

آموزش زیست‌شناسی به کمک کیت BioBits™

فیروزه علویان^۱، نگین معین فارسانی^۲

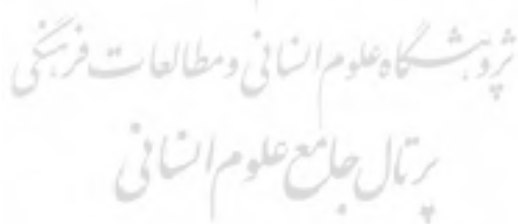
پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۳۰

دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱

چکیده

اجرای فعالیت‌های زیست‌شناسی عملی در کلاس‌های درس زیست‌شناسی و علوم به دلیل نیاز به تجهیزات تخصصی و تخصص برای رشد سلول‌های زنده بسیار چالش‌برانگیز است. کیت‌های مصنوعی زیست‌شناسی با تکیه بر علوم زیستی، مهندسی و طراحی فرصت‌هایی را برای آموزش تجربی زیست‌شناسی فراهم می‌کنند. BioBits™ نوعی کیت آموزش زیست‌شناسی مصنوعی بدون سلول، پایدار در قفسه و خشک‌شده در انجماد است که تنها با اضافه کردن آب به آن، خروجی‌های بصری مطلوبی را در اختیار کاربران قرار می‌دهد. واکنش‌های کیت BioBits™، حواس بینایی، بویایی و لامسه را با خروجی‌هایی درگیر می‌کنند که به ترتیب، فلورسانس، عطر و هیدروژل تولید می‌کنند. این مقاله مروری، مقالات مرتبط با موضوع پژوهش از وبسایت‌های Science Direct، Google Scholar و PubMed استخراج شدند. سعی ما این است که فعالیت‌ها و برنامه‌های حمایت‌کننده از آموزش زیست‌شناسی را گزارش می‌کنیم که می‌توانند به کمک کیت BioBits™ واکنش‌های آنزیمی و تشکیل مواد زیستی و حسگرهای زیستی را تداعی کنند. کیت BioBits™، نمایش عملی علوم پیشرفته را امکان‌پذیر می‌سازد که استفاده از آن‌ها ارزان، آسان و تقریباً در دسترس است؛ و بسیاری از موانع فعلی برای اجرای آزمایش‌های زیست‌شناسی اکتشافی در کلاس‌های درس را برطرف می‌کنند.

واژگان کلیدی: آموزش، زیست‌شناسی، حواس، کیت BioBits™



۱. گروه آموزشی زیست‌شناسی، دانشگاه فرهنگیان، صندوق پستی ۸۸۹-۱۴۶۶۵، تهران، ایران، نویسنده مسئول، alavian.firoozeh@gmail.com

۲. دبیر زیست‌شناسی، آموزش و پرورش فارس، چهارمحال و بختیاری، ایران.

مقدمه

هدف زیست‌شناسی مصنوعی برنامه‌ریزی برای سیستم‌های بیولوژیکی به منظور انجام عملکردهای مفید است. زیست‌شناسی مصنوعی پیشرفت معنی‌داری به سمت تولید زیستی داروها، مواد شیمیایی پایدار، سوخت‌های پیشرفته؛ و همچنین تشخیص سلولی و درمان داشته است (Radivojević, Costello, Workman, & Garcia Martin, 2020). هسته اصلی این پیشرفت‌ها، توانایی کنترل و تنظیم فرآیندهای رونویسی و ترجمه است که نقطه ورود به آموزش مباحث بنیادی زیست‌شناسی از طریق فناوری‌های زیستی پیشرفته را ارائه می‌دهد (Nielsen & Keasling, 2016). زیست‌شناسی مصنوعی همچنین فرصت‌های آموزشی غنی را ارائه می‌دهد، زیرا مخاطبان را ملزم می‌کند تا با مشکلات بین‌رشته‌ای و دنیای واقعی در تقاطع رشته‌های مختلف از جمله شیمی، زیست‌شناسی، مهندسی، علوم کامپیوتر، طراحی و اخلاق مقابله کنند. چنین فعالیت‌های آموزشی مقطعی با اهداف آموزش و پرورش (علم، فناوری، مهندسی، هنر و ریاضیات) همسو هستند تا کاربران را قادر به برقراری ارتباط اساسی میان چندین رشته کنند (Alavian, 2017; Engineering, 2005). با این حال، تلاش‌ها برای طراحی یک برنامه درسی زیست‌شناسی مصنوعی توسط تعداد سیستم‌های قوی که می‌توانند به مواد آموزشی تبدیل شوند، به دلیل نیاز به تجهیزات گران‌قیمت و تخصصی برای ذخیره، رشد و انتقال سلول‌ها و ملاحظات ایمنی زیستی که توانایی کار با سلول‌های خارج از محیط آزمایشگاهی را محدود می‌کند، سخت و طاقت‌فرسا است (Kuldell, 2007). پرداختن به این محدودیت‌ها و معرفی فعالیت‌های جایگزین؛ از جمله استفاده از کیت آموزشی BioBits™، به گسترش فرصت‌های آموزشی در کلاس‌های درس و همچنین اطلاع‌رسانی و ترویج مشارکت عمومی در زیست‌شناسی مصنوعی کمک می‌کند. بر این اساس، هدف مقاله حاضر، ایجاد مجموعه‌ای از خروجی‌ها است که تا حد ممکن حواس پنج‌گانه را درگیر کند تا علاقه دانش‌آموزان را به فعالیت‌ها برانگیزد.

