật liệu thay thế tiềm năng cho các vật liệu nano tổng hợp được sử dụng trong các ứng dụng phân phối thuốc.

Delasoie và cộng sự (2020)⁶⁴ đã sử dụng diatom để biến đổi hóa học với vitamin B12 nhằm nâng cao hiệu quả trong điều trị ung thư đại trực tràng (Colorectal Cancer/CRC). Phối hợp thuốc kháng ung thư rhenium(I) tricarbonyl có thể liên kết với vitamin B12 đã được cố định trên vật liệu. Các kết quả cho thấy khả năng giải phóng chậm thuốc trị liệu và tăng cường đáp ứng với CRC khi có ánh sáng kích thích. Độc tính của thuốc đối với tế bào lành, lượng thuốc điều trị thấp hơn cũng như các tác dụng phụ được hạn chế, từ đó giảm thiểu chi phí, gánh nặng cho bệnh nhân. Đây là một trong các tiếp cận tạo tiền đề cho hệ thống phân phối mới dựa trên silica hướng đến dạ dày nói riêng và đường ruột nói chung trong tương lai. Không dừng lại ở đó, các nghiên cứu về chiến lược trị liệu CRC cũng như hạn chế sự phát triển và di căn của khối u cũng được tiến hành bởi Managò và cộng sự (2021)⁶⁵. Cụ thể, hạt nano diatomite (DNP) gắn các hạt nano vàng (AuNPs) được phủ lớp gelatin (Gel) để phân phối các phân tử galunisertib (LY), tạo nên hệ thống phân phối DNP-AuNPs-LY@Gel. LY cho thấy khả năng chống ung thư nhờ ngăn chặn yếu tố chịu trách nhiệm cho quá trình CRC di chuyển và di căn. Trong hệ thống phân phối, LY được giữ lại trong lớp vỏ gel và độ nhạy của gel với môi trường acid của CRC tạo điều kiện cho sự giải phóng thuốc. Theo các đánh giá, hệ thống DNP-AuNPs-LY@Gel hiệu quả trong việc giảm lượng thuốc phân phối cũng như hạn chế tối đa tác dụng phụ. Có thể nói đây là chiến lược mang lại giá trị cao trong việc điều trị CRC nói riêng cũng như các loại ung thư khác nói chung.

Tóm lại, dựa trên thống kê những nghiên cứu nổi bật trong nhiều năm gần đây (Bảng 2), các hệ thống phân phối thuốc sử dụng hạt nano silica được đánh giá cao về khả năng mang và phân phối thuốc nhắm trúng đích, cùng với đó là nâng cao hiệu quả của thuốc trong điều trị và giảm tác dụng phụ của thuốc do hạn chế được sự phân tán của thuốc theo hệ tuần hoàn. Bên cạnh đó, một số nhược điểm của vật liệu silica cũng

được khắc phục bởi sự ra đời của các vật liệu silica mới như diatom hay vật liệu lai kết hợp giữa silica và những vật liệu khác. Nhìn chung, dựa trên việc cố định protein lên silica, các hệ thống phân phối thuốc nhắm trúng đích đã được tạo ra, không chỉ cải thiện hiệu quả sử dụng thuốc, nâng cao kết quả điều trị mà còn mở ra nhiều triển vọng cho y học cá thể trong tương lai.

Cảm biến sinh học

Gần đây, việc phát hiện các đại phân tử như enzyme, kháng thể, protein hay nucleic acid dựa trên các vật liệu nano đang ngày càng được quan tâm do các đặc tính nổi bật của vật liệu. Các cảm biến đóng vai trò quan trọng trong các lĩnh vực như khả năng theo dõi cũng như phát hiện các chỉ thị sinh học liên quan đến các căn bệnh nhất định, hỗ trợ chẩn đoán hay ứng dụng trong các phương pháp xét nghiệm. Các vật liệu như vàng, carbon nanotube (CNTs), chấm lượng tử (QDs), polymers hay biosilica đã được ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực này⁶⁶⁻⁷⁰. Vật liệu silica được chú ý nhiều nhất do silica có những đặc điểm nổi bật (đã đề cập ở những phần trên): tính trơ, ổn định về mặt hóa học, đặc biệt là tính trong suốt giúp truyền tín hiệu quang học thuận lợi. Từ đó, silica cũng như các vật liệu thay thế (khung diatom) được ưu tiên trong các ứng dụng đối với cảm biến sinh học trong nhiều nghiên cứu nổi bật (Bảng 3).

Altunbas và cộng sự (2020)⁷¹ sử dụng hạt nano silica trung tính (Mesoporous silica nanoparticles/MSN) kết hợp terbium (Tb^{3+}) nhằm phát hiện độc tố ochratoxin A (OTA) từ những loài nấm mốc *Aspergillus* và *Penicillium* trong mẫu thực phẩm với độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Ochratoxin A (OTA) là một loại chất chuyển hóa ở nấm mốc gây nên các vấn đề về ngộ độc, ung thư. Với độ nhạy phát hiện ở mức 20 ppb và không ghi nhận tín hiệu khi có sự hiện diện của các độc tố phổ biến ở nấm mốc như aflatoxin B1, citrinin..., đây sẽ là chiến lược tiềm năng cho các ứng dụng kiểm định, phân tích an toàn về thực phẩm.

Belen và cộng sự (2021)⁷² đã phát hiện nhanh ngoại độc tố G của vi khuẩn *Staphylococcus* (SEG) thông qua việc sử dụng hạt nano silica có gắn kháng thể kháng SEG (AbSiNPs). Các kháng thể được cố định trên silica mang lại phản ứng miễn dịch cao hơn so với các kháng thể tự do. Mức độ phát hiện SEG của AbSiNPs có thể đạt được ở mức picomolar. Có thể nói, chiến lược này hỗ trợ đánh giá sự tồn tại của độc tố SEG trong mẫu với độ nhạy cao, tạo nên tiền đề mở rộng ứng dụng hạt nano silica trong thực tế.

