

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 DNA، RNA 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، داکینگ 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 به دلیل 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 پلیمرز [۴] و یا غربال یک کتابخانه مصنوعی انجام می‌شود، حال آنکه تولید آنتی‌بادی بیولوژیک است و در رده‌های سلولی و یا در

پیشرفت زیادی داشته‌اند [۱۰]. آپتامرهای ریبونوکلیتیک اسیدی که به صورت اختصاصی برای پروتئین‌های مرتبط با بیماری سنتز شوند، پتانسیل بالایی برای تولید دارو دارند [۱۱]. از آپتامرهای ریبونوکلیتیک اسیدی در آزمایش‌های بالینی استفاده می‌شود، برای مثال آپتامرهای ریبونوکلیتیک اسیدی برای بیماری‌های مختلفی از جمله ویروس نقص ایمنی انسانی ۲، ویروس هپاتیت C^۳ و آنژیوپروتئین تولید شده‌است [۱۲].

۲-۳ آپتامرهای پپتیدی

آپتامرهای پپتیدی برای کاربردهای گسترده‌ای قابل استفاده هستند [۱۳]. طراحی آپتامرهای پپتیدی از ساختار ایمونوگلوبین یا گیرنده‌های سلول‌های T الهام گرفته شده است [۱۴]. آپتامرهای پپتیدی جایگزین بسیار مناسبی برای آنتی‌بادی‌ها محسوب می‌شوند [۱۴]. آپتامرهای پپتیدی واکنش بین مولکول هدف و آنتی‌بادی را تقلید می‌کنند. برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین به اتصال آپتامر کمک می‌کند؛ اتصال آنها از راه پیوندهای هیدروژنی، یونی و نیروهای واندروالس انجام می‌شود؛ از راه این فعل و انفعال‌های پپتید و مولکول هدف با کمترین سطح انرژی به هم متصل می‌شوند [۱۵]. آپتامرهای پپتیدی در برابر طیف وسیعی از پروتئین‌های هدف از جمله تنظیم‌کننده‌های چرخه سلول، پروتئین ویروس، پروتئین کوچک G، گیرنده تیروزین کیناز [گیرنده فاکتور رشد اپیدرم]، عوامل رونویسی و بسیاری پروتئین‌های هدف دیگر ساخته شده‌اند [۱۶].

۳- SELEX

در سال ۱۹۹۰ سه تیم پژوهشی به طور مستقل روش‌هایی را برای تولید مولکول‌های RNA کاتالیزوری متصل به لیگاند از کتابخانه‌های RNA ایجاد کردند، پروسه‌ای که

بدن حیوانات انجام می‌شود [۵]. از مزایای دیگر آپتامر نسبت به آنتی‌بادی کوچک‌تر بودن آن است (10 برابر) که نفوذ آن به بافت را افزایش داده و طول عمر آپتامر در پلاسما را نیز افزایش می‌دهد [۶].

۲- انواع آپتامر

آپتامرها، پپتیدها یا اسید نوکلئیک مصنوعی تک‌رشته‌ای کوتاه (دئوکسی ریبونوکلیتیک اسید، ریبونوکلیتیک اسید) هستند که به دلیل ساختار سه‌بعدی خاص خود به اهداف اختصاصی متصل می‌شوند [۶؛ ۷].

۲-۱ آپتامرهای دئوکسی ریبونوکلیتیک اسیدی (DNA) دئوکسی ریبونوکلیتیک اسیدها به دلیل ثبات حرارتی، قابلیت سنتز در مقیاس بالا و قابلیت برنامه‌ریزی ساختاری، مواد جذابی به شمار می‌آیند [۸]. آپتامرهای دئوکسی ریبونوکلیتیک اسیدی به‌عنوان عاملی با میل ترکیبی بالا برای مولکول‌های هدف مختلف همچون پروتئین‌ها و مولکول‌های کوچک محسوب می‌شوند. تاکنون تعدادی دستگاه نانو DNA تشخیصی برای بیومولکول‌های هدف مختلف براساس آپتامرهای DNA ساخته شده‌اند [۸]. اولین آپتامر دئوکسی ریبونوکلیتیک اسیدی در سال ۱۹۹۲، یک قطعه DNA تک‌رشته ۱۵ نوکلئوتیدی بود که با اتصال به پروتئین ترومبین آن را مهار می‌کرد [۹]. آپتامرهای دئوکسی ریبونوکلیتیک اسیدی نسبت به آپتامرهای ریبونوکلیتیک اسیدی مزایایی همچون سنتز و تکثیر ساده تر، پایداری بیشتری برای استفاده در SELEX (تکامل سیستماتیک لیگاندها با غنی‌سازی نمایی؛ چرخه‌ای برای سنتز شیمیایی آپتامر) دارند [۳].

