



Original Article

Carbon Nanotubes: A Promising Nanocarrier for Gene Transfer to Plant Cells

Sara Abedini¹, Shahram Pourseyedi^{2*}, Jafar Zolala², Roohollah Abdolshahi³

1. PhD Graduated, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

2. Associate Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

3. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history

Submitted: 2025-1-4

Revised: 2025-2-14

Accepted: 2025-3-30

KEYWORDS

Plant genetic engineering, Nanocarrier, Plant breeding, Carbon nanotubes

Classical methods of plant genetic transformation have achieved remarkable success, but they still face bottlenecks in developing plants with desirable genotypes. In the process of gene transfer to plants, biomolecules must pass through the tough, multi-layered plant cell wall to reach the plant cell nucleus. Nanotechnology has been widely used in medicine and life sciences, and various nanomaterials, such as single walled carbon nanotubes (CNTs), have been used as non-viral carriers for the targeted transfer of biomolecules. In this study, after preparing a nanocarrier with a high capacity to load pDNA on its surface, it was demonstrated that CNTs can cross the plant cell wall and successfully deliver pDNA into the plant cell. This method can be considered as a relatively simple method, independent of the plant species and without the need for specialized laboratory equipment for gene transfer to walled plant cells. Therefore, nanobiotechnology and nanomaterials can be regarded as a promising avenue for improving and enhancing the efficiency of conventional methods of gene transfer to plant cells.

* Corresponding author: *Shahram Pourseyedi*

✉ E-mail: *spseyedi@uk.ac.ir*





مقاله پژوهشی

نانولوله‌های کربنی: یک نانو ناقل امیدوار کننده برای انتقال ژن به

سلول‌های گیاهی

سارا عابدینی^۱، شهرام پورسیدی^۲✉، جعفر ذوالعلی^۳، روح الله عبدالشاهی^۳

۱ دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲ دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۳ دانشیار، اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

چکیده: روش‌های کلاسیک مهندسی ژنتیک گیاهی برای دستیابی به گیاهانی با ژنوتیپ‌های مطلوب و مورد توجه ضمن موفقیت‌های چشم‌گیر با محدودیت‌هایی روبه‌رو هستند. در فرآیند انتقال ژن به گیاهان، مولکول‌های زیستی باید با عبور از دیواره سلولی سخت و چند لایه گیاه به هسته سلول گیاهی انتقال داده شوند. در پزشکی و علوم زیستی نانوتکنولوژی به طور گسترده‌ای به کار گرفته شده است و از نانومواد مختلف مانند نانولوله‌های کربنی تک دیواره (Single Walled Carbon Nanotubes, CNTs) به عنوان ناقل غیر وپروسی برای انتقال ملکول‌های زیستی جهت انتقال هدفمند استفاده شده است. در این مطالعه، پس از تهیه نانوحامل با ظرفیت بالا برای بارگیری pDNA بر سطح آن نشان داده شد که CNTs قادر به عبور از دیواره سلولی و انتقال موفق pDNA به درون سلول گیاهی هستند. این روش را می‌توان به عنوان یک روش نسبتاً ساده، مستقل از گونه گیاهی و بدون نیاز به تجهیزات خاص آزمایشگاهی برای انتقال ژن به سلول‌های گیاهی دیواره‌دار در نظر گرفت. بنابراین نانوبیوتکنولوژی و نانومواد می‌توانند روزه امیددی برای بهبود و افزایش کارایی روش‌های مرسوم انتقال ژن به سلول‌های گیاهی باشند.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۳-۱۱-۲

بازنگری: ۱۴۰۳-۱۱-۲۵

پذیرش: ۱۴۰۴-۱-۱۶

واژگان کلیدی:

مهندسی ژنتیک گیاهی، نانوحامل، بن‌نژادی گیاهان و نانولوله‌های کربنی.