روش شناسی پژوهش

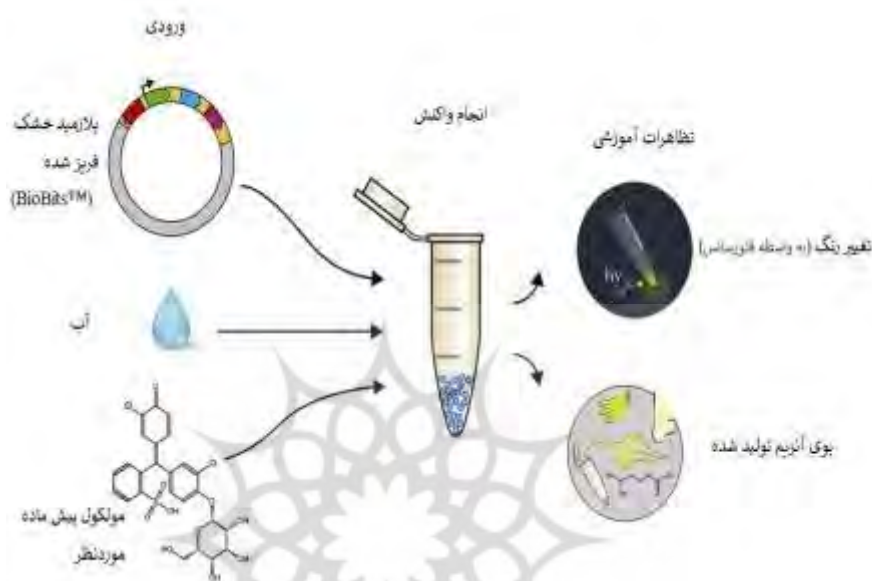
مطالعه حاضر از نوع مروری است و به صورت کیفی انجام شده است. مقالات مرتبط با موضوع پژوهش از پایگاه‌های اطلاعاتی Science Direct، Google Scholar و PubMed استخراج شدند. مقالاتی که با هدف تحقیق هم‌خوانی نداشتند از ادامه روند مطالعه حذف شدند.

یافته‌های پژوهش

ویژگی‌ها و مزایای سیستم‌های بدون سلول خشک‌شده به عنوان ابزار کمک آموزشی

سیستم‌های بدون سلول منجمد خشک‌شده (FD-CF)، فناوری نوظهوری را با پتانسیل هیجان‌انگیز به عنوان ابزار کمک آموزشی ارائه می‌دهند. سیستم‌های FD-CF را می‌توان به همراه عناصر ژنتیکی، با انجماد خشک کرد تا گلوله‌هایی را تشکیل دهند که در دمای اتاق پایدار هستند و بسیار قابل حمل هستند. این سیستم‌ها از ماشین‌آلات سلولی ضروری؛ از جمله پلیمرها، ریبوزوم‌ها و فاکتورهای رونویسی، در یک محیط آزمایشگاهی برای انجام فرآیندهای رونویسی و ترجمه استفاده می‌کنند (Carlson, Gan, Hodgman, & Jewett, 2012; Tinfar, Jaenes, & Pardee, 2019; Yang, Cui, Cao, Ma, & Lu, 2021). آن‌ها به تجهیزات و محیط‌های تخصصی استریل برای کشت سلول‌های زنده نیاز ندارند. علاوه بر این، فقدان سلول زنده نگرانی‌های مربوط به مهار زیستی را از بین می‌برد (سیستم‌های FD-CF از ارگانسیم‌های دست‌نخورده استفاده نمی‌کنند؛ بنابراین، بسیاری از مقررات ایمنی زیستی و زیست‌مهار که برای سلول‌های زنده وجود دارد را ندارند). طبیعت پایدار در قفسه این گلوله‌های یخ‌زده، نیاز به یخچال یا فریزر اختصاصی را از بین می‌برد. این سیستم‌ها در دمای اتاق برای بیش از ۱ سال پایدار هستند و از آن‌ها برای تشخیص‌های پیچیده، پروتئین‌درمانی، واکسن و معرف زیست‌شناسی مولکولی استفاده می‌شود (Jaroentomeechai et al., 2018). علاوه بر این، واکنش‌های FD-CF نیازی به تجهیزات تخصصی ندارند و آن‌ها را به یک فناوری قوی برای استفاده در محیط‌های کم‌درآمد، از جمله