۲-۲ آپتامرهای ریبونوکلیتیک اسیدی (RNA)

آپتامرهای ریبونوکلیتیک اسیدی برای اولین بار در سال ۱۹۹۰ معرفی شده‌اند. در دهه گذشته آپتامرهای ریبونوکلیتیک اسیدی برای کاربردهای تشخیصی و درمانی

2 - HIV
3 - HCV

1 - Systematic evolution of ligands by exponential enrichment

دور SELEX افزایش پیدا می‌کند و حداکثر میزان غنی‌سازی استخر الیگونوکلوئوتیدی بعد از ۵-۱۵ دور حاصل می‌شود [۲۲]. از آنجا که در SELEX تعداد زیادی توالی اسید نوکلئیک و کتابخانه مورد نیاز 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].

۴- کاربرد آپتامرها

استفاده از آپتامرها در علوم پایه و همچنین کاربرد آنها در علوم پزشکی و تشخیصی رو به افزایش است [۲۳]. آپتامرهای الیگونوکلوئیدی 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، اکسی‌تراسایکلین)، داروها (مت‌آمفامین، کتامین) و سموم (آفلاتوکسین، بروتوکسین) را شناسایی کنند [۲۴].

۱-۴ آپتاسنسور

یکی از جدیدترین و کارآمدترین 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 [۲۶].

۱-۱-۴ کاربرد آپتاسنسور در سنجش میزان آنتی‌بیوتیک

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

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- انکوبه کردن کتابخانه با مولکول هدف؛ ۲- انتخاب دنباله متصل شده؛ ۳- شستشوی دنباله‌های متصل نشده و در نهایت ۴- تکثیر اسیدهای نوکلئیک متصل شده با واکنش زنجیره پلیمرز است [۱۸]. در SELEX، یک الیگونوکلوئوتید به روش شیمیایی سنتز می‌شود که شامل یک منطقه تصادفی مرکزی متشکل از ۱۵-۷۵ موقعیت تصادفی است و در کنار مناطق حفاظت شده، سایت‌های اتصال پرایمر برای رونویسی معکوس قرار دارد [۱۹]. در آپتامرهای RNA، به‌طور معمول از سایت پروموتور T7 به‌عنوان منطقه حفاظت شده استفاده می‌شود و آپتامرها در استخر اصلی RNA از راه رونویسی با T7-RNA پلیمرز در شرایط *in vitro* تولید می‌شود [۲۰].

برای انتخاب آپتامرهای DNA، نخست محصولات دورشته‌ای حاصل از PCR از هم جدا شده و مجموعه‌ای از الیگودنوئوکسی‌ریبونوکلوئوتیدهای تک‌رشته‌ای خواهیم داشت که از DNA دورشته‌ای جدا شده 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-استرپتاویدین، هضم اگزونوکلاز لامبدا و جداسازی براساس اندازه روی ژل الکتروفورز پلی‌اکریل آمید از جمله این روش‌ها می‌باشند [۲۱]. فشار انتخاب در هر

قوی، آسان و حساس مثل بیوسنسورها برای ارزیابی سریع آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد [۲۷]. تاکنون از آپتاسنسورها برای سنجش گروه‌های مختلف آنتی‌بیوتیک مانند بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها، آنتراسایکلین‌ها، کلرامفنیکل، فلونئورو 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 $0.3 \mu\text{g.kg}^{-1}$ تعیین کرده است [۲۶]. در نتیجه در این زمینه به روش‌های ارزیابی حساس، کارآمد، 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].

۲-۱-۴ 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]. آپتامرهای 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 طراحی شده 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].

۳-۱-۴ 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 لوله‌کشی، آب دریا، آب دریاچه، آب رودخانه، همچنین فاضلاب و پساب آن استفاده شده است و نظارت بر کیفیت آب را بهبود داده است [۳۱].

۲-۲ 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

برای تشخیص آلفا توکسین *Bungarus multicinctus* ایجاد کردند [۳۲].

۳-۴ کاربرد آپتامر در تشخیص و درمان سرطان

روش جدید مبتنی بر سلول SELEX (که در آن آپتامر سلول‌های زنده خاص را به‌عنوان هدف شناسایی می‌کند) به‌طور گسترده در کشف نشانگر زیستی، تشخیص زودرس و درمان هدفمند سرطان به‌ویژه در مورد سرطان روده بزرگ کاربرد دارد. سلول‌های سرطانی در سطح غشای خود پروتئین‌های مرتبط با تومور دارند. بنابراین، آپتامرهایی که پروتئین‌های غشایی مرتبط با تومور را هدف قرار می‌دهند، برای تشخیص سرطان و شیمی درمانی کاربرد دارند [۱۸].