*نویسنده مسئول: شهرام پورسیدی

E-mail: spseyedi@uk.ac.ir

Journal homepage: jmpb.znu.ac.ir



مقدمه

محدودیت‌های مختلفی هستند، از جمله اینکه پرزحمت و زمان‌بر هستند و فقط برای تعداد محدودی از گونه‌های گیاهی و گیاهان مدل قابل استفاده هستند، سمیت بالا و کارایی پایین دارند (Darbani et al., 2008). بنابراین در این زمینه توسعه روشی کارآمد، ساده، ارزان با راندمان مطلوب و مستقل از بافت، اندام و گونه گیاهی ضروری به نظر می‌رسد (Demirer et al., 2019). اخیراً با توجه به ماهیت نانومواد در انتقال ژن به سلول‌ها، در حوزه انتقال ژن و دارو مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند (Sarvarian et al., 2021).

وجود دیواره سلولی در سلول‌های گیاهی مانعی در برابر انتقال مولکول‌های زیستی مانند DNA به سلول گیاهی است. نانوذرات به دلیل توانایی عبور از دیواره سلولی بدون هیچ نیروی خارجی برای انتقال ملکول‌های زیستی و بدون محدودیت در گونه گیاهی، روزه امیدوی برای انتقال ژن به سلول‌های گیاهی هستند (Chen et al., 2021). سمیت نسبتاً کم با توانایی نفوذ به غشاهای زیستی باعث شد که نانولوله‌های

امروزه جهان با چالش‌هایی مانند افزایش جمعیت و افزایش تقاضای غذا و انرژی، تغییرات آب و هوایی، بیماری‌هایی مانند سرطان و غیره مواجه است (Vos & Bellù, 2019). به‌نژادی گیاهان با روش‌های مرسوم و به‌نژادی به واسطه جهش اگرچه با موفقیت‌های چشمگیری همراه بوده است. با این وجود، به‌نژادی مرسوم زمان‌بر است و ایجاد صفات جدیدی که در یک گونه وجود ندارد امکان‌پذیر نیست (Bhargava & Srivastava, 2019). اگرچه مهندسی ژنتیک نمی‌تواند به عنوان جایگزینی برای روش‌های به‌نژادی گیاهان باشد. اما کاربرد تکمیلی تکنیک‌های مهندسی ژنتیک و روش‌های مرسوم به‌نژادی گیاهان می‌تواند به طور قابل توجهی کارایی به‌نژادی گیاهان و بهره‌وری کشاورزی را افزایش دهد (Adlak et al., 2019). تکنیک‌های انتقال ژن به سه گروه شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی تقسیم می‌شوند (Cunningham et al., 2018). روش‌های مرسوم انتقال ژن به سلول‌های گیاهی دارای

(۲۰۱۹) در دانشگاه کالیفرنیا نیز با گزارش انتقال موفق DNA به واسطه نانوحامل مبتنی بر CNTs را به سلول‌های گیاهی بیان داشتند CNTs با قطر حداکثر تا ۲۰ نانومتر یا با داشتن حداقل یک بعد در مقیاس نانو می‌توانند به راحتی از موانع دیواره سلولی گیاه عبور کنند و CNTs می‌توانند به یک ابزار برای مهندسی ژنتیک گیاهی تبدیل شوند (Demirer et al., 2019).

گیاهان دارویی از زمان‌های گذشته در درمان بیماری‌ها در سراسر جهان نقش مهمی داشته‌اند و منبع غنی از متابولیت‌های ثانویه ارزشمند هستند که در پیشگیری و درمان بیماری‌ها کاربرد وسیعی دارند و به عنوان منبع اولیه در صنعت داروسازی نقش دارند (Rafieian-Kopaei, 2012). کشت بافت و مهندسی ژنتیک دو رویکرد عمده در زمینه بهبود و به‌نژادی گیاهان از طریق بیوتکنولوژی هستند (Herdt, 2006). قرنفل با نام علمی *Dianthus barbatus* و نام انگلیسی sweet william از خانواده میخکیان (Caryophyllaceae)

