زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس

آپتامر، کاربردها و طراحی آن به روش in silico

سارا قهرمانی[۱]، معصومه کردی[۲*]

۱.دانشجوی کارشناسی ارشد نانوبیوتکنولوژی، گروه بیوتکنولوژی ، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
۲.دکتری بیوتکنولوژی، گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: Ma_kordi@sbu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۳۰ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶

چکیده

آپتامرها توالی‌های تک‌رشته RNA، DNA و یا پروتئینی با اختصاصیت بالا هستند که به طیف وسیعی از مولکول‌های هدف تمایل اتصال دارند. آپتامرها در زمینه‌های مختلف به‌مخصوص پزشکی و تشخیصی کاربرد بالایی دارند و از نظر کاربردشان مشابه آنتی‌بادی‌ها هستند. استفاده از آپتامر به جای آنتی‌بادی مزایای زیادی از جمله قیمت ارزان، طول عمر بالاتر، افزایش قدرت نفوذ به بافت و غیره دارد. چندین روش برای تولید آپتامر وجود دارد که با روش‌های in silico می‌توان مراحل تولید آپتامر را کوتاه و ساده‌تر کرد. با مدل‌سازی آپتامر می‌توان مجموعه‌ای از روش‌های in silico مثل مدل‌سازی، داکینک و دینامیک مولکولی را برای غربال‌گری و دستیابی به بهترین توالی آپتامر به کار برد. در این مقاله مروری انواع آپتامرها، ساختارها، کاربردها و روش‌های طراحی آنها در in silico به‌صورت مختصر بیان شده است.

واژه‌های کلیدی: آپتامر، DNA، RNA، پروتئین، in silico.

۱- مقدمه

آپتامرها توالی‌های الیگونوکلئوتیدی یا پپتیدی با طول کوتاه تا متوسط بین ۱۵ تا ۱۰۰ تایی هستند. آپتامرها به‌دلیل اختصاصیت بالایی که در اتصال به مولکول‌های هدف (آنتی‌ژن، پروتئین، یون و...) دارند، در زمینه پزشکی و تشخیصی کاربرد زیادی دارند [۱]. در سال‌های پیشین آپتامرها برای دامنه گسترده‌ای از اهداف از قبیل سلول‌ها، ویروس‌ها، یون‌ها، کوآنزیم‌ها، آمینواسیدها، آنتی‌بیوتیک‌ها، آفت‌کش‌ها، پلی‌پپتیدها، هورمون‌ها و سایر مولکول‌ها ساخته شده‌اند [۲]. آپتامرها از نظر طیف وسیع مولکول‌های هدف و کاربرد خود مشابه آنتی‌بادی‌ها هستند، اما در مقایسه با آنتی‌بادی‌ها، مزایای زیادی از جمله پایداری در دماهای بالا و عدم ایمنی‌زایی و عدم ایجاد سمیت دارند [۳]. فرایند تولید آپتامر در مقایسه با آنتی‌بادی ارزان‌تر می‌باشد. سنتز آپتامر به‌صورت شیمیایی از راه تکثیر با واکنش زنجیره پلیمراز [٤] و یا غربال یک کتابخانه مصنوعی انجام می‌شود، حال آنکه تولید آنتی‌بادی بیولوژیک است و در رده‌های سلولی و یا در

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-10-05]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1400.13.1.10.9]

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــــــ

SELEX نام گرفت [۱۷]. SELEX روشی تجربی برای شناسایی آپتامرهای اسیدنوکلئیکی از کتابخانه‌های مصنوعی DNA و RNA است که با میل ترکیبی زیاد و اختصاصیت بالا به مولکول هدف متصل می‌شود [۱۷]. آزمایش SELEX شامل چهار مرحله ۱- انکوبه‌کردن کتابخانه با مولکول هدف؛ ۲- انتخاب دنباله متصل‌شده؛ ۳- شستشوی دنباله‌های متصل‌نشده و در نهایت ٤- تکثیر اسیدهای نوکلئیک متصل‌شده با واکنش زنجیره پلیمراز است [۱۸]. در SELEX، یک الیگونوکلئوتید به روش شیمیایی سنتز می‌شود که شامل یک منطقه تصادفی مرکزی متشکل از ۱۵-۷۵ موقعیت تصادفی است و در کنار مناطق حفاظت‌شده، سایت‌های اتصال پرایمر برای رونویسی معکوس قرار دارد [۱۹]. در آپتامرهای RNA، به‌طور معمول از سایت پروموتور T7 به‌عنوان منطقه حفاظت‌شده استفاده می‌شود و آپتامرها در استخر اصلی RNA از راه رونویسی با T7-RNA پلیمراز در شرایط in vitro تولید می‌شود [۲۰].