Vizzini và cộng sự (2021)⁷³ đã sử dụng các hạt nano silica gắn biotin (biotin-Si-NP) nhằm cải thiện

Bảng 2: Các nghiên cứu nổi bật về ứng dụng hạt nano silica trong phân phối thuốc

Tác giả	Năm	Nội dung chính	Ứng dụng
Bariana và cộng sự	2013	Đánh giá khả năng mang và giải phóng của hai loại thuốc kháng sinh indomethacine và gentamicine sử dụng khung diatom được biến đổi bề mặt bằng organosilane và phosphonic acid	Phân phối thuốc kháng sinh ⁵⁵
Uthappa và cộng sự	2018	Ứng dụng của khung diatom sản xuất vật liệu lai DE-XER cho việc phân phối thuốc chống viêm diclofenac sodium (DS)	Phân phối thuốc kháng viêm ⁵⁷
Uthappa và cộng sự	2019	Đánh giá khả năng mang và giải phóng thuốc curcumin (CUR) của diatom trong điều trị ung thư	Phân phối thuốc điều trị ung thư ⁶²
Mancera-Andrade và cộng sự	2019	Sử dụng khung diatom silica sinh học (bSi) nhận từ tảo cát <i>Cyclotella sp.</i> phân phối thuốc kém tan Isorhamnetin	Phân phối thuốc kháng viêm ⁵⁸
Albayati và cộng sự	2019	Tổng hợp và biến đổi bề mặt các hạt silica SBA-15 để hiển thị các nhóm amine (-NH ₂) nhằm phân phối thuốc kháng sinh chloramphenicol	Phân phối thuốc kháng sinh ⁴⁸
Shah và cộng sự	2019	Đánh giá khả năng hấp thụ cũng như tính khả dụng của vật liệu MCM-41 và MCM-48 đối với thuốc raloxifene (RLF) <i>in vitro</i> lên tế bào ung thư Caco-2	Phân phối thuốc điều trị ung thư ⁴⁹
Sasirekha và cộng sự	2019	Ứng dụng tảo cát <i>Amphora subtropica</i> biến đổi bề mặt với chitosan (Chi) để phân phối thuốc doxorubicin (DOX) đến các tế bào ung thư phổi (A549)	Phân phối thuốc điều trị ung thư ⁶³
Delasoie và cộng sự	2020	Diatom để biến đổi hóa học với vitamin B12 liên kết thuốc kháng ung thư rhenium(I) tricarbonyl trong điều trị ung thư đại trực tràng (Colorectal Cancer/CRC)	Phân phối thuốc điều trị ung thư ⁶⁴
Popova và cộng sự	2020	Hạt silica MCM-41 (MM) hạt oxide sắt từ nhằm tạo nên hệ thống phân phối thuốc tamoxifen nhắm mục tiêu tế bào ung thư MCF-7	Phân phối thuốc điều trị ung thư ⁵⁰
Christoforidou và cộng sự	2021	Đánh giá khả năng tương tích sinh học, không gây độc tính với các thử nghiệm trên tế bào Caco-2 và khả năng mang, vận chuyển thuốc kém tan như aprepitant của các hạt nano silica MCM-41 và MCM-48	Phân phối thuốc điều trị ung thư ⁵¹
Ibrahim và cộng sự	2021	Phát triển vật liệu nanocomposite dựa trên diatomite và chitosan (CS/D) nhằm nâng cao khả năng phân phối thuốc ibuprofen (IB)	Phân phối thuốc kháng viêm ⁵⁹
Harun và cộng sự	2021	Sử dụng các hạt nano silica trung tính (Mesoporous silica nanoparticles/MSN) để phân phối thuốc ruthenium polypyridyl (Ru-PIP) trong điều trị ung thư	Phân phối thuốc điều trị ung thư ⁶⁰
Amin và cộng sự	2021	Sử dụng các hạt nano silica trung tính phủ lipid (MSN-Lip) để phân phối thuốc Doxorubicin (DOX) trong liệu pháp ung thư	Phân phối thuốc điều trị ung thư ⁶¹
Managò và cộng sự	2021	Ứng dụng hạt nano diatomite (DNP) gắn các hạt nano vàng (AuNPs) phủ lớp gelatin (Gel) để phân phối các phân tử Galunisertib (LY), tạo nên hệ thống phân phối DNP-AuNPs-LY@Gel trong điều trị ung thư đại trực tràng (Colorectal Cancer/CRC)	Phân phối thuốc điều trị ung thư ⁶⁵

phương pháp Dot-blot khi ứng dụng phát hiện vi khuẩn *Campylobacter* trong thực phẩm và đạt được độ nhạy cao. Cụ thể, mẫu dò được đánh dấu được cho lai với DNA của mẫu chứa *Campylobacter* cố định trên màng. Tín hiệu được quan sát khi bổ sung streptavidin gắn enzyme HRP (Horseradish peroxidase) cùng với hạt nano silica biotin-Si-NP và chất phản ứng luminol/H₂O₂. Biotin gắn với hạt nano silica phát ra tín hiệu cao gấp 30 lần so với biotin đơn lẻ. Trên cơ sở đó, chiến lược này mang lại khả năng phát hiện mẫu vi khuẩn ở nồng độ cực thấp, ở mức 3 pg μ L DNA. Bên cạnh đó, chiến lược dựa trên silica cải thiện về mặt chi phí, công sức, dễ tiếp cận POC (point-of-care) cũng như không cần thêm bước PCR. Nhìn chung, phương pháp Dot-blot kết hợp biotin-Si-NPs mang lại hiệu quả cao trong việc phát hiện vi khuẩn *Campylobacter* trong mẫu thịt gà ô nhiễm, từ đó mở ra triển vọng cho các xét nghiệm, chẩn đoán POC.

Villani và cộng sự (2019)⁷⁴ đã biến đổi bề mặt các hạt diatom bằng hạt nano vàng nhằm tạo nên thiết bị cảm biến và đạt được các kết quả tối ưu. Các hạt nano vàng được hấp phụ trên bề mặt của diatom cũng như được giữ lại bên trong các lỗ xốp. Thông qua các thiết bị phân tích, kết quả cho thấy khả năng phân tích mẫu vật, chất hóa học cũng như chất ô nhiễm với độ nhạy rất cao. Bên cạnh đó, độ nhạy cao của thiết bị cũng được củng cố trong thí nghiệm với chất phân tích albumin huyết thanh bò (BSA) – giới hạn phát hiện 10 aM và dầu khoáng – giới hạn phát hiện 50 ppm. Chiến lược cảm biến dựa trên diatom không chỉ có độ nhạy cao mà còn tiết kiệm chi phí, an toàn, và hiệu quả. Dựa vào cấu trúc và đặc điểm bật của diatom đã khiến vật liệu này trở nên tiềm năng trong việc phát triển các ứng dụng cảm biến, phân tích.

