آپتامرها و کاربردهای بیولوژیکی– درمانی آن ها

سیدمصطفی حسینی ذیجود[۱]؛ صادق زارعی[۲]؛ حسن قاسمی[۱]؛ مهدی محمودی[۳]؛ رقیه عباسعلی پورکبیر[۲]*

چکیده

آپتامرها توالی های تک رشته‌ای سنتزی RNA یا DNA (اخیرا، پتیدی) هستند که به ساختارهای دوم و سوم فولد می شوند و با اختصاصیت فوق‌العاده زیاد به اهداف معینی متصل می گردند. اولین بار آپتامرها در سال ۱۹۹۰ ارائه شدند، خصوصیات بی نظیر آنها باعث شده موثرتر از آنتی بادیها عمل نمایند. آپتامرها عموما از طریق فرایند آزمایشگاهی Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment (SELEX) از یک کتابخانه، غربال و انتخاب می شوند که می توانند به هر مولکول هدفی (از یونهای معدنی کوچک تا سلولهای کامل) متصل شوند. آپتامرها، زمانی که انتخاب شدند، طی فرایند Polymerase) PCR chain Reaction) تکثیر شده تا مقادیر زیادی از آنها با خلوص بالا تهیه شود. ساختار شیمیایی ساده آپتامرها آنها را پذیرای اصلاحات کاربردی بیشتر با توجه به هدف های مختلف می‌نماید. بالاخره آپتامرها بسیار پایدارتر از آنتی بادیها هستند که آنها را مناسب و سازگار برای شرایط دشوار (مثل بالا بودن دما) می نماید. مطالعات و کشفهای روبه رشدی در زمینه کاربردهای آپتامرها همانند تشخیص و درمان در حال انجام است. احتمالا در آینده ای نزدیک آپتامرها استفاده فزاینده‌ای هماهنگ با دیگر مولکولهای درمانی پیدا کند.

در مقاله مروری حاضر دلایلی که چرا آپتامرها جایگزین مناسبی برای آنتی بادیها هستند بیان شده است. بعلاوه کاربردهای آپتامرها مانند ابزار تشخیصی، درمانی، تصویربرداری زیستی و تحویل دارو معرفی شده است. در ادامه چندین نوع از فرایندهای انتخاب in vitro با جزئیات توصیف گردیده است.

کلمات کلیدی: آپتامر، آنتی بادی، سیستم تحویل دارو، Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment (SELEX).

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۲. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۳. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

*** عهده‌دار مکاتبات:**

Email: abbasalipourkabir@yahoo.com

مقدمه

آپتامرها، الیگونوکلئوتیدهایی از جنس مولکولهای تک رشته ای RNA و ssDNA یا مولکولهای پپتیدی هستند که بعلت ساختار سه بعدی خاصشان می توانند با اختصاصیت و تمایل بالا به اهدافشان متصل شوند (۱).

مفاهیم اتصال نوکلئیک اسیدها با پروتئین ها در دهه ۱۹۸۰ با تحقیق روی ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV) و آدنوویروس آغاز شد. این ویروسها تعدادی RNA کوچک را کد می کنند که به پروتئینهای سلولی یا ویروسی با تمایل و اختصاصیت بالا متصل می شوند. در مورد HIV یک لیگاند کوتاه از جنس RNA بنام عنصر

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

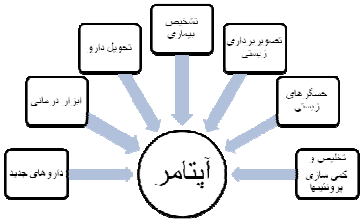
TAR (trans-activation response) همانندسازی ویروسی را با اتصال به پروتئین Tat ویروسی ترغیب میکند (۲). آدنوویروس نیز یک آپتامر RNA ای کوتاه (VA-RNA) دارد که ترجمه را تنظیم می نماید (۳). مطالعات معتبر فراوانی روی آپتامرها انجام گرفت تا اینکه فرایند انتخاب در محیط آزمایشگاه (in vitro) اولین بار در سال ۱۹۹۰ توسط گروه محققین Gold و گروه Szostak، Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment (SELEX) نامیده شد (٤, ٥). با گسترش SELEX که امروزه یک تکنیک پایه‌ایی برای جداسازی آپتامرهاست، بسیاری از آپتامرها مستقیماً بصورت in vitro علیه اهداف مختلف از بیومولکولهای کوچک گرفته تا پروتئینها و حتی سلولها انتخاب می گردند (٦).