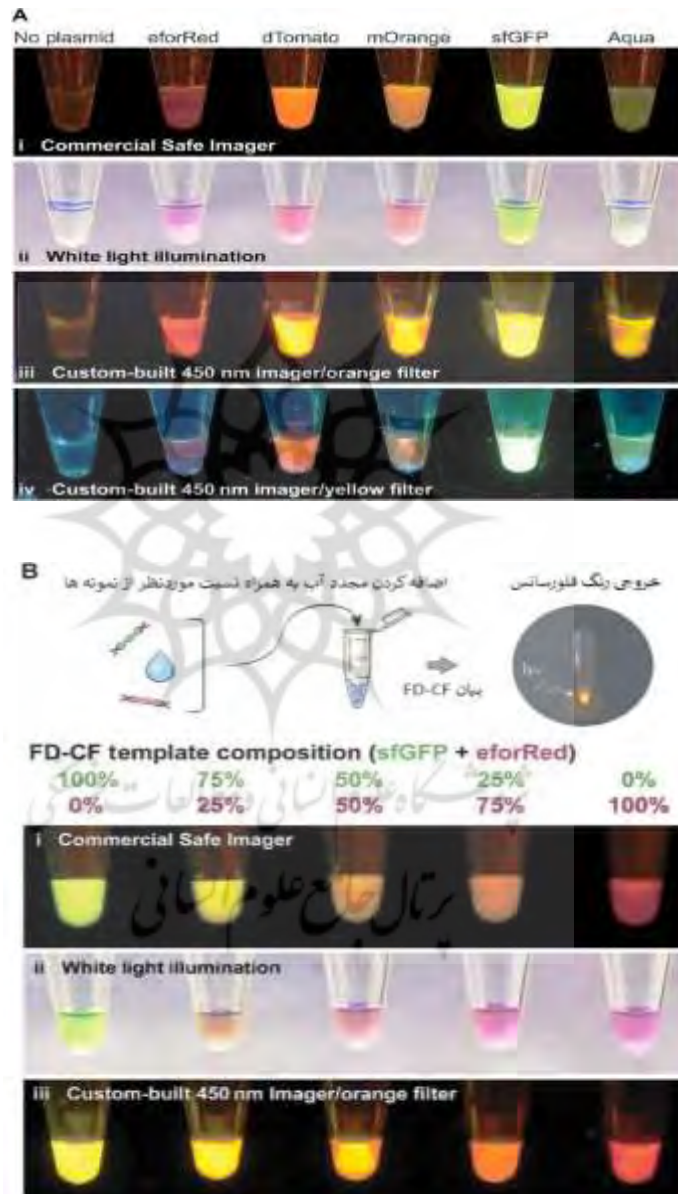
کلاس‌های درس تبدیل می‌کند. فعال‌سازی مجدد اجزای FD-CF به‌سادگی نیاز به اضافه کردن آب توسط کاربر نهایی دارد. همچنین این پلت فرم برای برنامه‌های کاربردی آموزش زیست‌شناسی که در آن‌ها فقدان آشکار امکانات آزمایشگاهی زیست‌شناسی عملی وجود دارد، بسیار مناسب است (Huang, 2019). به‌طور خاص، واکنش‌های FD-CF یک راه ایدئال برای آوردن جعبه‌ابزار زیست‌شناسی مصنوعی به مدارس و دانشگاه‌ها است. رویکرد نوآورانه FD-CF تأثیر قابل توجهی در کاهش موانع کشف مفاهیم زیست‌شناسی و کاهش نابرابری در آموزش علوم خواهد داشت. اگر بتوان از این فناوری برای توسعه ابزارهای آموزشی ایمن، قابل حمل و کارکرد آسان استفاده کرد، به‌طور قابل توجهی موانع ورود به آموزش زیست‌شناسی مصنوعی کاهش می‌یابد (Huang, Bryan, Kraves, Alvarez-Saavedra, & Stark, 2022; Tinafar et al., 2019).



شکل ۱. شناسا یید مواد به کمک بو و تغییر رنگ پس از انجام واکنش ماده موردنظر (در اینجا ترکیبی از موز) با کیت BioBits™.

کاربردهای کیت BioBits™ در آموزش زیست‌شناسی

BioBits™ نوعی کیت آموزشی FD-CF قابل حمل کم‌هزینه است که برای آموزش مفاهیم زیست‌شناسی از طریق درگیری حسی استفاده می‌کند و فرصت‌هایی را برای یادگیری مبتنی بر تحقیق فراهم می‌کند که فقط با اضافه کردن آب و مازول‌های آزمایشگاهی عملی همراه، طراحی شده است. از این خروجی‌ها می‌توان برای فعالیت‌هایی همچون آموزش اصول بیان پروتئین، کاتالیز آنزیم و خواص بیومواد استفاده کرد. نمونه BioBits™ که در اینجا معرفی می‌کنیم، دو حس بینایی و بوایی را درگیر می‌کند (شکل ۱). در واقع، ضمن بیان پروتئین‌ها، در واکنش‌های FD-CF، فلورسانس و بوهای معطر تولید می‌شود.