از جمله نشانگرهای زیستی سنتی تشخیص سرطان روده بزرگ، CEA و CA19-9 می‌باشد که اختصاصیت کمی دارند و نمی‌توان از آنها برای تشخیص مراحل اولیه بیماری استفاده کرد، درحالی‌که آپتامرها به‌عنوان یک مولکول تخصصی هستند و با هدف‌گیری گیرنده‌ها و نشانگرهای زیستی مختلف در سطح سلول‌های سرطانی روده بزرگ، در تشخیص زودهنگام این سرطان استفاده می‌شوند و همچنین می‌توانند از راه سیستم‌های دارورسانی هدفمند به پزشکان جهت کاهش اثرات سوء داروهای شیمی درمانی کمک کنند [۳۳]. در پژوهش Rhinehardt و همکاران ۲۰۱۵ دینامیک مولکولی آپتاسنسور anti-mucin برای نشانگر زیستی سرطان سینه ارزیابی شد. تجزیه تحلیل مدل‌سازی مولکولی نیز برای درک برهمکنش اتصال آپتامر و پپتید، توسعه حسگرهای زیستی قابل اعتماد و قابل تکرار انجام گرفت [۳۴].

۴-۴ کاربرد آپتامر در تشخیص زودهنگام آلزایمر

به‌عنوان شایع‌ترین علت زوال عقل، بیماری آلزایمر منجر به از دست رفتن حافظه، اختلال شناختی، برخی از انواع ناتوانی جسمی و درنهایت مرگ می‌شود [۳۵]. علاوه بر این وقوع این بیماری به طرز چشمگیری در حال افزایش است و با این حال هنوز هیچ درمانی برای آن وجود ندارد [۳۶]. آمیلوئید بتا ۴۲ (Aβ42) با تجزیه پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید به‌وسیله آنزیم‌های مرتبط تولید می‌شود. در بین ایزوفرم‌های آمیلوئید بتا، Aβ42 که ۴۲ واحد اسیدآمینه دارد، به‌عنوان نشانگر اصلی بیماری آلزایمر شناخته شده است [۳۷]. آمیلوئید بتا تمایل به تجمع زیادی دارد و در شرایط غیرعادی، الیگومرها، فیریل‌ها و پلاک‌های آمیلوئید بتا در مغز تشکیل می‌شود. این اشکال تجمع‌یافته برای سلول‌های عصبی سمی هستند و برخی از این ساختارها مانع انتقال سیگنال عصبی می‌شوند، در نتیجه باعث مرگ سلول‌های عصبی در مغز می‌گردند [۳۸].

در بیشتر پژوهش‌های تشخیصی، به‌طور عمده از آنتی‌بادی‌ها به‌عنوان نشانگر زیستی استفاده می‌شود و نتایج با کیفیتی ارائه می‌کنند. با این حال، آنتی‌بادی‌ها به دلیل مشکلات ایمنی‌زایی و دسترسی ناکافی به بافت، در شرایط آزمایشگاهی بیشتر از *in vivo* استفاده می‌شوند. برای غلبه بر این محدودیت‌ها، کاوشگرهایی با اندازه کوچک‌تر مانند آپتامرهای پپتیدی می‌توانند جایگزین‌های مناسبی برای آنتی‌بادی‌ها باشند [۳۵].

۵- طراحی آپتامر

در ۲۰ سال گذشته، روش‌های محاسباتی بخشی از زیست‌شناسی شده‌اند. روش *in silico* که به محاسبات نظری و شیمی محاسباتی متکی است، برای تعیین ترکیب‌ها در غربال‌گری دارو، شناسایی مکان‌های اتصال آنزیم و مطالعه عملکرد ساختاری پروتئین، به‌طور گسترده استفاده می‌شود و قادر به تعیین جزئیات فعل و انفعال آپتامر-لیگاند است که با روش تجربی قابل بررسی نیست

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^۶ است که به‌وسیله این ساختارها، آپتامرها روی اپی‌توپ‌های سطح پروتئین هدف لنگر می‌اندازند و برخی از خواص فیزیکی- شیمیایی (آب‌دوستی، آب‌گریزی، آنروپی، 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^۷ 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 ۸ mfold است [۴۸]. سرور ۹ mfold ساختارهای ثانویه ssDNA، دمای ذوب و هیبریداسیون را پیش‌بینی می‌کند [۴۸]. mfold کل

[۱]. در مدل‌سازی اسیدنوکلیک 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 داکینگ و دینامیک مولکولی ضرورت دارد [۳۹]. گاهی اوقات، دینامیک مولکولی آپتامرهای اولیگونوکلوئوتیدی با مطالعه‌های مکانیک کوانتومی ترکیبی/ مکانیک مولکولی همراه است [۴۰]. البته می‌توان از روش *in silico* همراه با SELEX و HTS^۴ 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 طراحی شده

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

4 - high throughput selex

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

۷- پیش‌بینی ساختار سوم آپتامر طراحی شده

ساختار سوم توالی DNA براساس ساختار دوم مربوطه پیش‌بینی می‌شود [۴۹]. پیش‌بینی ساختارهای سوم توالی ssDNA به بینش ما در مورد ساختار و پویایی سیستم‌های الیگونوکلوئیدی 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]. موتیف‌های 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^{۱۰} 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 ۱۱ نیز می‌باشد [۹]. در نهایت، ساختار سوم RNA حاصل را می‌توان در پایگاه داده پروتئین ۱۲ بارگزاری کرد. این فرایند بسته به تعداد اتم تجزیه و تحلیل شده چند ثانیه طول می‌کشد [۵۴].