امروزه آپتامرها در دو کلاس عمده آپتامرهای DNA/RNA و آپتامرهای پپتیدی تقسیم بندی میشوند. آپتامرهای DNA/RNA الیگونوکلئوتیدهای تک رشته-ایی با وزن مولکولی ٤٠-٥ کیلودالتون هستند که میتوانند به ساختارهای سه بعدی مناسب فولد شده و به مولکولهای هدف با اختصاصیت و تمایل بالا متصل شوند. کتابخانه مولکولهای RNA تک رشته‌ایی با رونویسی in vitro از الگوی DNA دو رشته‌ای با استفاده از RNA پلی مراز T7 نوترکیب تهیه میشود و کتابخانه DNA تک رشته‌ای اغلب با جداسازی محصولات دو رشته‌ای PCR تهیه می گردد (۷, ۸). DNA آپتامرها پایداری بیشتری از RNA آپتامرها داشته و معمولا ساختار G-Quartet دارند، از طرفی انعطاف پذیری RNA آپتامرها برای فولدهای مناسب بیشتر است.

آپتامرهای پپتیدی، از یک لوپ پپتیدی متغیر که در انتها به یک داربست پروتئینی اتصال دارد تشکیل شده است (۹). این لوپ متغیر معمولا از ۱۰ تا ۲۰ اسیدآمینه تشکیل شده، در حالیکه داربست پروتئینی میتواند هر پروتئینی با حلالیت مناسب باشد. در مواردی که کل پروتئین در دسترس نیست یا زمانیکه هدف موردنظر یک دومن یا سایت خاص پروتئین است، تکه‌ها یا دومین‌های پروتئینی یا پپتیدی نیز می تواند برای ایجاد آپتامر بکار روند. اولین گزارش در مورد آپتامر پپتیدی در سال ۱۹۹٦ ارائه شد که آپتامرهای پپتیدی اپی‌توپ‌های مختلف سطحی کینازهای وابسته به سیکلین ۲ را شناسایی نمودند (۱۰). در مقایسه با آپتامر DNA/RNA، آپتامرهای پپتیدی هنوز در ابتدای راه هستند.

آپتامرهای پیشرفته بطور اولیه بعنوان ابزار درمانی و تشخیصی مطرح شدند. آغاز استفاده از آپتامرها بعنوان درمان در سال ۱۹۹۰ بود، اما ۱۵ سال طول کشید تا اولین آپتامر درمانی به بهره برداری بالینی برسد. تاکنون Macugen تنها آپتامر دارویی تایید شده توسط سازمان غذا و دارو (FDA) بوده که در سال ۲۰۰٤ به بازار عرضه گردیده است. Macugen یک آپتامر اختصاصی فاکتور رشد اندوتلیال رگی (VEGF) برای درمان neovascular (wet) age-related macular degeneration (AMD) است (۱۱). در حال حاضر آپتامرها برای درمان ماکولار دجنریشن (macular degeneration)، سندرم کرونری حاد، اختلال مربوط به فاکتور ون ویلبراند، سندرم ون هیپل لیندا، انژیوماس، لوکمی میلوئید حاد، سرطان سلول کلیوی، سرطان ریه، پورپورای ترومبوسیتوپنیک ترومبوتیک، دیابت نوع ۲، نفروپاتی، لوپوس و همچنین آپتامرهایی علیه ویروسها در مراحل مختلف توسعه و بالین هستند، بنابراین آینده روشنی برای آپتامرها بعنوان عوامل درمانی در پیش است (۱). تکنولوژی آپتامر بعنوان یک تکنولوژی معتبر و موثر گسترش یافته و مطالعات زیادی از کاربردهای آپتامرها انجام گرفته است و امروزه آپتامرها در جنبه های مختلف بعنوان یک ابزار تشخیصی و درمانی، در گسترش داروهای جدید و سیستمهای تحویل دارو و غیره بکار می روند (۱) (شکل-۱).