Qiao và cộng sự (2021)⁷⁵ đã dùng hệ thống dựa trên diatom để phát hiện bệnh aspergillosis xâm lấn (IA) ở người. Cụ thể, các hạt diatom được phủ với ZnO và tiếp sau đó là hợp chất 3-aminopropyl(diethoxy)methylsilan (APDMS) tạo nên hệ thống DE-ZnO-APDMS. Trong thí nghiệm với nấm *Aspergillus fumigatus* (nguyên nhân của IA) cho thấy tính vượt trội của hệ thống. Cùng với đó, độ nhạy của hệ thống đạt 100% so với bộ kit thông thường (50%) khi thử nghiệm ở 30 mẫu lâm sàng. Nhìn chung, việc xét nghiệm dựa trên DE-ZnO-APDMS là một chiến lược có giá trị cao trong chẩn đoán bệnh IA cũng như tiềm năng đối với các bệnh khác.

Dựa trên các đặc điểm vượt trội khác nhau, vật liệu silica đã đạt nhiều thành công trong ứng dụng của cảm biến sinh học. Từ đó, công nghệ cảm biến mở ra nền tảng mới cho sự phát triển của công nghệ sinh học -

một kỷ nguyên của cảm biến sinh học được mở ra, từ đó nhiều vấn đề được giải quyết, mang lại chất lượng cuộc sống ổn định cho mỗi cá nhân.

Ứng dụng khác

Bên cạnh các ứng dụng của hạt silica trong các hệ thống phân phối thuốc cũng như điều trị ung thư, và cảm biến sinh học, vật liệu silica còn được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như công nghiệp, môi trường và trong đó, ứng dụng của silica trong sản xuất vaccine đang được quan tâm. Silica có thể vừa đóng vai trò là vật liệu phân phối vaccine, vừa là tá dược⁷⁶. Trong những năm gần đây, silica cũng đã được FDA công nhận là an toàn cho các ứng dụng y sinh khác nhau^{7,77}. Không chỉ vậy, việc vaccine sử dụng hạt silica làm tăng khả năng đáp ứng miễn dịch của cơ thể. Wu và cộng sự (2021)⁷⁸ dùng các hạt nano silica phủ chitosan tạo nên vật liệu mô hình mang kháng nguyên tiềm năng trong phân phối vaccine đường uống. Cụ thể, albumin huyết thanh bò (BSA) được sử dụng như kháng nguyên cho hệ thống phân phối. Các kết quả ở chuột cho thấy phản ứng miễn dịch được diễn ra một cách mạnh mẽ. Bên cạnh đó, tính ổn định và khả năng giải phóng chậm kháng nguyên cũng được ghi nhận ở mô hình. Có thể nói, việc sử dụng hạt nano silica mang lại nhiều triển vọng trong ứng dụng phân phối vaccine.

Trong tình hình diễn biến phức tạp của dịch COVID-19, các nghiên cứu, đánh giá về việc sản xuất vaccine phòng COVID-19 dựa trên hạt nano silica là một trong các chiến lược tiềm năng. Năm 2021, Theobald⁷⁹ đã sử dụng hạt nano silica tạo nên chiến lược vaccine phòng COVID-19 phân phối RNA/DNA và được đánh giá cao. Bên cạnh đó, theo báo cáo của công ty Cổ phần Công nghệ Sinh học Dược NANOGEN, các hạt silica tạo ứng dụng tiềm năng trong việc sản xuất vaccine Covid-19⁸⁰. Cụ thể, protein gai S (spike protein) của virus SARS-CoV-2 được tổng hợp và gắn đuôi arginine tích điện dương đảm nhận vai trò bám dính lên bề mặt silica tích điện âm. Hạt silica đóng vai trò như tá dược và được đánh giá là hiệu quả cũng như đảm bảo về khả năng kích thích miễn dịch cao. Bên cạnh đó, các tác dụng phụ mà vaccine này gây ra thấp hơn đáng kể so với các loại vaccine trên thị trường trong khi vẫn đảm bảo về mức độ sinh miễn dịch cũng như khả năng trung hòa kháng nguyên. Mặc dù vậy, các nghiên cứu tiền lâm sàng và lâm sàng chưa đủ số liệu, dữ kiện để chứng minh hiệu quả của silica cũng như còn gặp phải một số vấn đề về đạo đức. Chính vì vậy, các đánh giá trong tương lai là cần thiết nhằm mang lại một chiến lược tiềm năng trong công cuộc sản xuất vaccine phòng Covid-19 nói riêng và các loại vaccine khác nói chung dựa trên hạt nano silica.

Bảng 3: Các nghiên cứu nổi bật về ứng dụng hạt nano silica trong cảm biến sinh học

Tác giả	Năm	Nội dung chính	Ứng dụng
Villani và cộng sự	2019	Bề mặt các hạt diatom được biến đổi bằng hạt nano vàng nhằm tạo nên thiết bị cảm biến trong phân tích mẫu vật, chất hóa học cũng như chất ô nhiễm	Phân tích mẫu sinh học, hóa học, chất ô nhiễm ⁷⁴
Altunbas và cộng sự	2020	Sử dụng hạt nano silica trung tính (Mesoporous silica nanoparticles/MSN) kết hợp terbium (Tb^{3+}) nhằm phát hiện độc tố Ochratoxin A (OTA) từ những loài nấm mốc <i>Aspergillus</i> và <i>Penicillium</i> trong mẫu thực phẩm	Phát hiện độc tố vi sinh vật trong thực phẩm ⁷¹
Belen và cộng sự	2021	Phát hiện nhanh ngoại độc tố G của vi khuẩn <i>Staphylococcus</i> (SEG) thông qua việc sử dụng hạt nano silica có gắn kháng thể kháng SEG (AbSiNPs)	Phát hiện độc tố vi sinh vật ⁷²
Vizzini và cộng sự	2021	Sử dụng các hạt nano silica gắn biotin (biotin-Si-NP) nhằm cải thiện phương pháp Dot-blot khi ứng dụng phát hiện vi khuẩn <i>Campylobacter</i> trong thực phẩm	Phát hiện vi sinh thực phẩm ⁷³
Qiao và cộng sự	2021	Các hạt diatom được phủ với ZnO và 3-aminopropyl(diethoxy)methylsilan (APDMS) tạo nên hệ thống DE-ZnO-APDMS để phát hiện bệnh aspergillosis xâm lấn (IA) ở người	Chẩn đoán bệnh do vi sinh vật ⁷⁵