برای انتخاب آپتامرهای DNA، نخست محصولات دورشته‌ای حاصل از PCR از هم جدا شده و مجموعه‌ای از الیگودئوکسی‌ریبونوکلئوتیدهای تک‌رشته‌ای خواهیم داشت که از DNA دورشته‌ای جداشده و با مولکول‌های هدف انکوبه می‌شوند و آن تک‌رشته‌هایی که با مولکول هدف برهمکنش داشتند، برای مرحله اول دور بعدی SELEX استفاده می‌شوند [۲۱].

لازم به ذکر است موفقیت فرایند انتخاب DNA از راه SELEX بسیار به مرحله تبدیل DNA دو رشته‌ای به DNA تک‌رشته‌ای بستگی دارد. روش‌های زیادی برای تولید DNA تک رشته‌ای از DNA دو رشته‌ای وجود دارد، برای مثال PCR نامتقارن، جداسازی بیوتین-استراپتاویدین، هضم اگزونوکلئاز لامبدا و جداسازی براساس اندازه روی ژل الکتروفورز پلی اکریل آمید از جمله این روش‌ها می‌باشند [۲۱]. فشار انتخاب در هر دور SELEX افزایش پیدا می‌کند و حداکثر میزان غنی‌سازی استخر الیگونوکلئوتیدی بعد از ۵-۱۵ دور حاصل می‌شود [۲۲]. از آنجا که در SELEX تعداد زیادی توالی اسید نوکلئیک و کتابخانه موردنیاز است، می‌توان کتابخانه‌ای از آپتامرهای RNA را در شرایط in silico طراحی کرد تا تعداد توالی‌های RNA به حداقل برسد. این روش‌های محاسباتی در غربال‌گری آپتامرها و مطالعه فعل و انفعالات، به دلیل راحتی و هزینه کمتر مورد توجه قرار گرفته است [۱].

٤- کاربرد آپتامرها

استفاده از آپتامرها در علوم پایه و همچنین کاربرد آنها در علوم پزشکی و تشخیصی رو به افزایش است [۲۳]. آپتامرهای الیگونوکلئیکی می‌توانند علاوه بر ماکرومولکول‌ها، مولکول‌های کوچک‌تری مانند یون‌های فلزی (یون کلسیم، یون کادمیم، یون جیوه، یون پتاسیم، یون سرب)، هورمون‌ها (استرادیول، پروژسترون)، آنتی‌بیوتیک‌ها (کانامایسین، توبرامایسین، اکسی‌تتراسایکلین)، داروها (مت‌آمفتامین، کتامین) و سموم (آفلاتوکسین، بروتوکسین) را شناسایی کنند [۲٤].

٤-۱ آپتاسنسور

یکی از جدیدترین و کارامدترین حسگرهای زیستی، حسگرهای مبتنی بر آپتامر یا آپتاسنسورها هستند [۲۵] که در مقایسه با سنسورهای مبتنی بر آنتی‌بادی بهره‌وری بالاتر، ثبات بیشتر و همچنین سمیت کمتری دارند [۲٦].

٤-۱-۱ کاربرد آپتاسنسور در سنجش میزان آنتی‌بیوتیک

مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک و استفاده بی رویه آنتی‌بیوتیک و به تبع آن آلودگی آنتی‌بیوتیک یکی از مشکلات جدی است که در سال‌های گذشته مطرح شده است. از این‌رو تقاضای بالایی برای توسعه روش‌های

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-10-05]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1400.13.1.10.9]