شکل ۱: کاربردهای مختلف آپتامرها



[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

مقایسه آپتامر با آنتی بادی

استفاده از آنتی بادیها بعنوان معروفترین دسته مولکولها برای تشخیص مولکولی در طیفی وسیع، برای بیش از سه دهه کاربرد داشته است. آپتامرها با سرعت و بطور گسترده جانشین آنتی بادیها شدند، زیرا این مولکولها نقایص آنتی بادی را نداشتند. مزایای آپتامرها در مقایسه با آنتی بادی در ذیل آورده شده و در جدول۱ نیز اشاره گردیده است (٦).

پایداری بالای آپتامرها: واضح است که پروتئین به آسانی در دماهای بالا ساختار سوم خود را از دست داده و دناتوره می شود، درحالیکه الیگونوکلئوتیدها در این شرایط پایدار بوده و حتی ساختارهای خود را طی چرخه‌های متعدد دناتوره/رناتوره حفظ میکنند. بنابراین مهمترین فایده آپتامرهای الیگونوکلئوتیدی نسبت به آنتی بادی های پروتئینی پایداری آنها در دمای بالاست. آپتامرها بعد از کاهش دما می توانند ساختار طبیعی خود را بدست آورده و با اختصاصیت به اهداف متصل شوند، در حالیکه آنتی بادیها دچار دناتوراسیون غیرقابل برگشت می شوند (۱۲). بنابراین آپتامرها در شرایط مختلف سنجش می تواند مورد استفاده قرار گیرند.

تولید آپتامرها (سنتز/اصلاح): شناسایی و تولید آنتی بادی مونوکلونال فرایند بسیار وقت گیر و گرانی محسوب می شود که مستلزم غربالگری تعداد زیادی کلونی می باشد. به علاوه موفقیت بالینی آنتی بادیها نیاز ضروری برای تولید انبوه با هزینه های گزاف در کشت سلولی پستانداران را ایجاد می نماید (۱۳). از طرفی سنجش‌های ایمنی برای تایید فعالیت آنتی بادیها در هر دسته (batch) الزامی است، زیرا یک آنتی بادی با توجه به دسته، عملکرد متفاوتی خواهد داشت. در حالی که آپتامرها زمانیکه انتخاب شوند می توان آنها را در مقادیر بالا و با دقت و تکرار پذیری فراوان توسط واکنش شیمیایی سنتز نمود. این فرایندهای شیمیایی ارزانتر از تولید آنتی بادیها مونوکلونال خواهد بود، بعلاوه آپتامرها براحتی با واکنش های شیمیایی متنوع قابل اصلاح هستند تا پایداری و مقاومت در برابر نوکلئازها در آنها افزایش یابد (١٤, ١٥).

ایمنی‌زایی پائین آپتامرها: آپتامرها معمولا مولکولهایی با سمیت و ایمنی‌زایی پائین هستند. چون نوکلئیک اسیدها توسط سیستم ایمنی انسان بعنوان عوامل خارجی شناسایی و تلقی نمیشود، در حالیکه آنتی بادیها بسیار ایمنی‌زا بوده که مانع تکرار تجویز می شوند (١٦). در سال ۲۰۰۲ نشان داده شد که آپتامر اختصاصی VEGF ارائه شده به میمونها با دوزهای بسیار بالاتر، ایمنی زایی پائینی ایجاد می‌کند (۱۷).