KẾT LUẬN

Hạt nano silica là vật liệu mang nhiều đặc điểm nổi bật, là ứng cử viên tiềm năng trong các ứng dụng y sinh và công nghệ sinh học. Tuy nhiên, nhiều tranh cãi giữa các nhà nghiên cứu xảy ra về mức độ an toàn cũng như hạn chế về bằng chứng chứng minh ưu thế của silica so với vật liệu khác. Một số tác giả cho rằng silica gây độc đối với các tế bào, cụ thể như gan và thận⁸¹⁻⁸³. Sự tích tụ trong các cơ quan này lâu ngày dẫn đến khả năng hình thành các khối u cũng như ung thư. Các tác giả khác lại cho rằng thách thức mà silica đang gặp phải đối với tính tương hợp huyết và các tác động đến hoạt động của bộ thể^{84,85}. Mặt khác, các dữ liệu, bằng chứng về khả năng an toàn của silica cũng được đưa ra và các dữ liệu đó đang ngày càng được phát triển. Dưới góc nhìn của nhà khoa học, chúng tôi cho rằng silica là vật liệu tiềm năng. Như đã trình bày, silica có đầy đủ tất cả các đặc điểm mà các vật liệu nano thông thường không có, và dĩ nhiên, các cơ hội mà vật liệu này mang đến luôn đi kèm với rủi ro. Mặc dù vậy, các hạn chế của silica sẽ được khắc phục, các ưu điểm sẽ được phát triển nhằm tạo nên một vật liệu đa năng trong các ứng dụng của đời sống dựa trên sự tiến bộ của các lĩnh vực khoa học.

Nhìn chung, nhiều phương pháp khác nhau có thể được dùng để cố định định hướng protein lên bề mặt silica. Mỗi phương pháp đều có ưu, nhược điểm riêng và đều mang lại hiệu quả nhất định cho quá trình cố định. Dưới sự phát triển của công nghệ và kỹ thuật, các ứng dụng của việc cố định protein được áp dụng

rộng rãi trong các lĩnh vực của đời sống như cảm biến sinh học, điều trị các bệnh nguy hiểm như ung thư hay hệ thống phân phối thuốc nhắm mục tiêu. Các ứng dụng nhằm tạo tiền đề theo dõi, trị liệu các căn bệnh cho bệnh nhân, từ đó cải thiện chất lượng cuộc sống của mỗi cá nhân. Trong tương lai, cùng với sự phát triển của nền y học cá thể hóa, nhiều ứng dụng của quá trình cố định protein lên vật liệu silica nói riêng và vật liệu nói chung sẽ ngày càng tối ưu, hướng tới kỷ nguyên của chip sinh học.

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

- 16-PHA: 16-Phosphohexadecanoic acid
- 2-CEPA: 2-Carboxyethylphosphonic acid
- AF: Amphora frustules
- APDMS: 3-Aminopropyl (diethoxy) methylsilan
- APTES: 3-Aminopropyltriethoxysilane
- BP: Benzophenone
- BSA: Bovine serum albumin
- Chi: Chitosan
- CNTs: Carbon nanotubes
- COVID-19: Coronavirus disease – 2019
- CRC: Colorectal Cancer
- CUR: Curcumin
- DDS: Drug Delivery System
- DNA: Deoxyribonucleic acid
- DOX: Doxorubicine
- EDC: 1-Ethyl-3-[3-dimethylamonipropyl] carbodi-imide
- EGC: Epigallocatechin

EGCG: Epigallocatechin gallate
Fab: Fragment antigen binding
Fc: Fragment crystallizable
FDA: Food and Drug Administration
GRAS: Generally Recognized As Safe
HPLC: High Performance Liquid Chromatography
HRP: Horseradish peroxidase
IM: Imatinib Mesylate
IMAC: Immobilized metal affinity chromatography
MCF-7: Michigan Cancer Foundation-7
MCM-48/-41: Mobil Composition of Matter No. 48/-41
MM: Magnetic MCM-41
MSNs: Mesoporous Silica Nanoparticles
NHS: N-Hydroxysuccinimide
Ni-NTA: Nickel-nitrilotriacetic acid
OpdA: Organophosphohydrolase
OTA: Ochratoxin A
OTS: 7-Octadecyltrichlorosilane
PCR: Polymerase Chain Reaction
PDA: Polydopamine
POC: Point-of-care
PPL: Porcine pancreatic lipase
QDs: Quantum dots
RLF: Raloxifene
RNA: Ribonucleic acid
Ru-PIP: Ruthenium polypyridyl
SARS-CoV-2: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
SB: Sulfbetaine
SBA-15: Santa Barbara Amorphous-15
SEG: Staphylococcal enterotoxin G
SELEX: Sequential Evolution of Ligands by Exponential Enrichment
SPDP: Succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionate
TH: Thionine
UV: Ultraviolet

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả cam kết không có xung đột lợi ích.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Phạm Hoàng Tính viết, tổng hợp và chỉnh sửa bản thảo.

Lê Khánh Thiên tham gia viết, tổng hợp và chỉnh sửa bản thảo.

Trần Văn Hiếu lên ý tưởng, tham gia chỉnh sửa bản thảo và chấp thuận bản thảo.