قوی، آسان و حساس مثل بیوسنسورها برای ارزیابی سریع آنتی‌بیوتیک ها وجود دارد [۲۷]. تاکنون از آپتاسنسورها برای سنجش گروه‌های مختلف آنتی‌بیوتیک مانند بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها، آنتراسایکلین‌ها، کلرامفنیکل، فلوئورو کینولون‌ها، لینکوزامید، تتراسایکلین‌ها و سولفونامیدها استفاده شده است [۲۷]. در سنجش آلودگی آنتی‌بیوتیک از آپتاسنسور اختصاصی آن آنتی‌بیوتیک استفاده می‌شود، برای مثال در مورد آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل که به‌طور گسترده در برابر باکتری‌های گرم مثبت و منفی و بیماری‌های عفونی در انسان و حیوانات استفاده می‌شود. به دلیل تهدیدات کلرامفنیکل روی سلامت عمومی، بسیاری از سازمان‌ها حداکثر مقدار مجاز برای آن تعیین کرده‌اند. بر این اساس اتحادیه اروپا، حد ایمنی کلرامفنیکل در غذا را $0.3\ \mu g.kg^{-1}$ تعیین کرده است [۲۶]. درنتیجه در این زمینه به روش‌های ارزیابی حساس، کارامد، سودآور و همچنین قابل حمل در سراسر جهان توجه شده است. آپتاسنسورها ابزاری کارآمد برای سنجش و تشخیص کلرامفنیکل هستند که به‌صورت هوشمندانه می‌توانند مولکول‌ها را تشخیص دهند و به‌عنوان عناصر تشخیصی بیولوژیک استفاده شوند [۲۵].

۴-۱-۲ کاربرد آپتاسنسور در تشخیص باکتری‌ها و پاتوژن‌ها

از آپتاسنسورهای اختصاصی هر پاتوژن در سنجش آن استفاده می‌شود، برای مثال از اواسط قرن گذشته تشخیص داده شده است که برخی از سروتیپ‌های خاص *E. coli* می‌توانند انتروتوکسین تولید کنند که می‌تواند باعث درد شکم، اسهال، التهاب، زخم و حتی در موارد شدید ورم، خونریزی و همولیز به‌ویژه در نوزادان و کودکان شود. بنابراین تمرکز ویژه‌ای روی تولید آپتاسنسورهای بهینه برای تشخیص این سروتیپ‌های خاص بیماریزا گذاشته شده است [۲۸]. آپتامرهایی که به‌سادگی از راه شیمیایی سنتز و به‌طور اختصاصی پاتوژن را شناسایی و بلاک می‌کنند، برای مثال آپتامر اختصاصی ویروس کووید [۲۹]. در پژوهش راجی و همکاران آپتاسنسور طراحی‌شده برای پاتوژن بیمارستانی Staphylococcus aureus مقاوم به متیسیلین از نظر کمی و کیفی ارزیابی شد. نتایج نشان داد آپتاسنسور با اختصاصیت بالایی این باکتری را شناسایی می‌کند [۳۰].

۴-۱-۳ کاربرد آپتاسنسور در تشخیص آلودگی و مواد خطرناک در منابع آب

منابع آب به‌طور دقیق از نظر آلودگی با مواد خطرناک کنترل می‌شوند. با این حال بیشتر مواد مضر موجود در منابع آب، مولکول‌های کم‌وزن با وزنی کمتر از ۱۰۰۰ دالتون هستند. در سال‌های پیشین از سنسورهای آپتامری برای شناسایی آلاینده‌هایی با وزن مولکولی کم در منابع آب از جمله آب لوله کشی، آب دریا، آب دریاچه، آب رودخانه، همچنین فاضلاب و پساب آن استفاده شده است و نظارت بر کیفیت آب را بهبود داده است [۳۱].

۴-۲ کاربرد آپتامر در شناسایی زهر

نیش مار، یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشت عمومی به‌خصوص در جمعیت روستایی کشورهای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری است. در بیشتر موارد مار مسئول نیش ناشناس باقی می‌ماند. تشخیص دقیق زهر مار از نظر اپیدمیولوژی و همچنین تشخیصی مهم است. در سال‌های پیشین، در این زمینه آپتامرهای اسیدنوکلئیکی به دلیل مزیت‌های آشکار نسبت به آنتی‌بادی‌ها، از جمله امکان سنجش در محیط in vitro، آسانی در عملکرد، پایداری بالا و سازگاری با قالب‌های مختلف تشخیصی به‌عنوان یک رقیب شیمیایی قوی برای آنتی‌بادی‌ها شناخته شده است [۳۲]، برای مثال دیمان و همکاران ۲۰۱۸ آپتامری