شکل ۲. پروتئین‌های فلورسنت به‌عنوان خروجی‌های بصری. (A) مجموعه‌ای از پروتئین‌های فلورسنت با بیان FD-CF در عصاره خام بیان شدند و با (i) یک ترانس روشن‌کننده آزمایشگاهی (Commercial safe image): تصویرساز ایمن در ۴۷۰ نانومتر، (ii) نور سفید (White light illumination)، (iii) روشن‌کننده کلاس درس در نور ۴۵۰ نانومتری (قابل حمل، ارزان) با فیلتر آکرلیک نارنجی یا Imager/yellow filter: فیلتر آکرلیک زرد. (B) پروتئین‌های فلورسنت eforRed در طیف وسیعی از ترکیبات مختلف (با نسبت DNA الگوی اضافه‌شده) در عصاره خام FD-CF بیان شدند و با (i) تصویرگر ایمن، (ii) نور سفید و (iii) با روشن‌کننده کلاس درس حاوی فیلتر آکرلیک نارنجی برای نشان دادن بیان پروتئین قابل تنظیم. تجسم شدند.

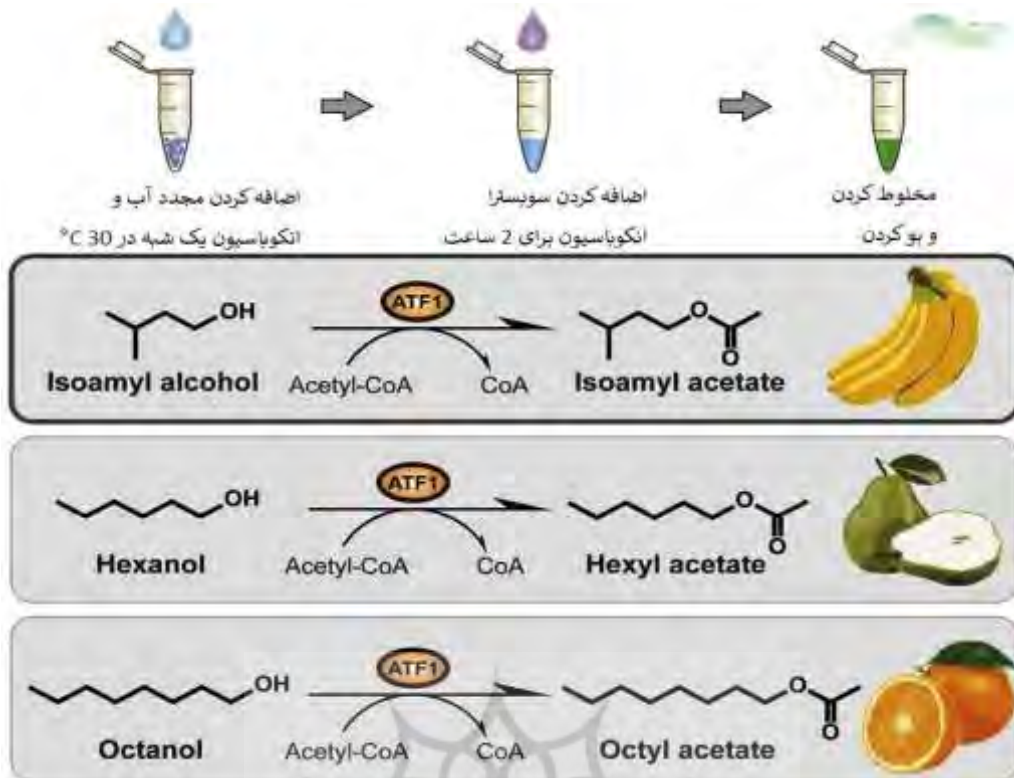
در شکل ۲، به‌عنوان یک خروجی بصری، از واکنش‌های عصاره خام FD-CF برای بیان پروتئین‌های فلورسنت استفاده شده است. مجموعه‌ای از پنج پروتئین فلورسنت که طیفی از رنگ‌ها را پوشش می‌دهند، انتخاب شدند (شکل ۲A). در واقع، زیرمجموعه‌ای از کیت BioBits™ Bright متشکل از رنگ‌های قرمز (eforRed)، نارنجی (dTomato)، زرد (mOrange)، سبز (sfGFP) و فیروزه‌ای (آکوامارین^۱). گلوله‌های FD-CF، از جمله الگوهای DNA که پنج پروتئین را کد می‌کنند، هیدراته و برای ۲۰ ساعت، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پروتئین‌های فلورسنت به‌شدت بیان می‌شوند و به‌راحتی با چشم قابل مشاهده هستند. در این فعالیت، بیان پروتئین با تغییر غلظت DNA ورودی تنظیم می‌شود. همچنین، از واکنش‌های عصاره خام FD-CF برای بیان هم‌زمان دو پروتئین فلورسنت مختلف، sfGFP و eforRed، در یک واکنش استفاده شد. گلوله‌های FD-CF، حاوی نسبت‌های مختلف از هر الگوی DNA، مجدد با آب هیدراته می‌شوند تا به طیفی از رنگ‌های میانی از سبز تا قرمز که تحت تأثیر نور سفید و نور فلورسانس برای چشم قابل مشاهده است، دست‌یابیم (شکل ۲B). این بیان هم‌زمان، می‌تواند با الگوهای DNA برای هر جفت پروتئین فلورسنت دیگری در کیت تکرار شود و به دانش‌آموزان اجازه دهد ترکیبی از خروجی‌های بصری را انتخاب کنند. این فعالیت همچنین فرصتی را فراهم می‌کند تا مفهوم چرخه طراحی-ساخت-آزمایش را به دانش‌آموزان آموزش داد (Pham, Ho, Wong, Lee, & Chang, 2017). هنگامی که دانش‌آموزان خروجی بصری موردنظر خود را برای انتخاب می‌کنند، می‌توانند آزمایشی برای ترکیب پروتئین‌های فلورسنت در نسبت‌های مختلف برای رسیدن به هدف خود طراحی کنند. در این مثال، به دست آوردن گلوله‌های FD-CF با غلظت DNA مناسب است. سپس دانش‌آموزان طرح آزمایشی خود را آزمایش می‌کنند، نتایج را ارزیابی می‌کنند و فرآیند را به‌دلیخواه تکرار می‌کنند. استفاده از این ماژول‌های فلورسنت و نمایش‌های آموزشی، همراه با تصویرگر فلورسنت ارزان، جایگزین‌های ساده و مقرون‌به‌صرفه‌ای را برای آزمایش‌های گران و پیچیده زیست‌شناسی سنتی ارائه می‌دهند (Tinafar et al., 2019).