Tất cả các tác giả đồng ý với bản thảo cuối cùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Li T, Shi S, Goel S, Shen X, Xie X, Chen Z. Recent advancements in mesoporous silica nanoparticles towards therapeutic applications for cancer. *Acta Biomaterialia*. 2019;89:1-13;PMID: 30797106. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.02.031>.
2. Li Z, Zhang Y, Feng N. Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, classification, drug loading, pharmacokinetics, biocompatibility, and application in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019;16(3):219-37;PMID: 30686075. Available from: <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1575806>.
3. Zare M, Ghomi ER, Venkatraman PD, Ramakrishna SJJAPS. Silicone-based biomaterials for biomedical applications: Antimicrobial strategies and 3D printing technologies. *Journal of Applied Polymer Science*. 2021;50969;Available from: <https://doi.org/10.1002/app.50969>.
4. Mokhtarzadeh A, Alibakhshi A, Yaghoobi H, Hashemi M, Hejazi M, Ramezani MJEoobt. Recent advances on biocompatible and biodegradable nanoparticles as gene carriers. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2016;16(6):771-85;PMID: 26998622. Available from: <https://doi.org/10.1517/14712598.2016.1169269>.
5. Sun XW, Zhang YX, Losic DJJoMCA. Diatom silica, an emerging biomaterial for energy conversion and storage. *Journal of Materials Chemistry A*. 2017;5(19):8847-59;Available from: <https://doi.org/10.1039/C7TA02045G>.
6. Delalat B, Sheppard VC, Ghaemi SR, Rao S, Prestidge CA, McPhee G. Targeted drug delivery using genetically engineered diatom biosilica. *Nature Communications*. 2015;6(1):1-11;PMID: 26556723. Available from: <https://doi.org/10.1038/ncomms9791>.
7. CFR - Code of Federal Regulations Title 21 [Internet]. [cited 2021 Sep 03];Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm>.
8. Wang X, Zhong X, Li J, Liu Z, Cheng LJCSR. Inorganic nanomaterials with rapid clearance for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*. 2021; 50(15), 8669-8742;PMID: 34156040. Available from: <https://doi.org/10.1039/D0CS00461H>.
9. McInnes SJ, Voelcker NHJFmc. Silicon-polymer hybrid materials for drug delivery. *Future Medicinal Chemistry*. 2009;1(6):1051-74;PMID: 21425994. Available from: <https://doi.org/10.4155/fmc.09.90>.
10. Electrostatic interactions [Internet]. [cited 2021 Sep 03];Available from: <https://www.chegg.com/learn/chemistry/inorganic-chemistry/electrostatic-interactions>.
11. Taniguchi K, Nomura K, Hata Y, Nishimura T, Asami Y, Kuroda AJB. The Si-tag for immobilizing proteins on a silica surface. *Biotechnology & Bioengineering*. 2007;96(6):1023-9;PMID: 17013933. Available from: <https://doi.org/10.1002/bit.21208>.
12. Ikeda T, Ninomiya K-i, Hirota R, Kuroda AJPe, purification. Single-step affinity purification of recombinant proteins using the silica-binding Si-tag as a fusion partner. *Protein Expression and Purification*. 2010;71(1):91-5;PMID: 20034569. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pep.2009.12.009>.
13. Yang L, Biswas M, Chen PBJ. Study of binding between protein A and immunoglobulin G using a surface tension probe. *Biophysical Journal*. 2003;84(1):509-22;Available from: [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(03\)74870-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(03)74870-X).
14. Fishman JB, Berg EAJCSHP. Protein A and protein G purification of antibodies. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2019;2019(1):pdb. prot099143;PMID: 30602558. Available from: <https://doi.org/10.1101/pdb.prot099143>.
15. Ikeda T, Hata Y, Ninomiya K-i, Ikura Y, Takeguchi K, Aoyagi S. Oriented immobilization of antibodies on a silicon wafer using Si-tagged protein A. *Analytical Biochemistry*. 2009;385(1):132-7;PMID: 19017523. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.11.001>.
16. Arrabito G, Reisewitz S, Dehmelt L, Bastiaens PI, Pignataro B, Schroeder H. Biochips for cell biology by combined Dip-Pen nanolithography and DNA-directed protein immobilization. *Small*. 2013;9(24):4243-9;PMID: 23881817. Available from: <https://doi.org/10.1002/smll.201300941>.