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-10-05]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1400.13.1.10.9]

آپتامر، کاربردها و طراحی ... ــــــ

[۱]. در مدل‌سازی اسیدنوکلئیک می‌توان مجموعه کاملی از روش‌های in silico مانند داکینگ، دینامیک مولکولی و آنالیز آماری را به کار برد [۳۹]. این روش‌ها باعث غربال‌گری تکاملی اسیدهای نوکلئیک و پپتیدها از یک کتابخانه به‌وسیله میل ترکیبی زیاد برای مولکول‌های هدف اختصاصی می‌شود [۱].

روش کار مدل‌سازی معمولاً با پیش‌بینی ساختار شروع شده و سپس اتصال هدف به آپتامر انجام می‌شود. در مرحله بعد، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی انجام می‌شود که امکان ارزیابی پایداری کمپلکس‌های آپتامر/ لیگاند و تعیین انرژی اتصال با دقت بالاتر را فراهم می‌کند. سپس فعل و انفعالات آپتامر/ لیگاند تجزیه و تحلیل شده و جهش‌های آپتامرها مطالعه می‌شود. پس از آن می‌توان کل روش مدل‌سازی مولکولی را تکرار کرد. فعل و انفعالات بین آپتامرها و لیگاند پیچیده است و درک آن تنها با استفاده از روش‌های تجربی دشوار است [۳۹]. زمانی که آپتامر به‌صورت in silico مطالعه می‌شود، انجام داکینک و دینامیک مولکولی ضرورت دارد [۳۹]. گاهی اوقات، دینامیک مولکولی آپتامرهای اولیگونوکلئوتیدی با مطالعه‌های مکانیک کوانتومی ترکیبی/ مکانیک مولکولی همراه است [۴۰]. البته می‌توان از روش in silico همراه با SELEX و HTS[4] برای بالابردن کارایی پژوهش‌ها استفاده کرد [۴۱].

دو مرحله مهم در انتخاب و بهینه‌سازی طراحی آپتامر وجود دارد. در مرحله اول، چندین پلی‌نوکلئوتید با میل ترکیبی احتمالی برای یک هدف، با استفاده از روش SELEX غربال شده و سپس انتخاب می‌شوند. در مرحله دوم، آپتامرهایی که میل ترکیبی بالایی دارند، کوتاه شده، بهبود پیدا کرده و تثبیت می‌شوند [۴۲].

۶- پیش‌بینی ساختار دوم آپتامر طراحی‌شده

پیش‌بینی‌های محاسباتی، ساختارهای دوم و سوم اسیدهای نوکلئیک، سلول‌ها و مولکول‌های هدف و همچنین انرژی هر ساختار را نشان می‌دهد [۴۳] و اطلاعات ضروری را برای شبیه‌سازی‌های اتصال مولکولی فراهم می‌کند [۴۴]. آپتامرها معمولاً برای اتصال به اهداف خود به ساختار دوم نیاز دارند [۴۵]. وجود ساختارهای دوم متمایز مانند ساختار سنجاق سر میل ترکیبی آپتامر را افزایش می‌دهد [۴۳].

رایج‌ترین اشکال ساختارهای دوم DNA عبارتند از حلقه‌ها، مارپیچ، ساقه، برآمدگی‌ها، گوانین چهاررشته‌ای و گره‌های دروغین[6] است که به‌وسیله این ساختارها، آپتامرها روی اپی‌توپ‌های سطح پروتئین هدف لنگر می‌اندازند و برخی از خواص فیزیکی- شیمیایی (آب‌دوستی، آب‌گریزی، آنتروپی، آنتالپی، دمای ذوب) و ساختاری را می‌توان به کمک این ساختارها تعیین کرد [۹]. علاوه بر این، ساختارهای پیش‌بینی‌شده برای تحلیل موتیف اتصالی آپتامرها نیز استفاده می‌شود، از این طریق دیگر نیازی به آزمایش‌های پیچیده و وقت‌گیر نیست [۴۶].