کربنی به عنوان ابزاری مناسب برای انتقال مواد ژنتیکی به سلول‌های حیوانی برای درمان سرطان و مهندسی بافت شناخته شدند (Demirer et al., 2019). اولین بار لیو و همکاران (۲۰۰۹) از CNTs برای انتقال ژن به گیاهان استفاده کردند. آنها جذب سلولی نانولوله‌های کربنی تک دیواره به سلول‌های تنباکو را بدون کمک هیچ نیروی خارجی مثل تفنگ ژنی را نشان دادند (Liu et al., 2009). بعد، گیرآلدو و همکاران (۲۰۱۴) توانایی نفوذ DNA تک رشته‌ای بارگیری شده بر روی نانولوله‌های کربنی تک دیواره به برگ آرابیدوبسیس را بررسی کردند. آنها نانوحامل SWCNT-ssDNA را به سطح زیرین برگ توسط سرنگ تزریق کردند و یافتند که CNTs قادر هستند بدون کمک هیچ نیروی خارجی مثل تفنگ ژنی به سلول‌های گیاهی وارد شوند. آنها نفوذ موفقیت آمیز CNTs از دیواره سلولی، غشا سلولی و غشا کلروپلاست و همچنین عدم تاثیر CNTs بر طول عمر برگ و محتوی کلروفیل II را نشان دادند (Giraldo et al., 2014). دمایرر و همکارانش

Zaboli et al.,) ساعت خشک شد (, 2021).

تجزیه و تحلیل‌های طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (Field Emission Scanning Electron Microscopy, FTIR) و پتانسیل زتا نیز به منظور تأیید اضافه شدن گروه‌های کربوکسیل (COOH) بر سطح SWCNTs انجام شد.

در مرحله بعد SWCNTs حاوی گروه‌های کربوکسیل توسط حمام التراسونیک به خوبی پراکنده شدند و سپس پلی اتیلن ایمین (Polyethyleneimine) ۰/۱ درصد به صورت قطره قطره به سوسپانسیون حاوی SWCNTs-COOH اضافه شد. محلول حاصل پنج بار با آب دیونیزه شسته شد (Demirer et al., 2019). تجزیه و تحلیل‌های FTIR و پتانسیل زتا انجام شدند.

ساخت نانوحامل

پلاسمید بیانی pBI121 حامل ژن mgfp5-ER به محلول PEI-SWCNTs اضافه شد. بلافاصله، تأیید بارگذاری pDNA بر سطح PEI-SWCNTs با بررسی نتایج الکتروفورز

گیاهی زینتی با خواص دارویی است. این گیاه دارای اثراتی مانند خواص ضد التهابی، ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی، بهبود دهنده فعالیت‌های فیزیکی، ضد ویروسی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد حشره‌کش است (Mohammadi et al., 2020). با توجه به موارد ذکر شده هدف از این مطالعه عملکرد کردن نانولوله‌های کربنی تک دیواره (Single Walled Carbon Nanotubes, SWCNTs) ساخت نانوحامل و بررسی امکان انتقال پلاسمید ژن گزارشگر گیاهی mgfp5-ER به گیاه قرنفل می‌باشد.

مواد و روش

عملکرد کردن نانولوله‌های کربنی

۱۰۰ میلی‌گرم از نانولوله‌های کربنی تک و چند دیواره (شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان، مشهد، ایران) با ۵۰ میلی‌لیتر از اسید سولفوریک و اسید نیتریک غلیظ (۳:۱) مخلوط شدند و به مدت ۶ ساعت در دمای اتاق عمل سونیکیت انجام شد. سپس SWCNTs-COOH چندین بار شسته شد تا به PH خنثی برسد و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴

ژل آگارز ۱٪ انجام شد.