تنوع هدف: از میان مولکولهایی که پاسخ ایمنی قوی ایجاد نمی کنند، شناسایی و تولید آنتی بادی ها دشوار است، اما آپتامرها در تعداد و مقادیر کافی قابل تولید هستند. بعلاوه آپتامرها اختصاصیت و تمایل بالایی برای برخی لیگاندها مانند یونها و مولکولهای کوچک نشان می دهند که به هیچ وجه توسط آنتی بادی ها شناسایی نمی شوند، بنابراین آپتامرها می توانند بعنوان اجزا تشخیصی با کاربردهای وسیع در زمینه بیوسنسرها بکار گرفته شوند (۱۵).

براساس فوایدی که ذکر شد آپتامرها بعنوان گزینه مناسب در بسیاری کاربردهای بیولوژیک جایگزین آنتی بادیها هستند. البته ناگفته نماند که آپتامرها محدودیتهایی نیز دارند (۱۸) که در جدول ۱ تا حدودی به آن اشاره شده است.

کاربردهای بیولوژیکی و درمانی آپتامرها

کاربردهای آپتامرها در زمینه درمان:

در این بخش به آپتامرهایی که در حیطه درمان وارد شده اند و در فازهای مختلف بالینی هستند اشاره می شود، برای مطالعات تکمیلی میتوان به منابع مراجعه نمود. همانطور که گفته شد Macugen توسط Pfizer و Eyetech ابداع گردید که هم اکنون بطور تجاری برای درمان AMD در دسترس است. این داروی آپتامری کانژوگه با پلی اتیلن گلیکول، نوکلئیک اسید تک رشته

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

ایی با اختصاصیت برای VEGF 165 است که نقش حیاتی در رگ زایی و نفوذپذیری دارد (۱۹).

REG1 بعنوان داروی آپتامری جدید با خاصیت ضدانعقادی ابداع گردید. این داروی آپتامری در فاز۲ سنجش بالینی است. REG1 از ۲ جز RB006 (آپتامر اختصاصی فاکتور انعقادی۹) و RB007 (آنتی‌دوت الیگونوکلئوتیدی آپتامر RB006) تشکیل شده است (۲۰). RB006 یک آپتامر ۲ ریبوپورین/۲ فلوروپیریمیدینی است که به پلی اتیلن گلیکول ٤۰ کیلودالتونی کونژوگه شده تا آپتامر را علیه تجزیه شدن توسط نوکلئاز حفاظت کند.

بسیاری از داروهای مبتنی بر آپتامر از قبیل AS1411 (یک آپتامر اختصاصی نوکلئین) برای لوکمی حاد میلوئید، ARC1779 (یک آپتامر اختصاصی فاکتور ون ویلبراند) برای بیماری شریان کاروتید و NU172 (یک آپتامر اختصاصی ترومبین) برای ضد انعقاد در مراحل مختلف سنجش های بالینی هستند (۲۱-۲۷). لیستی از این آپتامرهای درمانی در جدول ۲ آمده است.

مصرف in vivo آپتامرها کاملاً وابسته به موقعیت مولکول هدف است. برای هدفهای خارج سلولی براحتی میتوان با مداخله رگی آپتامر را تحویل داد، مانند آپتامرهای درمانی علیه پروتئینهای ویروسی (۲۸)، فاکتورهای رشد (۲۹)، هورمونها (۳۱)، مولکولهای التهابی (۸) و فاکتورهای انعقادی (۳۳). از طرفی بسیاری از آپتامرها علیه اهداف داخل سلولی که اکثر پروتئینها و تا حدی نوکلئیک اسیدها در پاتولوژی مختلف هستند تولید شده‌اند (۳۰). برخی آپتامرها هم فقط به هدفهایی که در غشای سلول قرار گرفته اند مانند آنتی ژنهای غشایی گلیکوپروتئینهای گیرنده تیروزین کینازی و غیره متصل میشوند (۳۱).