از آنجا که تعیین ساختار اسیدهای نوکلئیک با وجود پیشرفت بسیار در کریستالوگرافی، طیف‌سنجی مغناطیسی هسته‌ای[7] و بهبود شیمیایی اغلب از نظر تجربی دشوار است، روش‌های محاسباتی می‌توانند ابزاری مهم و ساده برای تولید فرضی ساختار آپتامر و توانایی اتصال آن باشند [۴۷].

گسترده‌ترین ابزار بیوانفورماتیک برای تعیین ساختارهای دوم ssDNA، وب سرور mfold [8] است [۴۸]. سرور mfold[9] ساختارهای ثانویه ssDNA، دمای ذوب و هیبریداسیون را پیش‌بینی می‌کند [۴۸]. mfold کل

4 - high throughput selex

5 - bulges
6 - pseudoknots
7 - nuclear magnetic resonance spectroscopy
8 - multiple fold
9 - http://unafold.rna.albany.edu

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-10-05]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1400.13.1.10.9]

ساختارهای توالی را ایجاد می‌کند که درنهایت ساختاری با حداقل مقادیر انرژی آزاد انتخاب می‌شود [۹].

۷- پیش‌بینی ساختار سوم آپتامر طراحی‌شده

ساختار سوم توالی DNA براساس ساختار دوم مربوطه پیش‌بینی می‌شود [٤۹]. پیش‌بینی ساختارهای سوم توالی ssDNA به بینش ما در مورد ساختار و پویایی سیستم‌های الیگونوکلئوتیدی تک‌رشته‌ای در سطح مولکولی و به غربال‌گری آپتامر کمک می‌کند [۵۰]. از آنجایی که ترکیب اتمی RNA و DNA بسیار شبیه است، بنابراین استفاده از برنامه‌های RNA برای تعیین ساختارهای سوم ssDNA تأیید شده است [۹].

با وجود اینکه الگوریتم‌های فولدینگ RNA به دست‌کاری نیاز دارند و یا از نظر اندازه و توپولوژی به ساختارهای ساده محدود می‌شوند، بسیاری از پژوهشگران با روش‌های مختلف و برنامه‌های FARFAR، BARNACLE، NAST و غیره با این مشکلات مقابله کرده‌اند [۵۱]. مطالعات ساختاری و مقایسه‌ای نشان داده است که ساختارهای RNA تا حد زیادی قابلیت مدلینگ دارند و متشکل از بلوک‌های ساختاری یا موتیف‌های تکراری هستند [۵۲]. موتیف های سه‌بعدی RNA نقش مهمی در تاشدگی‌های RNA و عملکردهای بیوشیمیایی آن دارند. تعیین ساختار موتیف‌های سه‌بعدی درک بهتری از اصول تشکیل ساختارهای پیچیده RNA فراهم می‌کند، همچنین به عنوان پایه‌ای برای کاربردهای زیست‌شناسی مصنوعی و طراحی نانو عمل می‌کند [۵۱].

سرور RNA Composer[10] ابزاری است که دسترسی به آن رایگان است و برای پیش‌بینی خودکار ساختارهای سوم RNA به کار می‌رود [۵۳]. این سرور روشی مبتنی بر الگوی موتیف برای پیش‌بینی ساختارهای پیچیده مانند حلقه‌های چند شاخه و لوپ‌های گره خورده دروغین[11] نیز می‌باشد [۹]. درنهایت، ساختار سوم RNA حاصل را می‌توان در پایگاه داده پروتئین[12] بارگزاری کرد. این فرایند بسته به تعداد اتم تجزیه‌وتحلیل‌شده چند ثانیه طول می کشد [٥٤].

۸- دینامیک مولکولی و ارزیابی آپتامرها

در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی چگونگی حرکت هر اتم در پروتئین یا سایر سیستم‌های مولکولی براساس مدل کلی فیزیک حاکم بر فعل و انفعالات بین اتمی خواهد بود [۵۵]. در شبیه‌سازی با توجه به موقعیت همه اتم‌ها در یک سیستم بیومولکولی (برای مثال یک پروتئین احاطه‌شده به‌وسیله آب و شاید ۱-۲ لایه چربی)، می‌توان نیروی واردشده بر هر اتم به‌وسیله همه اتم‌های دیگر را محاسبه کرد. بنابراین می‌توان از قوانین حرکت نیوتن برای پیش‌بینی موقعیت مکانی هر اتم به‌عنوان تابعی از زمان استفاده کرد [٥٦].