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 وارد شده 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 [۵۶].

دینامیک مولکولی در بیوتکنولوژی کاربرد زیادی دارد و از کاربردهای آن می‌توان به غربال‌گری آپتامرها اشاره کرد [۴۵]. شواهد تجربی می‌تواند محاسبه‌های *in silico* دینامیک مولکولی ما را تأیید کند [۴۴]. در واقع انجام شبیه‌سازی دینامیک مولکولی به نسبت 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 [۵۶].

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

11 -pseudoknotted loops
12 - PDB

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

سیستم از اتم‌ها یا ذرات درشت‌دانه در مکانیک مولکولی، دینامیک مولکولی یا شبیه‌سازی Monte Carlo اشاره دارد. همه میادین نیرو به اشکال عملکردی مشابه تکیه می‌کنند، اما هریک از نقاط قوت و ضعف خاصی برخوردارند، برای مثال CHARMM36m و CGenFF پارامترهایی را برای پروتئین‌ها، لیپیدها و لیگاندهای شبه‌دارو بهینه ساخته‌اند [۵۶]، میدان‌های A99SB-disp-force field که به‌تازگی معرفی شده‌اند، پروتئین‌های نامنظم را به‌خوبی مدل کرده‌اند [۵۷] و OPLS3 بهینه‌ترین پارامترهای لیگاندها را دارند [۵۸].

از کدام نرم افزار استفاده کنیم؟ گزینه‌های معمول AMBER, NAMD, GROMACS, CHARMM, Desmond و OpenMM هستند [۵۶]. نرم‌افزارهای AMBER و CHARMM نباید با زمینه‌های نیروی آمبره و CHARMM اشتباه گرفته شود. بیشتر بسته‌های نرم‌افزاری شبیه‌سازی جدید از چندین force field پشتیبانی می‌کنند. این بسته‌های نرم‌افزاری محاسبه‌های مشابهی را انجام می‌دهند، اما از نظر میزان کارایی در سخت‌افزارهای مختلف و ویژگی‌های پشتیبانی شده (برای مثال روش‌های نمونه‌برداری پیشرفته، طرح‌های کنترل دما و فشار) تفاوت دارند [۵۶]. گرایش زیادی به غربال‌گری آپتامر از راه روش‌های محاسباتی مانند استفاده از شبیه‌سازی مدل‌سازی مولکولی و داکینگ مولکولی وجود دارد. بسیاری از ساختارهای پروتئین-نوکلئیک اسید با استفاده از کریستالوگرافی اشعه ایکس و NMR مشخص شده است که در بانک اطلاعات پروتئین وجود دارند، اما اگر ساختارها به‌طور آزمایشی کشف نشده باشد، وب سرورهایی برای هومولوژی مدلینگ پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک وجود دارد [۴۵].

انتخاب آپتامر می‌تواند یک فرایند طولانی و پرهزینه باشد، به‌ویژه زمانی که پروتئین‌های انسانی هدف قرار داده می‌شود که پروتئین‌های بومی برای آنها گران است و یا از

نظر تجاری در دسترس نیست [۵۹]. برای پایین آوردن هزینه انتخاب آپتامر، به‌طور معمول نسخه نوترکیب یا غیرانسانی معادل آن استفاده می‌شود [۶۰]، تفاوت احتمالی بین پروتئین بومی و پروتئین نوترکیب/ غیرانسانی منجر به انتخاب آپتامری می‌شود که به پروتئین بومی متصل نخواهد شد [۴۵]. در نتیجه شبیه‌سازی دقیق دینامیک مولکولی برای ساختارهای پیچیده با استفاده از CHARMM27 و برنامه GROMACS انجام می‌شود [۶۱].

۹- داکینگ آپتامرهای انتخاب شده

در شبیه‌سازی اتصال بین هدف و آپتامر، چندین فعل و انفعال غیرکووالانسی از جمله فعل و انفعالات یونی، پیوندهای هیدروژنی، نیروهای وان‌دروالس، فعل و انفعالات آبگریز، فعل و انفعالات بین بازها و همچنین مکمل بودن ساختارها ارزیابی می‌شود [۴۴]. در واقع داکینگ مولکولی راهبردی است که شامل شبیه‌سازی واکنش‌های نوکلئیک اسید و مولکول هدف به کمک محاسبات کامپیوتری می‌باشد. بیشتر فرایندهای داکینگ مولکولی روی صحت اتصال بین آپتامر، هدف و مکان‌های اتصال بین آنها تمرکز دارد [۴۳].