آنزیم‌های تولیدکننده عطر به‌عنوان خروجی محرک حس بویایی

برای ایجاد یک مدار زیست‌شناسی مصنوعی که حس بویایی دانش‌آموزان را درگیر کند، آنزیم الکل استیل ترانس فراز ۲ (ATF1) را می‌توان در واکنش‌های FD-CF، در مدت‌زمان ۲۰ ساعت و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بیان کرد. ATF1 آنزیمی کلیدی در بیوشیمی رایحه است (Dixon & Kuldell, 2011) که با تبدیل ایزوآمیل الکل به ایزوآمیل استات، عطر قوی با بوی موز تولید می‌کند (شکل ۳). سپس محصول واکنش‌های FD-CF بیان‌کننده ATF1 را با رقت ۱:۱۰ در یک واکنش بافری حاوی ۲۵ میلی‌مولار ایزوآمیل الکل و ۵ میلی‌مولار استیل-کوآنزیم A (CoA) مخلوط کرده. اجازه داده می‌شود واکنش‌های آنزیمی به مدت ۲۰ ساعت در دمای اتاق ادامه یابد تا بوی قوی موز تشخیص داده شود. ATF1 می‌تواند سوبستراهای الکیلی با زنجیره بلند مختلف را به استرهای استیله مربوطه که دارای رایحه‌های مختلف هستند تبدیل کند (Yoshioka & Hashimoto, 1981). برای مثال، آنکوباسیون محصولات واکنش‌های FD-CF بیان‌کننده ATF1 با سوبستراهای هگزانول و اکتانول، می‌تواند محصولات فراری تولید کند که به ترتیب بوی گلابی و مرکبات را در برمی‌گیرند (شکل ۳).