دینامیک مولکولی در بیوتکنولوژی کاربرد زیادی دارد و از کاربردهای آن می‌توان به غربال‌گری آپتامرها اشاره کرد [٤٥]. شواهد تجربی می‌تواند محاسبه‌های in silico دینامیک مولکولی ما را تأیید کند [٤٤]. درواقع انجام شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به‌نسبت ساده است و فقط به چند انتخاب نیاز دارد، برای مثال اینکه از کدام سخت‌افزار محاسباتی استفاده شود. پردازنده‌های گرافیکی به دلیل اینکه شبیه‌سازی سریع را با هزینه کم انجام می‌دهند، گزینه جذابی هستند، اما شبیه‌سازی‌هایی که در ابررایانه‌ها انجام می‌شود، سریع‌تر هستند و امکان دسترسی به واحدهای پردازش مرکزی بیشتر است [٥٦].

از کدام force field استفاده شود؟ رایج‌ترین انتخاب‌ها نسخه‌های مختلف AMBER، CHARMM و OPLS می‌باشد [۵۷]. force field به فرم عملکردی و مجموعه پارامترهای استفاده‌شده برای محاسبه انرژی پتانسیل یک

10 -http://rnacomposer.ibch.poznan.pl/Home

11 -pseudoknotted loops

12 - PDB

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-10-05]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1400.13.1.10.9]

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــــــ

برنامه‌های شبیه‌سازی داکینگ مولکولی قابل اعتماد مختلفی از جمله GRAMM، Hex 235، ZDOCK، HADDOCK، PatchDock، NPDock، AutoDockTools، AutoDock و Vina AutoDock در دسترس هستند [۹].

۹-۱ GRAMM:

این برنامه در یک نسخه قابل دانلود[۱۳] در دسترس عموم است. GRAMM یک الگوریتم مبتنی بر ژئومتری است و از روش اتصال صلب استفاده می‌کند که شامل اتصال بالقوه توالی سه‌بعدی DNA به مولکول هدف، با درنظرگرفتن DNA به‌عنوان یک مولکول ساکن و نیز تغییر مختصات کلی به‌واسطه تغییرات جهت‌گیری و ترجمه‌ای آن است. درنتیجه، براساس میزان مطابقت هندسی بین آپتامر و لیگاند آنها را رتبه‌بندی می‌کند [٦٤].

۹-۲ Hex

برنامه Hex[۱٤] از همبستگی فوریه استفاده می‌کند که سرعت محاسبه‌ها را بسیار افزایش می‌دهد. همچنین امکان پیش‌بینی ماکرومولکول‌ها و کمپلکس‌های بسیار بزرگ را می‌دهد. در نهایت ترکیباتی با کمترین سطح انرژی را به‌عنوان بهترین کمپلکس‌ها در نظر می‌گیرد [٦٥].

۹-۳ ZDOCK

نرم‌افزار ZDOCK[۱٥] ابزاری خودکار است که تمام حالت‌های اتصال احتمالی را در فضای جهت‌گیری و ترجمه‌ای[۱٦] بین آپتامر DNA و مولکول هدف با الگوریتم اتصال صلب جستجو می‌کند. درنهایت نیز حالت اتصال با بالاترین امتیاز به‌عنوان بهینه‌ترین کمپلکس شناسایی می‌شود [٦٦].

۹-٤ HADDOCK

نرم‌افزار HADDOCK[۱۷] براساس الگوریتم اتصال صلب و نیمه‌منعطف کار می‌کند. امتیاز haddock براساس مجموع انرژی‌های بین مولکولی مثل الکترواستاتیک، وان‌دروالس، انحلال‌پذیری و برهم‌کنش‌های مبهم می‌باشد. نرم‌افزار HADDOCK تغییرات ساختاری در آپتامر DNA را قبل از داکینگ آسان می‌کند [٦٧].