17. Niemeyer CMJTB. The developments of semisynthetic DNA-protein conjugates. *Trends in Biotechnology*. 2002;20(9):395-401; Available from: [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(02\)02022-X](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(02)02022-X).
18. Leidner A, Bauer J, Khonachah ME, Takamiya M, Strähle U, Dickmeis T. Oriented immobilization of a delicate glucose-sensing protein on silica nanoparticles. *Biomaterials*. 2019;190:76-85; PMID: 30399530. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.10.035>.
19. Liu Y, Yu JJMA. Oriented immobilization of proteins on solid supports for use in biosensors and biochips: a review. *Microchim Acta*. 2016;183(1):1-19; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00604-015-1623-4>.
20. Blind M, Blank MJMT-NA. Aptamer selection technology and recent advances. *Molecular Therapy Nucleic Acids*. 2015;4:e223; PMID: 28110747. Available from: <https://doi.org/10.1038/mtna.2014.74>.
21. Lakhin A, Tarantul V, Gening L JAN. Aptamers: problems, solutions and prospects. *Acta Naturae (англоязычная версия)*. 2013;5(4) (19); PMID: 24455181. Available from: <https://doi.org/10.32607/20758251-2013-5-4-34-43>.
22. Rusmini F, Zhong Z, Feijen JJB. Protein immobilization strategies for protein biochips. *Biomacromolecules*. 2007;8(6):1775-89; PMID: 17444679. Available from: <https://doi.org/10.1021/bm061197b>.
23. Zhou L, Li J, Gao J, Liu H, Xue S, Ma L. Facile oriented immobilization and purification of His-tagged organophosphohydrolase on viruslike mesoporous silica nanoparticles for organophosphate bioremediation. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2018;6(10):13588-98; Available from: <https://doi.org/10.1021/acsschemeng.8b04018>.
24. Biotinylate carboxyl groups with EDC and Biotin Hydrazide [Internet]. [cited 2021 Sep 03]; Available from: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/Application-Notes/TR0015-Biotinylate-carboxylates.pdf>.
25. Wen X, He H, Lee LJJJoim. Specific antibody immobilization with biotin-poly (l-lysine)-g-poly (ethylene glycol) and protein A on microfluidic chips. *Journal of immunological methods*. 2009;350(1-2):97-105; PMID: 19647744. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jim.2009.07.011>.
26. Ma L, Li J, Zhao J, Liao H, Xu L, Shi Z-gJA. Penetrable silica microspheres for immobilization of bovine serum albumin and their application to the study of the interaction between imatinib mesylate and protein by frontal affinity chromatography. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2016;408(3):805-14; PMID: 26573171. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9163-7>.
27. Song L, Zhao J, Luan S, Ma J, Liu J, Xu X, Fabrication of a detection platform with boronic-acid-containing zwitterionic polymer brush. *ACS applied materials & interfaces*. 2013;5(24):13207-15; PMID: 24299274. Available from: <https://doi.org/10.1021/am404206v>.
28. Wang X, Xia N, Liu LJJjoms. Boronic acid-based approach for separation and immobilization of glycoproteins and its application in sensing. *International journal of molecular sciences*. 2013;14(10):20890-912; PMID: 24141187. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms141020890>.
29. Chan L, Cross HF, She JK, Cavalli G, Martins HF, Neylon CJPo. Covalent attachment of proteins to solid supports and surfaces via Sortase-mediated ligation. *PLoS one*. 2007;2(11):e1164; PMID: 18000537. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001164>.
30. Antos JM, Truttmann MC, Ploegh HLJCoisb. Recent advances in sortase-catalyzed ligation methodology. *Current opinion in structural biology*. 2016;38:111-8; PMID: 27318815. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2016.05.021>.
31. Mohammadi M, As'habi MA, Salehi P, Yousefi M, Nazari M, Brask JJJjobm. Immobilization of laccase on epoxy-functionalized silica and its application in biodegradation of phenolic compounds. *International journal of biological macromolecules*. 2018;109:443-7; PMID: 29274421. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.102>.
32. Metreveli N, Namicheishvili L, Jariashvili K, Dgebuadze M, Chikvaide E, Sionkowska AJJoP. Identification of free radicals induced by UV irradiation in collagen water solutions. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: biology*. 2008;93(2):61-5; PMID: 18752968. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2008.06.003>.
33. Ericsson E. *Biosensor surface chemistry for oriented protein immobilization and biochip patterning*; Linköping University Electronic Press; 2013;.
34. Bilek MM, Bax DV, Kondyurin A, Yin Y, Nosworthy NJ, Fisher K. Free radical functionalization of surfaces to prevent adverse responses to biomedical devices. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(35):14405-10; PMID: 21844370. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1103277108>.
35. Geibel C, Dittrich K, Wolter M, Lämmerhofer M. Thiolene photo-click immobilization of a chiral chromatographic ligand on silica particles. *Journal of Chromatography A*. 2020;1622:461133; PMID: 32354557. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461133>.
36. Hänisch J, Hinrichs K, Rappich J. Surface Functionalization toward Biosensing via Free-Standing Si-OH Bonds on Nonoxidized Silicon Surfaces. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2019;11(34):31434-40; PMID: 31180638. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsmi.9b03583>.
37. Hortigüela MJ, Wall JGJMd. Improved detection of domoic acid using covalently immobilised antibody fragments. *Marine drugs*. 2013;11(3):881-95; PMID: 23493076. Available from: <https://doi.org/10.3390/md11030881>.
38. Jozghorbani M, Fathi M, Kazemi SH, Alinejadian N. Determination of carcinoembryonic antigen as a tumor marker using a novel graphene-based label-free electrochemical immunosensor. *Analytical Biochemistry*. 2021;613:114017; PMID: 33212021. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.114017>.
39. Zhu Y-T, Ren X-Y, Liu Y-M, Wei Y, Qing L-S, Liao XJMS. Covalent immobilization of porcine pancreatic lipase on carboxyl-activated magnetic nanoparticles: characterization and application for enzymatic inhibition assays. *Materials Science and Engineering: C*. 2014;38:278-85; PMID: 24656379. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.02.011>.
40. Lummerstorfer T, Hoffmann HJTJoPCB. Click chemistry on surfaces: 1, 3-dipolar cycloaddition reactions of azide-terminated monolayers on silica. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2004;108(13):3963-6; Available from: <https://doi.org/10.1021/jp049601t>.
41. Hein CD, Liu X-M, Wang DJPr. Click chemistry, a powerful tool for pharmaceutical sciences. *Pharmaceutical research*. 2008;25(10):2216-30; PMID: 18509602. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9616-1>.
42. Nwe K, Brechbiel MW. Growing applications of "click chemistry" for bioconjugation in contemporary biomedical research. *Cancer Biother Radiopharm*. 2009;24(3):289-302; PMID: 19538051. Available from: <https://doi.org/10.1089/cbr.2008.0626>.
43. Aw MS, Bariana M, Yu Y, Addai-Mensah J, Losic D. Surface-functionalized diatom microcapsules for drug delivery of water-insoluble drugs. *J Biomater Appl*. 2013;28(2):163-74; PMID: 22457043. Available from: <https://doi.org/10.1177/0885328212441846>.
44. Savjani KT, Gajjar AK, Savjani JK. Drug solubility: importance and enhancement techniques. *ISRN Pharm*. 2012;2012:195727; PMID: 22830056. Available from: <https://doi.org/10.5402/2012/195727>.
45. Uthappa UT, Brahmkhatri V, Sriram G, Jung HY, Yu J, Kurkuri N, et al. Nature engineered diatom biosilica as drug delivery systems. *J Control Release*. 2018;281:70-83; PMID: 29772290. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.05.013>.
46. Hudson SP, Padera RF, Langer R, Kohane DS. The biocompatibility of mesoporous silicates. *Biomaterials*. 2008;29(30):4045-55; PMID: 18675454. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.06.003>.