^۱ Aquamarine

^۲ Alcohol acetyl transferase

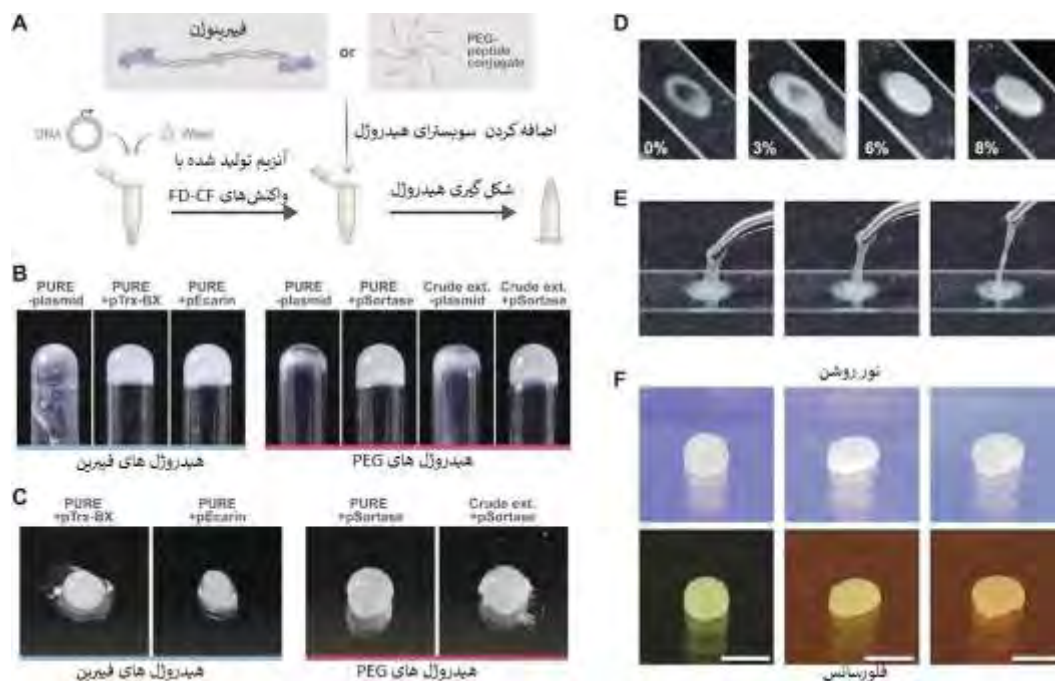


، آنزیم‌هایی تولید می‌شود که می‌توانند بوهای مختلفی را از FD-CF شکل ۳. با استفاده از واکنش‌های ایجاد کنند. ATF1 ساکارومایسس سرویزیه استیل ترانس فراز

با توجه به تحقیق فوق، واکنش‌های ساده بدون سلولی که مولکول‌های عطر فرار را تولید می‌کنند، به آسانی و پس از آنکوباسیون یک‌شبه قابل انجام است. این خروجی‌های بویایی می‌توانند به دانش‌آموزان درباره واکنش‌های آنزیمی اولیه بیاموزند، ارتباط خوبی با درس‌های آموخته‌شده در کلاس‌های شیمی آن‌ها فراهم کنند و پروژه‌های تحقیقاتی بالقوه را برای گروه‌های دانش‌آموزی پژوهشگر الهام بخشند. به‌عنوان مثال، می‌توان واکنش‌های آنزیمی حاوی ایزوآمیل الکل را با و بدون ATF1 تولیدشده توسط FD-CF طراحی کرد تا نشان داد که برای ایجاد بو باید آنزیم وجود داشته باشد. ATF1 همچنین می‌تواند با سوبستراهای غیر واکنشی با گروه‌های عملکردی شیمیایی مختلف مخلوط شود تا نشان دهد که آنزیم فقط یک واکنش خاص را کاتالیز می‌کند.

آنزیم‌های مولد هیدروژل به‌عنوان خروجی‌های لمسی

در مرحله بعد، ما به دنبال ایجاد محصولی با استفاده از واکنش‌های FD-CF هستیم که دانش‌آموزان بتوانند به شیوه‌ای لمسی با آن تعامل داشته باشند. برای انجام این کار، می‌توان از مواد هیدروژل مهندسی‌شده الهام گرفت که برای کاربردهای زیست پزشکی و بیوتکنولوژیکی توسعه یافته‌اند (Drury & Mooney, 2003; Peppas, Hilt, Khademhosseini, & Langer, 2006)؛ مانند خروجی‌های بویایی، هیدروژل‌ها را می‌توان با واکنش‌های آنزیمی تولید کرد (شکل ۴A).



شکل ۴. آنزیم‌های مولد هیدروژل به‌عنوان خروجی‌های لمسی. (A) کیت FD-CF هیدروژل‌های فیبرین ایجاد شده از پروتئازهای تولید شده توسط شکل A. آنزیم‌های مولد هیدروژل به‌عنوان خروجی‌های لمسی. پیوند متقابل ایجاد می‌کنند و باعث ایجاد پیوند متقابل توسط فعالیت FD-CF که توسط آنزیم‌های سورتاز تولید شده توسط PEG فعال می‌کنند یا هیدروژل‌های پتید (تصاویر نمای نزدیک از هیدروژل‌های تشکیل شده که می‌توانند دست C) لوله‌های شیشه‌ای معکوس برای نشان دادن تشکیل هیدروژل. (B) ترانس پتیداز می‌شوند. (FD- یک هیدروژل خام ۸٪ E برای ایجاد طیف وسیعی از مواد با ویسکوزیته‌های مختلف. (PEG) تنظیم خواص مکانیکی هیدروژل با تغییر درصد D دست‌کاری شوند. برای به دست آوردن FD-CF در نور روشن با واکنش‌های پروتئین فلورسنت خام (ریخته‌گری هیدروژل‌ها به با استفاده از قالب F بسیار الاستیک، CF PEG) هیدروژل‌های فلورسنت شکل‌دار.