الگوریتم‌های اتصال را می‌توان به دو دسته اصلی مانند الگوریتم یادگیری ماشین و الگوریتم مبتنی بر الگو تقسیم کرد. الگوریتم یادگیری ماشین با استفاده از اطلاعات مبتنی بر توالی و ساختار، فعل و انفعالات مولکولی را پیش‌بینی می‌کند. از طرف دیگر، الگوریتم مبتنی بر الگو با بهره‌گیری از اطلاعات ساختارهای بلوری شناخته‌شده آپتامر و مولکول هدف، تعامل را پیش‌بینی می‌کند [۶۲]. علاوه بر شناسایی مکان‌های اتصال بالقوه، حالت‌های اتصال بین آپتامر و هدف را نیز تعیین می‌کند [۲]. قدرت برهم‌کنش آپتامر و هدف به ویژگی‌های ساختاری مولکول‌های هدف و آپتامر وابسته است [۶۳].

بالاترین امتیاز به عنوان بهینه ترین کمپلکس شناسایی می شود [۶۶].

۹-۴ HADDOCK

نرم افزار HADDOCK^{۱۷} براساس الگوریتم اتصال صلب و نیمه منعطف کار می کند. امتیاز haddock براساس مجموع انرژی های بین مولکولی مثل الکترواستاتیک، وان دروالس، انحلال پذیری و برهم کنش های مبهم می باشد. نرم افزار HADDOCK تغییرات ساختاری در آپتامر DNA را قبل از داکینگ آسان می کند [۶۷].

۹-۵ PatchDock

PatchDock^{۱۸} یک وب سرور مبتنی بر هندسه است و با استفاده از ویژگی موضعی محل جفت و جور شدن آپتامر با مولکول هدف کارایی بالایی در تعیین سطح اتصال دارد [۶۸].

۹-۶ 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 سه بعدی ارائه می دهد [۶۹].

۹-۷ AutoDockTools

پروتکل داکینگ در ADT شامل آماده سازی لیگاند و هدف، آماده سازی پارامترهای اتصال و امتیازدهی می باشد و خروجی ها براساس انرژی اتصال، ثابت مهاری ۲۰ و نوع فعل و انفعالات مطلوب مانند پیوندهای هیدروژنی، فعل و انفعالات آبگریز و الکترواستاتیک می باشد [۷۰].

برنامه های شبیه سازی داکینگ مولکولی قابل اعتماد مختلفی از جمله GRAMM، Hex 235، ZDOCK، HADDOCK، PatchDock، NPdock، AutoDockTools، AutoDock، Vina و 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 می کند که شامل اتصال بالقوه توالی سه بعدی DNA به مولکول هدف، با در نظر گرفتن DNA به عنوان یک مولکول ساکن و نیز تغییر مختصات کلی به واسطه تغییرات جهت گیری و ترجمه ای آن است. در نتیجه، براساس میزان مطابقت هندسی بین آپتامر و لیگاند آنها را رتبه بندی می کند [۶۴].

۹-۲ Hex

برنامه Hex^{۱۴} از همبستگی فوریه استفاده می کند که سرعت محاسبه ها را بسیار افزایش می دهد. همچنین امکان پیش بینی ماکرومولکول ها و کمپلکس های بسیار بزرگ را می دهد. در نهایت ترکیباتی با کمترین سطح انرژی را به عنوان بهترین کمپلکس ها در نظر می گیرد [۶۵].

۹-۳ ZDOCK

نرم افزار ZDOCK^{۱۵} ابزاری خودکار است که تمام حالت های اتصال احتمالی را در فضای جهت گیری و ترجمه ای ۱۶ بین آپتامر DNA و مولکول هدف با الگوریتم اتصال صلب جستجو می کند. در نهایت نیز حالت اتصال با

17 - <http://haddock.chem.uu.nl/Haddock>
18 - <http://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/>
19 - <http://genesilico.pl/NPDock>
20 - inhibitory constant

13 - <http://vakser.bioinformatics.ku.edu/resources/gramm/gramm1>
14 - <http://hexserver.loria.fr/>
15 - <https://zdock.umassmed.edu>
16 - translational and rotational space

۹-۸ AutoDock and AutoDock Vina

هر دو برنامه AutoDock^{۲۱} و AutoDock Vina^{۲۲} اتصال را به صورت منعطف انجام می‌دهند [۷۱-۷۲]. AutoDock نسخه بهتری نسبت به AutoDock است و نقشه‌های شبکه و خوشه‌ها را محاسبه می‌کند تا به سرعت و به طور خودکار نتایج حاصل شود [۷۱]. با این حال، عملکردهای امتیازدهی AutoDock Vina و AutoDock به طور کامل مجزا هستند. تابع امتیازدهی AutoDock براساس زمینه‌های مکانیک کلاسیک مولکولی است در حالی که تابع امتیازدهی AutoDock Vina براساس یادگیری ماشین و نه براساس مدل فیزیکی است [۷۲]. از نظر قدرت داکینگ AutoDock Vina از همه روش‌های اتصال مولکولی بهتر است [۹].