- biomaterials.2008.07.007.
47. Narayan R, Nayak UY, Raichur AM, Garg S. Mesoporous Silica Nanoparticles: A Comprehensive Review on Synthesis and Recent Advances. *Pharmaceutics*. 2018;10(3);PMID: 30082647. Available from: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030118>.
 48. Albayati TM, Salih IK, Alazzawi HF. Synthesis and characterization of a modified surface of SBA-15 mesoporous silica for a chloramphenicol drug delivery system. *Heliyon*. 2019;5(10):e02539;PMID: 31667391. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02539>.
 49. Shah P, Rajput SJ. Investigation of in vitro permeability and in vivo pharmacokinetic behavior of bare and functionalized MCM-41 and MCM-48 mesoporous silica nanoparticles: a burst and controlled drug release system for raloxifene. *Drug Dev Ind Pharm*. 2019;45(4):587-602;PMID: 30633575. Available from: <https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1569028>.
 50. Popova M, Koseva N, Trendaflova I, Lazarova H, Mitova V, Mihaly J. Tamoxifen Delivery System Based on PEGylated Magnetic MCM-41 Silica. *Molecules*. 2020;25(21);PMID: 33158297. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules25215129>.
 51. Christoforidou T, Giasafaki D, Andriotis EG, Bouropoulos N, Theodoroula NF, Vizirianakis IS Oral drug delivery systems based on ordered mesoporous silica nanoparticles for modulating the release of aprepitant. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(4):1896;PMID: 33672949. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22041896>.
 52. Diatom cell [Internet]. [cited 2021 Sep 27]; Available from: https://www.flickr.com/photos/fei_company/4792938777.
 53. Diatom [Internet]. [cited 2021 Sep 03]; Available from: <https://www.pinterest.com/najalmas/diatom/>.
 54. Diatoms [Internet]. [cited 2021 Sep 27]; Available from: <https://www.sciencephoto.com/media/15929/view>.
 55. Bariana M, Aw MS, Kurkuri M, Losic D. Tuning drug loading and release properties of diatom silica microparticles by surface modifications. *Int J Pharm*. 2013;443(1-2):230-41;PMID: 23287775. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.12.012>.
 56. Khavari F, Saidijam M, Taheri M, Nouri F. Microalgae: therapeutic potentials and applications. *Mol Biol Rep*. 2021;48(5):4757-4765;PMID: 34028654. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06422-w>.
 57. Uthappa U, Sriram G, Brahmakhatri V, Kigga M, Jung H-Y, Altalhi T. Xerogel modified diatomaceous earth microparticles for controlled drug release studies. *New Journal of Chemistry*. 2018;42(14):11964-71; Available from: <https://doi.org/10.1039/C8NJ01238E>.
 58. Mancera-Andrade EI, Parsaeimehr A, Ruiz-Ruiz F, Rorrer GL, González-Valdez J, Iqbal HM, Isorhamnetin encapsulation into biogenic silica from *Cyclotella* sp. using a microfluidic device for drug delivery applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019;19:101175; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101175>.
 59. Ibrahim SM, Bin Jumah MN, Othman SI, Alruhaimi RS, Al-Khalawi N, Salama YF. Synthesis of Chitosan/Diatomite composite as an advanced delivery system for ibuprofen drug; Equilibrium Studies and the Release Profile. 2021; 6 (20), 13406-13416;PMID: 34056488. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c01514>.
 60. Harun SN, Ahmad H, Lim HN, Chia SL, Gill MR. Synthesis and optimization of mesoporous silica nanoparticles for Ruthenium polypyridyl drug delivery. *Pharmaceutics*. 2021;13(2):150;PMID: 33498795. Available from: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020150>.
 61. Amin MU, Ali S, Ali MY, Tariq I, Nasrullah U, Pinnapreddy SR, Enhanced efficacy and drug delivery with lipid coated mesoporous silica nanoparticles in cancer therapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2021;165:31-40;PMID: 33962002. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.04.020>.
 62. Uthappa UT, Kigga M, Sriram G, Ajeya KV, Jung H-Y, Neelgund GM, Facile green synthetic approach of bio inspired polydopamine coated diatoms as a drug vehicle for controlled drug release and active catalyst for dye degradation. *Micro-porous and Mesoporous Materials*. 2019;288; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2019.109572>.
 63. Sasirekha R, Sheena TS, Sathiya Deepika M, Santhanam P, Townley HE, Jeganathan K, et al. Surface engineered Amphora subtropicala frustules using chitosan as a drug delivery platform for anticancer therapy. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019;94:56-64;PMID: 30423741. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.09.009>.
 64. Delasoie J, Schiel P, Vojnovic S, Nikodinovic-Runic J, Zobi F. Photoactivatable surface-functionalized diatom microalgae for colorectal cancer targeted delivery and enhanced cytotoxicity of anticancer complexes. *Pharmaceutics*. 2020;12(5);PMID: 32466116. Available from: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12050480>.
 65. Managò S, Tramontano C, Delle Cave D, Chianese G, Zito G, De Stefano L, SERS Quantification of galunisertib delivery in colorectal cancer cells by plasmonic-Assisted Diatomite Nanoparticles. 2021;2101711;PMID: 34302422. Available from: <https://doi.org/10.1002/sml.202101711>.
 66. Gan H, Han W, Fu Z, Wang L. The chain-like Au/carbon dots nanocomposites with peroxidase-like activity and their application for glucose detection. *Colloids and Surfaces B, Biointerfaces*. 2021;199:111553;PMID: 33418208. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111553>.
 67. Ahlawat J, Masoudi Asil S, Guillama Barroso G, Nurunnabi M, Narayan M. Application of carbon nano onions in the biomedical field: recent advances and challenges. *Biomaterials Science*. 2021;9(3):626-44;PMID: 33241797. Available from: <https://doi.org/10.1039/D0BM01476A>.
 68. Kumari A, Sharma A, Sharma R, Malairaman U, Raj Singh R. Biocompatible and fluorescent water based NIR emitting CdTe quantum dot probes for biomedical applications. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2021;248:119206;PMID: 33272844. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.119206>.
 69. Ding A, Lee SJ, Ayyagari S, Tang R, Huynh CT, Alsberg E. 4D bio-fabrication via instantly generated graded hydrogel scaffolds. *Bioactive Materials*. 2022;7:324-32;PMID: 34466735. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.05.021>.
 70. Rabiee N, Khatami M, Jamalipour Soufi G, Fatahi Y, Irvani S, Varma RS. Diatoms with Invaluable Applications in Nanotechnology, Biotechnology, and Biomedicine: Recent Advances. *ACS biomaterials science & engineering*. 2021;7(7):3053-68;PMID: 34152742. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.1c00475>.
 71. Altunbas O, Ozdas A, Yilmaz MDJ. Luminescent detection of Ochratoxin A using terbium chelated mesoporous silica nanoparticles. *Journal of hazardous materials*. 2020;382:121049;PMID: 31470297. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121049>.
 72. Belen SM, Sofia NT, Romina M, Belén AM, Santiago C, Julieta FLM, Optimized surface plasmon resonance immunoassay for staphylococcal enterotoxin G detection using silica nanoparticles. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2021;558:168-74;PMID: 33932776. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.04.077>.
 73. Vizzini P, Manzano M, Farre C, Meylheuc T, Chaix C, Ramarao N, et al. Highly sensitive detection of *Campylobacter* spp. in chicken meat using a silica nanoparticle enhanced dot blot DNA Biosensor. 2021;171:112689;PMID: 33080463. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112689>.
 74. Villani M, Onesto V, Coluccio M, Valpapuram I, Majewska R, Alabastri A, Transforming diatomaceous earth into sensing devices by surface modification with gold nanoparticles. *Micro and Nano Engineering*. 2019;2:29-34; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mne.2018.11.006>.
 75. Qiao Z, Seo H, Liu H, Cha H-H, Kim JY, Kim S-H, et al. Simple and sensitive diagnosis of invasive aspergillosis using triphasic DE– ZnO– APDMS microparticle composite. *Sensors and*