کاربرد آپتامرها در سیستم تحویل دارو:

از مشکلات عمده در شیمی‌درمانی برخی سرطانها، میتوان به انواع مختلفی از مقاومت دارویی، سمیت دارویی و تعاملات ناخواسته دارویی اشاره نمود. روند گسترش داروهای جدید نیز به کندی پیش می رود. از دلایل این امر میتوان به جذب ضعیف، سرعت بالای متابولیسم و حذف داروهای دهانی که منجر به حلالیت کم دارو و غلظتهای کم یا متغیر آن در خون میگردد، اشاره نمود. دسترسی زیستی غیرقابل پیش بینی داروهای دهانی بعلت سمیت غذایی و بافتی از علل دیگر است. بنابراین روشهای نوین ارائه دارو مانند سیستم مناسب حامل دارو برای غلبه بر این مشکل لازمست. هدف یابی بافتها و ارگانهای بیمار بدن یکی از مهمترین چالشهای سیستمهای تحویل دارو است (۳۲, ۳۳). هدف عمده سیستمهای جدید تحویل دارو بهبود کارایی ضدتوموری دارو و کاهش اثرات سمی آنها بر بافتهای نرمال می باشد. برای مثال تاموکسیفن بعنوان یک مولکول آنتی استروژن و داروی هیدروفوب قوی به تازگی به فرم کپسول در سیستم تحویل داروی کولوئیدی درآمده و بر غده توموری پستانی القا شده در موش با تزریق داخل صفاقی موثر بوده است (۳٤, ۳۵).

سیستم دیگر که اخیرا برای تحویل داروها به داخل سلولها مورد بهره برداری قرار گرفته اند آپتامرهایی می باشند که به گیرنده های سطحی سلول متصل شده و بداخل سلول کشیده می شوند. SiRNA ها امروزه بعنوان کلاس جدیدی از درمانها برای بیماری های مختلف مورد توجه قرار گرفته اند. نقش siRNA القا مسیر RNAi است که بیان یک ژن خاص را تنظیم می کند. تحویل امن، اختصاصی و کارای siRNA بداخل سلولهای خاص برای اهداف درمانی از اهمیت فوق العاده ایی برخوردار است. گروه محققین Levy یک کونژوگه آپتامر-siRNA را از طریق پل واسطه استرپتوآویدین با استفاده از یک آپتامر Anti-PSMA برای سلولهای سرطان پروستات (LNCaP) معرفی نمودند (۳٦). این کونژوگه بداخل سلولهای LNCaP طی سی دقیقه اضافه شده و مهار بیان ژن بواسطه siRNA بطور موثر مشاهده گردید. PSMA (آنتی ژن غشایی اختصاصی پروستات) مارکر مهم سرطان پروستات است (۳۱).

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

کاربرد آپتامرها در تصویربرداری زیستی (Bioimaging):

کاربرد دیگر آپتامر تصویربرداری زیستی است، استفاده از آپتامر کونژوگه شده با فلورفور، QD (quantum dot) یا دیگر مواد مانند گادولینیوم، برای MRI مفید است. استفاده از آپتامرها بعنوان عوامل تصویربرداری مزیت غیر سمی بودن را دارد، چون الیگونوکلئوتیدها بطور طبیعی در بدن انسان وجود دارند. بعلاوه چون آپتامرها اختصاصیت بالایی برای اهدافشان دارند (هدف‌یابی دقیق) و بسرعت در جریان خون منتشر می شوند، استفاده از این مولکولها میتواند اعتبار نتایج حاصله طی آنالیزهای بالینی یا تشخیصی را افزایش دهد. بر اساس این فواید آپتامرها بعنوان عوامل تصویربرداری برای تصویربرداری سلول و برای تصویربرداری پروتئین منفرد در حال بررسی هستند (۳۷).

گروه Kim نتایج تصویربرداری سلول C6 را با استفاده از آپتامر AS1411 نشاندار باCy3 که حاوی یک اصلاح شیمیایی ۵-(N-بنزیل کربوکسامید)-۲داکسی یوریدین روی باز تیمیدین است را گزارش کردند (۳۸). آپتامر AS1411 برای پروتئین ترانس ممبران نوکلئین در سلولهای سرطانی اختصاصی است. گروه Kim تمایل اتصال آپتامر به هدفش را از طریق اصلاح شیمیایی ارتقا دادند. تصویربرداری سلول توسط آپتامر اصلاح شده AS1411 نشاندار با cy3 برای سلولهای C3 نسبت به آپتامر اولیه (AS1411 نشاندار با Cy3 که اصلاح نشده) کاراتر است.