۱۰- آینده آپتامر

آپتامرها در دو تا سه دهه گذشته به سرعت تکامل پیدا کرده‌اند که با افزایش چشمگیر پتنت‌ها و ثبت اختراع‌های ایالات متحده در این زمینه به طور کامل مشهود است [۱۰]. آپتامرها این پتانسیل را دارند که جایگزین فناوری‌های مبتنی بر آنتی‌بادی شوند و آپتامرها به دلیل ثبات و قابلیت انعطاف‌پذیری نویدبخش جزء روش‌ها و درمان‌های تشخیصی جدید هستند [۷۳]. ساخت آپتامرها ارزان است و از نظر حرارتی پایدار هستند و پاسخ ایمنی ایجاد نمی‌کنند، می‌توانند سلول‌ها و بافت‌های مضر را با حداقل سمیت مورد هدف قرار دهند. همچنین می‌توان آنها را از نظر شیمیایی اصلاح کرد تا بهبود پیدا کنند [۷۴]. هرچند آپتامرهای درمانی شکست‌های زیادی را در آزمایش‌های بالینی تجربه کرده‌اند، ولی آپتامرهای آنتی‌توکسین، آنتی‌زهر، آپتامر برای باکتری‌ها، ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی مقاوم به چند دارو، انگیزه قوی برای پژوهشگران علاقه‌مند به این زمینه فراهم کرده است [۷۵].

21 - <http://autodock.scripps.edu/resources/references>
22 - <http://vina.scripps.edu>

تاکنون شرکت‌های کمی تأسیس شده‌اند که پلت‌فرم‌های متفاوتی برای کشف و تجاری‌سازی آپتامرها و خدمات آن ارائه می‌دهند. این شرکت‌ها با استفاده از فرایند اتوماسیون و غربالگری توان بالا، نسل جدید توالی‌یابی و یا نوکلئوتیدهای تغییریافته بر محدودیت‌های فناوری آپتامر غلبه کرده‌اند [۷۵]. بنابراین تلاش آیندگان ایجاد آپتامرهایی بهینه با حداقل هزینه و زمان است [۷۶]. استفاده از آپتامرها تا چند سال آینده موضوع داغ پژوهش‌های جالبی خواهد بود [۷۵].

۱۱- نتیجه‌گیری

در این مطالعه به صورت تئوری انواع آپتامرهای DNA، RNA و پروتئینی بررسی شدند. مهم‌ترین پتانسیل آپتامرها این است که جایگزین قدرتمندی برای فناوری‌های مبتنی بر آنتی‌بادی هستند. موارد کاربرد آپتامرها در زمینه‌های مختلف سنجش میزان آنتی‌بیوتیک، تشخیص پاتوژن، تشخیص آلودگی در منابع آبی، خنثی‌کننده زهر، تشخیص و درمان سرطان، تشخیص زودهنگام آلزایمر و غیره است. در طراحی و ارزیابی آپتامر به روش بیوانفورماتیک مجموعه‌ای از نرم‌افزارها و سایت‌ها استفاده می‌شود. طراحی و بررسی آپتامر به روش بیوانفورماتیک مقدار زیادی هزینه‌های کار آزمایشگاهی را کاهش می‌دهد و بسیار زودتر از روش‌های تجربی ما را به آپتامر مطلوب و مناسب می‌رساند. تاکنون شرکت‌های کمی آپتامرها را به صورت تجاری تولید می‌کنند، اما با توجه به کاربردهای گسترده آنها در زمینه‌های مختلف آینده‌ای نویدبخش خواهند داشت.

۱۲- منابع

1. Sabri, M.Z., Hamid, A.A.A., Hitam, S.M.S. and Rahim, M.Z.A., 2019. In-silico selection of aptamer: A review on the revolutionary approach to understand the aptamer design and interaction through computational chemistry. *Materials Today: Proceedings*, 19, pp.1572-1581.

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.
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.