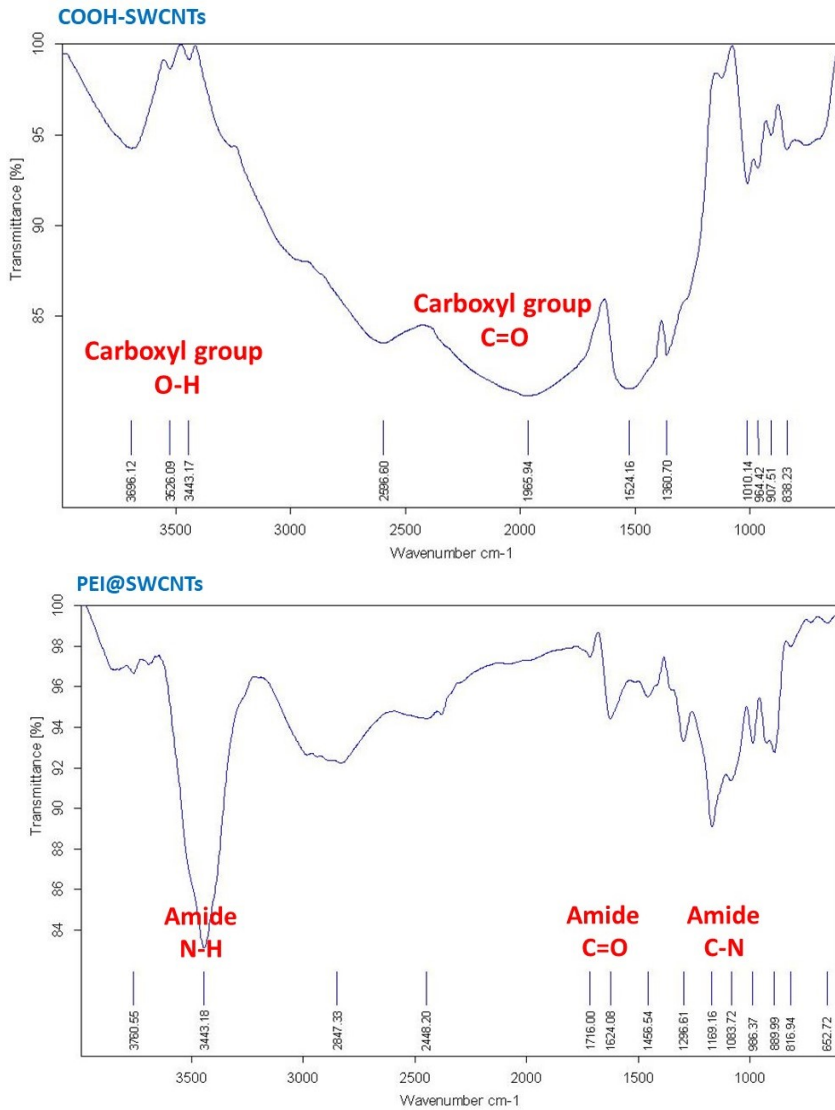
گرفتند.

انتقال ژن توسط نانوحامل به گیاه

برگ‌های سالم گیاه قرنفل رشد یافته در گلدان انتخاب شدند. برگ‌های آماده شده در سوسپانسیون حاوی نانوحامل قرار داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دسیکاتور تحت خلاء قرار گرفتند. برگ‌های تیمار شده بر روی محیط کشت پایه MS در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از ۷۲ ساعت، به منظور ردیابی سیگنال فلورسنت پروتئین GFP، ریزنمونه‌های تیمار شده در معرض نور فرابنفش با طول موج ۳۶۵ نانومتر قرار

نتایج و بحث

نتایج FTIR واکنش کربوکسیلاسیون نانولوله‌های کربنی به روش اولتراسونیک در محیط اسیدی نشان دهنده حضور باند در محدوده cm^{-1} ۱۹۰۰-۱۶۰۰ و cm^{-1} ۳۲۰۰-۳۷۰۰ مرتبط با کشش پیوندهای C=O و C-O در نتایج طیف FTIR (شکل ۱A) (Rizwana et al., 2022) و مقدار پتانسیل زتا منفی برابر mV ۲۹/۶- برای COOH-SWCNTs هر دو تأیید کننده حضور گروه‌های کربوکسیل بر سزح SWCNTs می‌باشند.