سورتاز ۱ آنزیمی است که توالی‌های پتیدی خاص را از طریق واکنش ترانس پتیداسیون تشخیص می‌دهد و به‌صورت کووالانسی پیوند می‌دهد (Valdez et al., 2017). می‌توان سورتاز را در واکنش‌های خام و خالص FD-CF، یک‌شبه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بیان کرد و از آن برای اتصال مقاطع محلولی از مولکول‌های پلی‌اتیلن گلیکول هشت بازویی (PEG₈) اصلاح شده استفاده کرد. تشکیل هیدروژل طی ۳۰ دقیقه پس از آنکوباسیون، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود (شکل ۴، B و C). در مقابل، محلول‌های PEG آنکوبه شده با واکنش‌های FD-CF که فاقد DNA الگو هستند، تغییر فازی را نشان نمی‌دهند و به شکل مایع باقی می‌مانند. پس از تشکیل، می‌توان هیدروژل‌ها را دست‌کاری کرد و به دانش‌آموزان این امکان را داد تا خروجی‌ای را به دست آورند که می‌تواند آن را لمس کنند. از این تظاهرات اساسی می‌توان برای معرفی مفاهیم زیستی پیشرفته مانند لخته شدن خون یا نحوه استفاده سلول‌ها از فرآیندهای مشابه برای تشکیل بافت انسانی استفاده کرد. به‌طور خاص، خواص مکانیکی هیدروژل را می‌توان با تغییر غلظت زیرلایه‌ها تنظیم کرد تا طیفی از مواد؛ از یک لجن چسبناک تا یک هیدروژل سفت ایجاد شود (شکل ۴، D و E). هیدروژل‌ها را نیز می‌توان با استفاده از قالب‌ها به شکل‌هایی درآورد و/یا با خروجی‌های پروتئین فلورسنت ترکیب کرد تا هیدروژل‌های فلورسنت ایجاد کرد (شکل ۴F).

۱ Sortase

۲ Eight-arm polyethylene glycol

بحث و نتیجه‌گیری

کیت آموزشی زیست‌شناسی مصنوعی که در اینجا توضیح داده شد، نیاز به اجرای آسان و عملی نمایش زیست‌شناسی در آموزش STEM^۱ را برطرف می‌کند. استفاده از واکنش‌های FD-CF روشی مقرون‌به‌صرفه و بدون نیاز به تجهیزات تخصصی هستند. در این مقاله، ابتدا مجموعه‌ای از خروجی‌ها معرفی شد که حواس بینایی، بویایی و لامسه را به ترتیب از طریق پروتئین‌های فلورسنت، رایحه‌های تولیدشده توسط آنزیم و هیدروژل‌های تولیدشده توسط آنزیم درگیر می‌کنند. این خروجی‌ها نمایش‌هایی را ارائه می‌دهند که می‌توانند برای آموزش مفاهیم بنیادی زیست‌شناسی، کاتالیز آنزیم و خواص مواد مورد استفاده قرار گیرند. این جعبه‌ابزارها به گونه‌ای طراحی شده‌اند که معلمان می‌توانند در برنامه‌های درسی خود، بسته به محتوایی که می‌خواهند تدریس کنند و زمان موجود در کلاس، آن‌طور که صلاح می‌بینند، آن‌ها را بگنجانند.

کیت BioBits™ به دانش‌آموزان اجازه می‌دهد DNA استخراج‌شده از میوه‌ها را جدا کنند و نمونه‌ها را با استفاده از حسگرهایی که برای تشخیص توالی‌های DNA خاص از ژنوم (مانند موز، کیوی و ...) طراحی شده‌اند، تجزیه و تحلیل کنند. جداسازی DNA از میوه‌ها به دلیل پروتکل ساده و سهولت اجرا، یک فعالیت کلاسی پرکاربرد است (Stark et al., 2018; Umapathi, Ghoreishian, Sonwal, Rani, & Huh, 2022). با استفاده از این تکنیک، دانش‌آموزان می‌توانند DNA را در سطح ژنتیکی بررسی کنند. همچنین، فراتر از تظاهرات آموزشی، حسگرهای زیستی برای تمایز بافت‌های گیاهی مانند مواردی که در اینجا توضیح داده شد، می‌توانند عملاً در کشاورزی برای تشخیص آلودگی در محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرند (Ruiu & Lentini, 2022).

فعالیت‌های معرفی‌شده در اینجا را می‌توان برای معرفی طیف وسیعی از مفاهیم زیست‌شناسی سلولی مولکولی در کلاس‌های درس استفاده کرد. پیشنهاد می‌شود کیت‌های FD-CF به نحوی توسعه یابد که مجموعه‌ای از ماژول‌های اضافی را برای آموزش مفاهیم زیست‌شناسی پیشرفته ایجاد کنند تا الگوی جدیدی را برای تجربیات علوم زیستی و بیوتکنولوژی مقرون‌به‌صرفه در هر کلاسی فراهم کرد و آموزش باکیفیت زیست‌شناسی را برای همه دانش‌آموزان قابل‌دسترس ساخت.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