- disease: from synapses toward neural networks. *Nature neuroscience*, 13(7), p.812.
39. Buglak, A.A., Samokhvalov, A.V., Zherdev, A.V. and Dzantiev, B.B., 2020. Methods and Applications of In Silico Aptamer Design and Modeling. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), p.8420.
40. Li, X., Chung, L.W. and Li, G., 2016. Multiscale simulations on spectral tuning and the photoisomerization mechanism in fluorescent RNA spinach. *Journal of chemical theory and computation*, 12(11), pp.5453-5464
41. Hoinka, J. and Przytycka, T., 2016. AptaPLEX-A dedicated, multithreaded demultiplexer for HT-SELEX data. *Methods*, 106, pp.82-85.
42. Antipova, O.M., Zavyalova, E.G., Golovin, A.V., Pavlova, G.V., Kopylov, A.M. and Reshetnikov, R.V., 2018. Advances in the application of modified nucleotides in SELEX technology. *Biochemistry (Moscow)*, 83(10), pp.1161-1172. 135 khudeshe
43. Carothers, J.M., Oestreich, S.C. and Szostak, J.W., 2006. Aptamers selected for higher-affinity binding are not more specific for the target ligand. *Journal of the American Chemical Society*, 128(24), pp.7929-7937.
44. Hu, W.P., Lin, H.T., Tsai, J.J. and Chen, W.Y., 2017. Investigating interactions between proteins and nucleic acids by computational approaches. *Computational Methods with Applications in Bioinformatics Analysis; World Scientific: Singapore*, p.98.
45. Kinghorn, A.B., Fraser, L.A., Liang, S., Shiu, S.C.C. and Tanner, J.A., 2017. Aptamer bioinformatics. *International journal of molecular sciences*, 18(12), p.2516.
46. Kato, T., Takemura, T., Yano, K., Ikebukuro, K. and Karube, I., 2000. In vitro selection of DNA aptamers which bind to cholic acid. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1493(1-2), pp.12-18.
47. Bing, T., Yang, X., Mei, H., Cao, Z. and Shanguan, D., 2010. Conservative secondary structure motif of streptavidin-binding aptamers generated by different laboratories. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 18(5), pp.1798-1805.
48. Zuker, M., 2003. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. *Nucleic acids research*, 31(13), pp.3406-3415.
49. Chen, J.L., Bellaousov, S., Tubbs, J.D., Kennedy, S.D., Lopez, M.J., Mathews, D.H., and Turner, D.H., 2015. NMR-assisted prediction of secondary structure for RNA: Incorporation of
28. Zhao, Y.W., Wang, H.X., Jia, G.C. and Li, Z., 2018. Application of aptamer-based biosensor for rapid detection of pathogenic Escherichia coli. *Sensors*, 18(8), p.2518.
29. Wan, Q., Liu, X., Zu, Y., 2021. Oligonucleotide aptamers for pathogen detection and infectious disease control. *Theranostics*. 11(18): 9133-9161.
30. Raji, Muhabat Adeola; Suaifan, Ghadeer; Shibl, Atef; Weber, Karina; Cialla-May, Dana; Popp, JÃ¼rgen; Al-Kattan, Khaled; Zourob, Mohammed 2021. Aptasensor for the detection of Methicillin resistant Staphylococcus aureus on contaminated surfaces. *Biosensors and Bioelectronics*, 176, 112910. doi:10.1016/j.bios.2020.112910.
31. Zhang, W., Liu, Q.X., Guo, Z.H. and Lin, J.S., 2018. Practical application of aptamer-based biosensors in detection of low molecular weight pollutants in water sources. *Molecules*, 23(2), p.344.
32. Dhiman, A., Anand, A., Malhotra, A., Khan, E., Santra, V., Kumar, A. and Sharma, T.K., 2018. Rational truncation of aptamer for cross-species application to detect krait envenomation. *Scientific reports*, 8(1), pp.1-8.
33. Lu, A.H., Salabas, E.E. and Schüth, F., 2007. Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(8), pp.1222-1244.
34. Rhinehardt, K., Mohan, R., Srinivas, G., Kelkar, A., 2015. Analysis and understanding of aptamer and peptide molecular interactions: Application to mucin 1 (Muc1) aptasensor. *Conferences, International Symposium on Physics and Technology of Sensors*. DOI: 10.1109/ISPTS35749.2015.
35. Kim, S.H., Lee, E.H., Lee, S.C., Kim, A.R., Park, H.H., Son, J.W., Koh, S.H. and Yoon, M.Y., 2020. Development of peptide aptamers as alternatives for antibody in the detection of amyloid-beta 42 aggregates. *Analytical Biochemistry*, 609, p.113921.
36. Wu, W.Y., Dai, Y.C., Li, N.G., Dong, Z.X., Gu, T., Shi, Z.H., Xue, X., Tang, Y.P. and Duan, J.A., 2017. Novel multitarget-directed tacrine derivatives as potential candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 32(1), pp.572-587.
37. Hamley, I.W., 2012. The amyloid beta peptide: a chemist's perspective. Role in Alzheimer's and fibrillization. *Chemical reviews*, 112(10), pp.5147-5192.
38. Palop, J.J. and Mucke, L., 2010. Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's