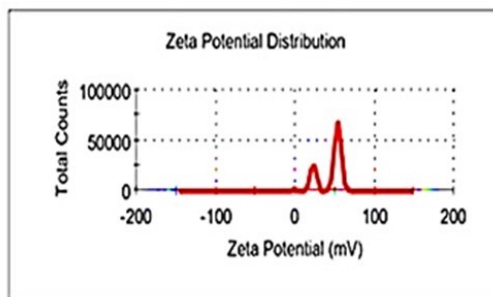
شکل ۱. نتایج طیف FTIR نانولوله‌های کربنی تک دیواره پس از عاملدار شدن (COOH-SWCNTs) و پس از اتصال PEI بر سطح نانولوله‌های کربنی تک دیواره عاملدار شده (PEI@SWCNT)

N-H است (شکل ۱B). همچنین پیک حول وحوش cm^{-1} ۳۴۰۰۱ برای PEI@SWCNT به دلیل حضور پیوند N-H در آمید اولیه است (شکل ۱A) (Ke et al., 2019).

نتایج نشان دهنده تغییر پتانسیل زتا منفی اولیه COOH-SWCNT (-29.6 mV) به پتانسیل زتا مثبت (44.5 mV) برای PEI@SWCNT و در نتایج FTIR حضور پیک شارپ در $10837/72 \text{ cm}^{-1}$ و $1624/81 \text{ cm}^{-1}$ متعلق به کشش پیوند C=O

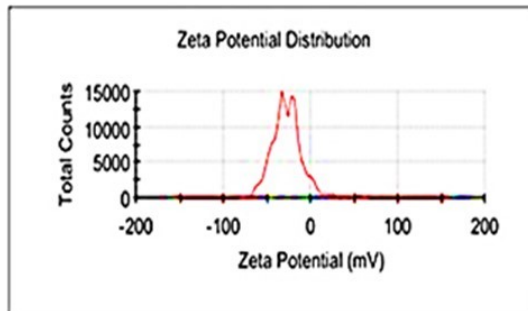
PEI@SWCNTs

Result quality : **Good**
 Zeta Potential (mV): **44.5**
 Zeta SD (mV): 14.8
 Mobility ($\mu\text{cm/Vs}$): **3.490**
 Mobility SD ($\mu\text{cm/Vs}$): 1.159
 Wall Zeta Potential (mV): 18.1
 Effective Voltage (V): 131
 Conductivity (mS/cm): 0.0750



COOH-SWCNTs

Result quality **Good**
 Zeta Potential (mV): **-29.6**
 Zeta SD (mV): 31.2
 Mobility ($\mu\text{cm/Vs}$): **-2.317**
 Mobility SD ($\mu\text{cm/Vs}$): 2.443
 Wall Zeta Potential (mV): -12.2
 Effective Voltage (V): 149
 Conductivity (mS/cm): 0.0698



شکل ۲. نتایج توزیع پتانسیل زتا نانوله‌های کربنی تک دیواره پس از عامل‌دار شدن (COOH-SWCNTs) و پس از اتصال PEI بر سطح نانوله‌های کربنی تک دیواره عامل‌دار شده (PEI@SWCNT)

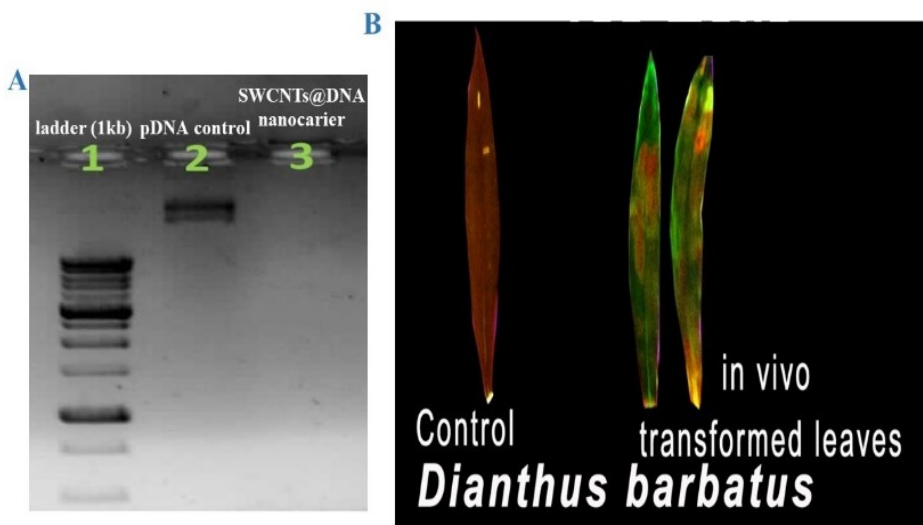
بنابراین نتایج به دست آمده تأیید کننده عامل‌دار کردن SWCNTs توسط PEI شاخه‌دار به عنوان یک پلیمر کاتیونی محبوب با پایداری بالا که قادر به ایجاد پیوندهای قوی الکتروستاتیک با اسیدهای نوکلئیک است انجام شد (Sosa-Acosta et al., 2020). بار سطحی نانوذرات بر جذب سلولی نانوحامل و کارایی ورود نانوحامل به درون سلول و انتقال ژن موثر می‌باشد (Zhang et al., 2020). در در نتایج ژل آگارز برای pDNA بارگیری شده بر سطح نانوذره در تمام نسبت‌های مختلف