۹-٥ PatchDock

PatchDock[۱۸] یک وب سرور مبتنی بر هندسه است و با استفاده از ویژگی موضعی محل جفت‌وجورشدن آپتامر با مولکول هدف کارایی بالایی در تعیین سطح اتصال دارد [٦٨].

۹-٦ NPDock

NPDock[۱۹] وب سرور دیگری برای داکینگ مولکولی ساختار پیچیده پروتئین و اسید نوکلئیک است. سرور NPDock یک رابط کاربری ساده دارد و نتایج را به شکل گرافیکی و سه‌بعدی ارائه می‌دهد [٦٩].

۹-۷ AutoDockTools

پروتکل داکینگ در ADT شامل آماده‌سازی لیگاند و هدف، آماده‌سازی پارامترهای اتصال و امتیازدهی می‌باشد و خروجی‌ها براساس انرژی اتصال، ثابت مهاری[۲۰] و نوع فعل و انفعالات مطلوب مانند پیوندهای هیدروژنی، فعل و انفعالات آبگریز و الکترواستاتیک می‌باشد [۷۰].

13 - http://vakser.bioinformatics.ku.edu/resources/gramm/gramm1
14 - http://hexserver.loria.fr/
15 - https: // zdock.umassmed.edu
16 - translational and rotational space
17 -http://haddock.chem.uu.nl/Haddock
18 - http://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/
19 - http://genesilico.pl/NPDock
20 -inhibitory constant

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-10-05]
[DOR: 20.1001.1.23222115.1400.13.1.10.9]

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــــــ

2. Cai, S., Yan, J., Xiong, H., Liu, Y., Peng, D. and Liu, Z., 2018. Investigations on the interface of nucleic acid aptamers and binding targets. *Analyst*, *143*(22), pp.5317-5338.

3. Lakhin, A.V., Tarantul, V.Z. and Gening, L., 2013. Aptamers: problems, solutions and prospects. *Acta Naturae (англоязычная версия)*, *5*(4 (19)).

4. Li, B.Q., Zhang, Y.C., Huang, G.H., Cui, W.R., Zhang, N. and Cai, Y.D., 2014. Prediction of aptamer-target interacting pairs with pseudo-amino acid composition. *PLoS One*, *9*(1), p.e86729.

5. González, V. M., Martín, M. E., Fernández, G., & García-Sacristán, A. (2016). Use of aptamers as diagnostics tools and antiviral agents for human viruses. *Pharmaceuticals*, *9*(4), 78.

6. Iliuk, A.B., Hu, L. and Tao, W.A., 2011. Aptamer in bioanalytical applications. *Analytical chemistry*, *83*(12), pp.4440-4452.

7. Caroli, J., Taccioli, C., De La Fuente, A., Serafini, P. and Bicciato, S., 2016. APTANI: a computational tool to select aptamers through sequence-structure motif analysis of HT-SELEX data. *Bioinformatics*, *32*(2), pp.161-164.

8. Ueki, R., Atsuta, S., Ueki, A., Hoshiyama, J., Li, J., Hayashi, Y. and Sando, S., 2019. DNA aptamer assemblies as fibroblast growth factor mimics and their application in stem cell culture. *Chemical Communications*, *55*(18), pp.2672-2675.

9. Navien, T.N., Thevendran, R., Hamdani, H.Y., Tang, T.H. and Citartan, M., 2021. In silico molecular docking in DNA aptamer development. *Biochimie*. *180*, pp.54-67.

10. Kang, K.N. and Lee, Y.S., 2012. RNA aptamers: a review of recent trends and applications. *Future Trends in Biotechnology*, pp.153-169.

11. Hamada, M., 2018. In silico approaches to RNA aptamer design. *Biochimie*, *145*, pp.8-14.

12. Ellington, A.D., and Szostak, J.W., 1990. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*, *346*, pp.818–822

13. Colas, P., Cohen, B., Jessen, T., Grishina, I., McCoy, J. and Brent, R., 1996. Genetic selection of peptide aptamers that recognize and inhibit cyclin-dependent kinase 2. *Nature*, *380*(6574), pp.548-550.

14. Colas, P., 2000. Combinatorial protein reagents to manipulate protein function. *Current opinion in chemical biology*, *4*(1), pp.54-59.