- Alavian, D. F. (۲۰۱۷). Content Knowledge Pedagogy (PCK) in Cellular Biology Education: Cell Biology should be taught in an Experimental form. ۳(۹), ۱۲-۲۴.
- Carlson, E. D., Gan, R., Hodgman, C. E., & Jewett, M. C. (۲۰۱۲). Cell-free protein synthesis: applications come of age. *Biotechnology advances*, ۳۰(۵), ۱۱۸۵-۱۱۹۴.
- Dixon, J., & Kuldell, N. (۲۰۱۱). BioBuilding: Using banana-scented bacteria to teach synthetic biology. *In Methods in enzymology* (Vol. ۴۹۷, pp. ۲۵۵-۲۷۱): Elsevier.
- Drury, J. L., & Mooney, D. J. (۲۰۰۳). Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. *Biomaterials*, ۲۴(۲۴), ۴۳۳۷-۴۳۵۱.
- Engineering, N. A. o. (۲۰۰۵). *Adapting engineering education to the new century educating the engineer of 0000*. In: *The National Academies Press*.
- Huang, A. (۲۰۱۹). *Accessible and easy-to-use educational tools to teach molecular and synthetic biology using freeze-dried, cell-free technology*. Massachusetts Institute of Technology,
- Huang, A., Bryan, B., Kraves, S., Alvarez-Saavedra, E., & Stark, J. C. (۲۰۲۲). *Implementing Hands-On Molecular and Synthetic Biology Education Using Cell-Free Technology*. In *Cell-Free Gene Expression* (pp. ۴۱۳-۴۳۲): Springer.
- Jaroentomechai, T., Stark, J. C., Natarajan, A., Glasscock, C. J., Yates, L. E., Hsu, K. J., . . . DeLisa, M. P. (۲۰۱۸). Single-pot glycoprotein biosynthesis using a cell-free transcription-translation system enriched with glycosylation machinery. *Nature communications*, ۹(۱), ۱-۱۱.
- Kuldell, N. (۲۰۰۷). Authentic teaching and learning through synthetic biology. *Journal of biological engineering*, ۱(۱), ۱-۶.
- Nielsen, J., & Keasling, J. D. (۲۰۱۶). Engineering cellular metabolism. *Cell*, ۱۶۴(۶), ۱۱۸۵-۱۱۹۷.
- Peppas, N. A., Hilt, J. Z., Khademhosseini, A., & Langer, R. (۲۰۰۶). Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology. *Advanced materials*, ۱۸(۱۱), ۱۳۴۵-۱۳۶۰.
- Pham, H. L., Ho, C. L., Wong, A., Lee, Y. S., & Chang, M. W. (۲۰۱۷). Applying the design-build-test paradigm in microbiome engineering. *Current opinion in biotechnology*, ۴۸, ۸۵-۹۳.
- Radivojević, T., Costello, Z., Workman, K., & Garcia Martin, H. (۲۰۲۰). A machine learning Automated Recommendation Tool for synthetic biology. *Nature communications*, ۱۱(۱), ۱-۱۴.
- Ruiu, L., & Lentini, A. (۲۰۲۲). Sustainable Silage Maize Integrated Protection against the European Corn Borer *Ostrinia nubilalis* and the Corn Earworm *Helicoverpa armigera* Employing the Farm Irrigation System. *Agronomy*, ۱۲(۲), ۳۶۲.
- Stark, J. C., Huang, A., Nguyen, P. Q., Dubner, R. S., Hsu, K. J., Ferrante, T. C., . . . Packett, J. S. (۲۰۱۸). BioBits™ Bright: A fluorescent synthetic biology education kit. *Science advances*, ۴(۸), eaat۵۱۰۷.
- Tinafar, A., Jaenes, K., & Pardee, K. (۲۰۱۹). Synthetic biology goes cell-free. *BMC biology*, ۱۷(۱), ۱-۱۴.
- Umaphathi, R., Ghoreishian, S. M., Sonwal, S., Rani, G. M., & Huh, Y. S. (۲۰۲۲). Portable electrochemical sensing methodologies for on-site detection of pesticide residues in fruits and vegetables. *Coordination Chemistry Reviews*, ۴۵۳, ۲۱۴۳۰۵.
- Valdez, J., Cook, C. D., Ahrens, C. C., Wang, A. J., Brown, A., Kumar, M., . . . Gordon, E. (۲۰۱۷). On-demand dissolution of modular, synthetic extracellular matrix reveals local epithelial-stromal communication networks. *Biomaterials*, ۱۳۰, ۹۰-۱۰۳.
- Yang, J., Cui, Y., Cao, Z., Ma, S., & Lu, Y. (۲۰۲۱). Strategy exploration for developing robust lyophilized cell-free systems. *Biotechnology Notes*, ۲, ۴۴-۵۰.
- Yoshioka, K., & Hashimoto, N. (۱۹۸۱). Ester formation by alcohol acetyltransferase from brewers' yeast. *Agricultural and Biological Chemistry*, ۴۵(۱۰), ۲۱۸۳-۲۱۹۰.