نتایج توزیع پتانسیل زتا نانوله‌های کربنی تک دیواره پس از عامل‌دار شدن (COOH-SWCNTs) و پس از اتصال PEI بر سطح نانوله‌های کربنی تک دیواره عامل‌دار شده (PEI@SWCNT)

بیشتری نسبت به بقیه CNTs عاملدار شده با سایر پلی‌مرهای استفاده شده در مطالعه آنها است (Ochoa-Olmos et al., 2016). علاوه بر این با مقایسه نتایج الگوی الکتروفورز نانوحامل به دست آمده توسط اوچا-ولمس و همکاران نسبت به الگوی SWCNTs@pDNA دارای ظرفیت بیشتر برای بارگیری pDNA بر سطح خود می‌باشد.

للكتروفورز به دست آمده از ژل الکتروفورز نانوحامل ساخته شده در این پژوهش می‌توان دید که گروه NH^+ در امتداد

از نانوذره pDNA هیچ باندى مشاهده نشد (شکل ۴-۲۲). از آنجایی که مهاجرت DNA متصل شده به نانوذره تحت تاثیر نانوذره قرار می‌گیرد بنابراین نتایج نشان دهنده ساخت موفق نانوحامل SWCNT@pDNA می‌باشند. با مقایسه الگوی الکتروفورز نانوحامل نتایج به دست آمده مشابه نتایج به دست آمده از پژوهش اوچا-ولمس و همکاران (۲۰۱۶) است. آنها همچنین بیان داشتند که پیوند بین CNTs-PEI و پلاسمید وابسته به گروه‌های NH^+ آزاد بر سطح نانوذره است. آنها گزارش کردند PEI دارای چندین زنجیره منشعب خود است که باعث می‌شود CNTs-PEI بار



شکل ۳. (A) تصویر الکتروفورز ژل آگارز pDNA بارگیره شده بر سطح SWCNTs@PEI و تهیه نانوحامل و (B) مشاهده سیگنال فلورسنت پروتئین mGFP5-ER در نتیجه انتقال ژن توسط نانوحامل SWCNT@pDNA به برگ گیاه قرنفل

استفاده از دیسکاتور تحت خلا احتمال آسیب به بافت و سلول گیاهی کمتر است و امکان انتقال ژن تقریباً به تمام اندام‌های گیاهی وجود دارد.

بنابراین نتایج حاصل از پژوهش حاضر توانایی نانوحامل SWCNT@DNA را برای عبور از سدهای سلول گیاهی و انتقال ژن هدف به داخل فضای سلول گیاهی را تأیید می‌کند. انتقال ژن توسط روش مبتنی بر فناوری نانو به دلیل داشتن برخی ویژگی‌ها از جمله آسان، ارزان، سریع و زیست سازگار بودن و همچنین مستقل از گونه گیاهی و تجهیزات آزمایشگاهی خاص و مقیاس‌پذیر بودن، می‌تواند روشی مطلوب برای انتقال ژن به سلول‌های گیاهی باشد.

نتایج انتقال ژن *mgfp5-ER* توسط نانوحامل SWCNT@pDNA به برگ‌های گیاه قرنفل سیگنال فلورسنت پروتئین *mGFP5-ER* و بیان موفق ژن *mgfp5-ER* را نشان می‌دهند.