- Actuators B: Chemical. 2021:130487; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130487>.
76. Navarro-Tovar G, Palestino G, Rosales-Mendoza S. An overview on the role of silica-based materials in vaccine development. *Expert Review of Vaccines*. 2016;15(11):1449-62; PMID: 27160927. Available from: <https://doi.org/10.1080/14760584.2016.1188009>.
 77. Could novel silica nanoparticles answer the COVID-19 vaccine delivery dilemma? [Internet]. [cited 2021 Sep 03]; Available from: https://manufacturingchemist.com/news/article_page/Could_novel_silica_nanoparticles_answer_the_COVID-19_vaccine_delivery_dilemma/173797.
 78. Wu X, Farooq MA, Li T, Geng T, Kutoka PT, Wang B. Cationic chitosan-modified silica nanoparticles for oral delivery of protein vaccine. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2021; 109(11):2111-2119; PMID: 33871158. Available from: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37198>.
 79. Theobald N. Emerging vaccine delivery systems for COVID-19: Functionalised silica nanoparticles offer a potentially safe and effective alternative delivery system for DNA/RNA vaccines and may be useful in the hunt for a COVID-19 vaccine. *Drug Discovery Today*. 2020;25(9):1556-8; PMID: 32592866. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.06.020>.
 80. NANOCOVAX [Internet]. [cited 2021 Sep 03]; Available from: <https://nanogenpharma.com/products/nanocovax-141.html>.
 81. Azouz RA, Korany RMS. Toxic Impacts of Amorphous Silica Nanoparticles on Liver and Kidney of Male Adult Rats: an In Vivo Study. *Biological Trace Element Research*. 2021;199(7):2653-62; PMID: 32964349. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02386-3>.
 82. Vilas-Boas V, Vinken M. Hepatotoxicity induced by nanomaterials: mechanisms and in vitro models. *Archives of Toxicology*. 2021;95(1):27-52; PMID: 33155068. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02940-x>.
 83. Sun M, Zhang J, Liang S, Du Z, Liu J, Sun Z. Metabolomic characteristics of hepatotoxicity in rats induced by silica nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021;208:111496; PMID: 33099137. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111496>.
 84. Ding T, Sun J. Mechanistic Understanding of Cell Recognition and Immune Reaction via CR1/CR3 by HAP- and SiO₂-NPs. *BioMed Research International*. 2020;2020:7474807; PMID: 32382571. Available from: <https://doi.org/10.1155/2020/7474807>.
 85. Durgadas CV, Sreenivasan K, Sharma CP. Bright blue emitting CuSe/ZnS/silica core/shell/shell quantum dots and their biocompatibility. *Biomaterials*. 2012;33(27):6420-9; PMID: 22704598. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.05.051>.

Protein immobilization on the surface of silica nanoparticles: Applications and prospects in biomedicine

Hoang-Tinh Pham, Khanh-Thien Le, Hieu Tran-Van*



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

Silica nanoparticles, known as a basic material, have been widely used in biomedical applications due to their beneficial characteristics such as inertness, biocompatibility, large surface area, and clearance. The immobilization of proteins on the surface of silica-based biomaterials plays a crucial role in the development of biosensors in particular and modern biotechnological applications in general including detection, diagnosis, and creation of optimal drug delivery systems for therapies, especially cancer treatment, and more recently for Covid-19 vaccine delivery. Among various strategies of protein immobilization, oriented immobilization could efficiently guarantee the interaction affinity and binding sites of proteins onto targeted molecules thus the biological activity and function of the immobilized protein would be preserved. In this review, various protein immobilization methods to construct protein-functionalized silica-based biomaterials and their featured applications were collectively summarized. Generally, this review provided an insight into bio-functionalization of silica-based biomaterials for advanced biotechnological and biomedical applications.

Key words: biomaterials, cancer, oriented protein immobilization, silica, vaccine

Department of Molecular and Environmental Biotechnology;
Laboratory of Biosensors, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, Vietnam

Correspondence

Hieu Tran-Van, Department of Molecular and Environmental Biotechnology;
Laboratory of Biosensors, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, Vietnam
Email: tvhieu@hcmus.edu.vn

History

- Received: 16-7-2021
- Accepted: 03-12-2021
- Published: 01-2-2021

DOI : 10.32508/stdjns.v6i1.1103



Copyright

© VNUHCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Pham H, Le K, Tran-Van H. **Protein immobilization on the surface of silica nanoparticles: Applications and prospects in biomedicine.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 6(1):1775-1800.