15. Sachdeva, S., Joo, H., Tsai, J., Jasti, B. and Li, X., 2019. A rational approach for creating peptides mimicking antibody binding. *Scientific reports*, *9*(1), pp.1-11.

16. Baines, I.C. and Colas, P., 2006. Peptide aptamers as guides for small-molecule drug discovery. *Drug discovery today*, *11*(7-8), pp.334-341.

17. Tuerk, C. and Gold, L., 1990. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *science*, *249*(4968), pp.505-510.

18. Chen, C., Zhou, S., Cai, Y. and Tang, F., 2017. Nucleic acid aptamer application in diagnosis and therapy of colorectal cancer based on cell-SELEX technology. *NPJ precision oncology*, *1*(1), pp.1-7.

19. Ulrich, H., 2006. RNA aptamers: from basic science towards therapy. *RNA towards Medicine*, pp.305-326.

20. Kulbachinskiy, A.V., 2007. Methods for selection of aptamers to protein targets. *Biochemistry (Moscow)*, *72*(13), pp.1505-1518.

21. Marimuthu, C., Tang, T.H., Tominaga, J., Tan, S.C. and Gopinath, S.C., 2012. Single-stranded DNA (ssDNA) production in DNA aptamer generation. *Analyst*, *137*(6), pp.1307-1315.

22. Mascini, M., Palchetti, I. and Tombelli, S., 2012. Nucleic acid and peptide aptamers: fundamentals and bioanalytical aspects. *Angewandte Chemie International Edition*, *51*(6), pp.1316-1332.

23. Wang, W., Hara, S., Liu, M., Aigaki, T., Shimizu, S. and Ito, Y., 2011. Polypeptide aptamer selection using a stabilized ribosome display. *Journal of bioscience and bioengineering*, *112*(5), pp.515-517.

24. Ruscito, A. and DeRosa, M.C., 2016. Small-molecule binding aptamers: Selection strategies, characterization, and applications. *Frontiers in chemistry*, *4*, p.14.

25. Khoshbin, Z., Verdian, A., Housaindokht, M.R., Izadyar, M. and Rouhbakhsh, Z., 2018. Aptasensors as the future of antibiotics test kits-a case study of the aptamer application in the chloramphenicol detection. *Biosensors and Bioelectronics*, *122*, pp.263-283.

26. Hao, L., Duan, N., Wu, S., Xu, B. and Wang, Z., 2015. Chemiluminescent aptasensor for chloramphenicol based on N-(4-aminobutyl)-N-ethylisoluminol-functionalized flower-like gold nanostructures and magnetic nanoparticles. *Analytical and bioanalytical chemistry*, *407*(26), pp.7907-7915.

27. Mehlhorn, A., Rahimi, P., Joseph, Y., 2018. Aptamer-Based Biosensors for Antibiotic Detection: A Review. *Biosensors. 8*(2): 54.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-10-05]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1400.13.1.10.9]

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ــــــ

آپتامر، کاربردها و طراحی ... ــــــ

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــــــ

Biotechnology-Tarbiat Modares University

Aptamer, applications and its design in silico method

Sara Ghahremani[1], Masoumeh Kordi[2*]

1- Msc Student of NanoBiotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Life Sciences & Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
2-PhD Candidate of Biotechnology, Department of Cell & Molecular Biology, Faculty of Life Sciences & Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

*Corresponding author: Ma_kordi@sbu.ac.ir

Receipt: 2021/09/21 Accepted: 2021/02/05

Abstract:
Aptamers are single-stranded sequences of RNA, DNA, or highly specific proteins that tend to bind to a wide range of target molecules. Aptamers are widely used in various fields, especially medicine and diagnostics, and are similar in their application to antibodies. There are many benefits to using aptamer instead of antibodies, such as low cost, longer life, increased tissue permeability, and more. There are several methods for producing aptamer that in silico methods can shorten and simplify the steps of aptamer production. With aptamer modeling, a set of in silico methods such as modeling, docking, and molecular dynamics can be used to screen for the best aptamer sequence. This article briefly reviews the types of aptamers, their structures and applications, and their design methods in silico.

Keywords: Aptamer, DNA, RNA, Protein, insilico

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2024-10-05]

[DOR: 20.1001.1.23222115.1400.13.1.10.9]