توانایی پلی‌مرهای کاتیونی مانند PEI در انتقال ژن به آرابیدوپسیس نیز نشان داده شده است. در حالیکه PEI با خنثی سازی بار منفی DNA و فشردن آن، بازده انتقال ژن را افزایش می‌دهد. از عوامل موثر دیگر در فشردن سازی DNA توسط پلیمرهای کاتیونی می‌توان به وزن مولکولی پلیمر، وجود بار مثبت قوی و انعطاف پذیری زنجیره پلیمر اشاره کرد. بار مثبت در نانوحامل PEI@SWCNTs منجر به تعامل نانوحامل با دیواره و غشای نسبتاً منفی سلول شده و انتقال ژن به سلول‌های گیاه را تسهیل می‌کند (Ge et al., 2011).

چندین مطالعه توانایی CNTs برای نفوذ به سلول‌های گیاهی را اثبات کرده‌اند (Liu et al., 2009; Safdar et al., 2011; Serag et al., 2022). اما به هر حال در مطالعات قبلی از روش التراسونیک یا سرنگ برای تسهیل و تسریع نانوحامل به درون بافت و سلول گیاهی استفاده شده است (Squire et al., 2023; Zhang et al., 2022) که در مقایسه با روش

to intact plant cells and protect siRNA against nuclease degradation. Available at SSRN 3352632.

- Ge, C., Du, J., Zhao, L., Wang, L., Liu, Y., Li, D., Yang, Y., Zhou, R., Zhao, Y., & Chai, Z. (2011). Binding of blood proteins to carbon nanotubes reduces cytotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(41), 16968–16973.
- Giraldo, J. P., Landry, M. P., Faltermeier, S. M., McNicholas, T. P., Iverson, N. M., Boghossian, A. A., Reuel, N. F., Hilmer, A. J., Sen, F., & Brew, J. A. (2014). Plant nanobionics approach to augment photosynthesis and biochemical sensing. *Nature Materials*, 13(4), 400–408.
- Herdt, R. W. (2006). Biotechnology in agriculture. *Annual Review of Environment and Resources*, 31(1), 265–295.
- Ke, Y., Al Aboody, M. S., Alturaiki, W., Alsagaby, S. A., Alfaiz, F. A., Veeraraghavan, V. P., & Mickymaray, S. (2019). Photosynthesized gold nanoparticles from *Catharanthus roseus* induces caspase-mediated apoptosis in cervical cancer cells (HeLa). *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 1938–1946.
- Liu, Q., Chen, B., Wang, Q., Shi, X., Xiao, Z., Lin, J., & Fang, X. (2009). Carbon nanotubes as molecular transporters for walled plant cells. *Nano Letters*, 9(3), 1007–1010.
- Mohammadi, M., Azizi, M. H., & Zoghi, A. (2020). Antimicrobial activity of carboxymethyl cellulose–gelatin film containing *Dianthus barbatus* essential oil against aflatoxin-producing molds. *Food Science & Nutrition*, 8(2), 1244–1253.
- Adlak, T., Tiwari, S., Tripathi, M. K., Gupta, N., Sahu, V. K., Bhawar, P., & Kandalkar, V. S. (2019). Biotechnology: An advanced tool for crop improvement. *Current Journal of Applied Science and Technology*, 33(1), 1–11.
- Bhargava, A., & Srivastava, S. (2019). Participatory plant breeding: concept and applications. Springer.
- Chen, X., Zhou, Y., Han, H., Wang, X., Zhou, L., Yi, Z., Fu, Z., Wu, X., Li, G., & Zeng, L. (2021). Optical and magnetic properties of small-size core–shell Fe₃O₄@C nanoparticles. *Materials Today Chemistry*, 22, 100556.
- Cunningham, F. J., Goh, N. S., Demirer, G. S., Matos, J. L., & Landry, M. P. (2018). Nanoparticle-mediated delivery towards advancing plant genetic engineering. *Trends in Biotechnology*, 36(9), 882–897.
- Darbani, B., Farajnia, S., Toorchi, M., Zakerbostanabad, S., Noeparvar, S., & Stewart, C. N. (2008). DNA-delivery methods to produce transgenic plants. *Biotechnology*, 7(3), 385–402.
- Demirer, G. S., Zhang, H., Goh, N. S., González-Grandío, E., & Landry, M. P. (2019). Carbon nanotube-mediated DNA delivery without transgene integration in intact plants. *Nature Protocols*, 14(10), 2954–2971.
- Demirer, G. S., Zhang, H., Goh, N. S., Pinals, R. L., Chang, R., & Landry, M. P. (2020). Carbon nanocarriers deliver siRNA to intact plant cells for efficient gene knockdown. *Science Advances*, 6(26), eaaz0495.
- Demirer, G., Zhang, H., Goh, N., Chang, R., & Landry, M. (2019). Nanotubes effectively deliver siRNA