- for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation. *Journal of chemical theory and computation*, 4(3), pp.435-447.
62. Si, J., Cui, J., Cheng, J. and Wu, R., 2015. Computational prediction of RNA-binding proteins and binding sites. *International journal of molecular sciences*, 16(11), pp.26303-26317.
63. Deng, B., Lin, Y., Wang, C., Li, F., Wang, Z., Zhang, H., Li, X.F. and Le, X.C., 2014. Aptamer binding assays for proteins: the thrombin example—a review. *Analytica chimica acta*, 837, pp.1-15.
64. Katchalski-Katzir, E., Shariv, I., Eisenstein, M., Friesem, A.A., Aflalo, C. and Vakser, I.A., 1992. Molecular surface recognition: determination of geometric fit between proteins and their ligands by correlation techniques. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(6), pp.2195-2199.
65. Ritchie, D.W., 2003. Evaluation of protein docking predictions using Hex 3.1 in CAPRI rounds 1 and 2. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 52(1), pp.98-106.
66. Wang, Q.L., Cui, H.F., Du, J.F., Lv, Q.Y. and Song, X., 2019. In silico post-SELEX screening and experimental characterizations for acquisition of high affinity DNA aptamers against carcinoembryonic antigen. *RSC advances*, 9(11), pp.6328-6334.
67. van Dijk, M. and Bonvin, A.M., 2010. Pushing the limits of what is achievable in protein-DNA docking: benchmarking HADDOCK's performance. *Nucleic acids research*, 38(17), pp.5634-5647.
68. Nussinov, S.D.D.I.Y., 2005. R Wolfson H. *Nucl Acids Res*, 33, pp.W363-W367.
69. Tuszynska, I., Magnus, M., Jonak, K., Dawson, W. and Bujnicki, J.M., 2015. NPdock: a web server for protein-nucleic acid docking. *Nucleic acids research*, 43(W1), pp.W425-W430.
70. El-Hachem, N., Haibe-Kains, B., Khalil, A., Kobeissy, F.H. and Nemer, G., 2017. AutoDock and AutoDockTools for protein-ligand docking: Beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1) as a case study. *In Neuroproteomics* (pp. 391-403). Humana Press, New York, NY.
71. Trott, O. and Olson, A.J., 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), pp.455-461.
72. Tanchuk, V.Y., Tanin, V.O., Vovk, A.I. and Poda, G., 2016. A new, improved hybrid scoring function for molecular docking and scoring direction-dependent 666 chemical shift constraints. *Biochemistry*, 667, pp.1-44.
50. Mortimer, S.A., Kidwell, M.A. and Doudna, J.A., 2014. Insights into RNA structure and function from genome-wide studies. *Nature Reviews Genetics*, 15(7), pp.469-479.
51. Laing, C. and Schlick, T., 2011. Computational approaches to RNA structure prediction, analysis, and design. *Current opinion in structural biology*, 21(3), pp.306-318.
52. Nasalean, L., Stombaugh, J., Zirbel, C.L. and Leontis, N.B., 2009. RNA 3D structural motifs: definition, identification, annotation, and database searching. In *Non-protein coding RNAs* (pp. 1-26). Springer, Berlin, Heidelberg.
53. Heiat, M., Najafi, A., Ranjbar, R., Latifi, A.M. and Rasaei, M.J., 2016. Computational approach to analyze isolated ssDNA aptamers against angiotensin II. *Journal of biotechnology*, 230, pp.34-39.
54. Yarizadeh, K., Behbahani, M., Mohabatkar, H. and Noorbakhsh, A., 2019. Computational analysis and optimization of carcinoembryonic antigen aptamers and experimental evaluation. *Journal of biotechnology*, 306, pp.1-8.
55. Karplus, M. and McCammon, J.A., 2002. Molecular dynamics simulations of biomolecules. *Nature structural biology*, 9(9), pp.646-652.
56. Hollingsworth, S.A. and Dror, R.O., 2018. Molecular dynamics simulation for all. *Neuron*, 99(6), pp.1129-1143.
57. Robustelli, P., Piana, S. and Shaw, D.E., 2018. Developing a molecular dynamics force field for both folded and disordered protein states. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(21), pp.E4758-E4766.
58. Harder, E., Damm, W., Maple, J., Wu, C., Reboul, M., Xiang, J.Y., Wang, L., Lupyan, D., Dahlgren, M.K., Knight, J.L. and Kaus, J.W., 2016. OPLS3: a force field providing broad coverage of drug-like small molecules and proteins. *Journal of chemical theory and computation*, 12(1), pp.281-296.
59. Ladner, R.C., Sato, A.K., Gorzelany, J. and de Souza, M., 2004. Phage display-derived peptides as therapeutic alternatives to antibodies. *Drug discovery today*, 9(12), pp.525-529.
60. 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.
61. Hess, B., Kutzner, C., Van Der Spoel, D. and Lindahl, E., 2008. GROMACS 4: algorithms

75. Bruno, J. G., 2015. Predicting the Uncertain Future of Aptamer-Based Diagnostics and Therapeutics. *Molecules*, 20, 6866-6887.

76. Yan, J., Xiong, H., Cai, S., Wen, N., He, Q., Liu, Y., Peng, D. and Liu, Z., 2019. Advances in aptamer screening technologies. *Talanta*, 200, pp.124-144.

based on AutoDock and AutoDock Vina. *Chemical biology & drug design*, 87(4), pp.618-625.

73. Hashemi, M., Shamsiri, A., Saeedi, M., Tayebi, L. and Yazdian-Robati, R., 2020. Aptamer-conjugated PLGA nanoparticles for delivery and imaging of cancer therapeutic drugs. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, p.108485.

74. Zhang, Y., Lai, B.S. and Juhas, M., 2019. Recent advances in aptamer discovery and applications. *Molecules*, 24(5), p.941.

Aptamer, applications and its design in silico method

Sara Ghahremani¹, 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