منابع

- Sosa-Acosta, J. R., Iriarte-Mesa, C., Ortega, G. A., & Díaz-García, A. M. (2020). DNA-iron oxide nanoparticles conjugates: Functional magnetic nanoplatforms in biomedical applications. *Surface-Modified Nanobiomaterials for Electrochemical and Biomedicine Applications*, 19–47.
- Squire, H. J., Tomatz, S., Voke, E., González-Grandío, E., & Landry, M. (2023). The emerging role of nanotechnology in plant genetic engineering. *Nature Reviews Bioengineering*, 1(5), 314-328.
- Vos, R., & Bellù, L. G. (2019). Global trends and challenges to food and agriculture into the 21st century. *Sustainable Food and Agriculture*, 11–30.
- Zaboli, M., Saeidnia, F., Zaboli, M., & Torkzadeh-Mahani, M. (2021). Stabilization of recombinant d-Lactate dehydrogenase enzyme with trehalose: Response surface methodology and molecular dynamics simulation study. *Process Biochemistry*, 101, 26–35.
- Zhang, H., Zhang, H., Demirer, G. S., Gonzalez-Grandio, E., Fan, C., & Landry, M. P. (2020). Engineering DNA nanostructures for siRNA delivery in plants. *Nature Protocols*, 15(9), 3064–3087.
- Zhang, H., Goh, N. S., Wang, J. W., Pinals, R. L., González-Grandío, E., Demirer, G. S., ... & Landry, M. P. (2022). Nanoparticle cellular internalization is not required for RNA delivery to mature plant leaves. *Nature nanotechnology*, 17(2), 197-205.
- Ochoa-Olmos, O. E., León-Domínguez, J. A., Contreras-Torres, F. F., Sanchez-Nieto, S., Basiuk, E. V., & Dinkova, T. D. (2016). Transformation of plant cell suspension cultures with amine-functionalized multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16(7), 7461–7471.
- Rafieian-Kopaei, M. (2012). Medicinal plants and the human needs. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 1.
- Rizwana, H., Alwhibi, M. S., Al-Judaie, R. A., Aldehaish, H. A., & Alsaggabi, N. S. (2022). Sunlight-mediated green synthesis of silver nanoparticles using the berries of *Ribes rubrum* (red currants): Characterisation and evaluation of their antifungal and antibacterial activities. *Molecules*, 27(7), 2186.
- Safdar, M., Kim, W., Park, S., Gwon, Y., Kim, Y.-O., & Kim, J. (2022). Engineering plants with carbon nanotubes: a sustainable agriculture approach. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 1–30.
- Sarvarian, P., Samadi, P., Gholipour, E., Shams Asenjan, K., Hojjat-Farsangi, M., Motavalli, R., Motavalli Khiavi, F., & Yousefi, M. (2021). Application of emerging plant-derived nanoparticles as a novel approach for nano-drug delivery systems. *Immunological Investigations*, 1–21.
- Serag, M. F., Kaji, N., Venturelli, E., Okamoto, Y., Terasaka, K., Tokeshi, M., Mizukami, H., Braeckmans, K., Bianco, A., & Baba, Y. (2011). Functional platform for controlled subcellular distribution of carbon nanotubes. *ACS Nano*, 5(11), 9264–9270.