علاوه بر این موارد، یک آپتامر اختصاصی برای p68 در تومورهای کبد و یک آپتامر اختصاصی برای سلولهای سرطان ریه (SCLC) بعنوان پروب بالقوه تصویربرداری زیستی معرفی گردیده است (۳۷, ۳۹) .

کاربرد آپتامرها در آنالیز وسترن بلات:

آنالیز وسترن بلات یک تکنیک آنالیتیکی رایج است که برای کمی‌سازی پروتئینهای خاص بکار می رود. فرایند این تکنیک شامل مراحل سخت و پیچیده‌ایی است و نیاز به معرف های زیاد و نیز دو نوع آنتی بادی دارد. امروزه شرکتهای زیادی وجود دارند که آنتی بادی های اختصاصی علیه ده‌هاهزار پروتئین مختلف فراهم نموده اند. گروه Hah یک استراتژی وسترن بلات جدید مبتنی بر آپتامر طراحی کرده‌اند که کل فرایند را به یک مرحله کاهش داده است و به آسانی پروتئین هدف را با استفاده از یک آپتامر تشخیص میدهد. به جای ۲ نوع آنتی بادی، آپتامر RNAیی کونژوگه با QD اختصاصی برای -His Tag بکار گرفته شد. این روش مزایای زیادی همچون کم شدن زمان فرایند، عدم نیاز به آنتی بادی یا p۳۲ دارد که امکان تشخیص های پیچیده را فراهم میکند (۴۰) .

کاربرد آپتامرها در کروماتوگرافی تمایلی:

کروماتوگرافی تمایلی بعنوان یک تکنیک رایج آزمایشگاهی در بسیاری زمینه های تخصصی کاربرد دارد که متکی بر تعامل بین یک آنتی ژن و یک آنتی بادی برای تخلیص پروتئینهای هدف است. استفاده از یک آپتامر در کروماتوگرافی مزیتهای زیادی نسبت به آنتی بادی دارد، از جمله می توان تمایل و اختصاصیت بالاتر به هدف، اندازه کوچکتر، تثبیت و اصلاح دقیقتر، پایداری بهتر، تکرارپذیری بیشتر نام برد. گروه Drolet یک سیستم کروماتوگرافی تمایلی آپتامر برای L-سلکتین انسانی ابداع نمودند. پروتئین نوترکیب تلقیحی ایمونوگلوبین-L سلکتین انسانی بطور موفقیت آمیز از محیط کشت سلولی تخمدان همستر چینی با استفاده از ستون تمایلی آپتامر تخلیص شد (۴۱) .

بعلاوه گروه Le یک کروماتوگرافی تمایلی ساندویچی آپتامر با استفاده از دو آپتامر که اختصاصیت و انتخاب پذیری بالاتری برای ترومبین داشت ابداع نمودند (۴۲).

کاربرد آپتامرها در ALISA :

الایزا یکی از تستهای تشخیصی بالینی رایج، برای تشخیص تقریبا هر پپتید یا پروتئینی با اختصاصیت بالا است. در یک نوع از الایزا معروف به ساندویچ، همزمان از دو آنتی بادی یا پروتئین گیرنده متصل شونده به آنالیت

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

برای تشخیص آنالیت یا هدف استفاده می شود. aptamer-linked immobilized sorbent assay (ALISA) توسط گروه Kiel معرفی گردید که در این سنجش از آپتامرها استفاده گردید. آنها در مطالعه‌ایی مقایسه دو روش ELISA و ALISA را انجام دادند. قابل ذکر است که آپتامرها محدودیتهای آنتی بادیها را ندارند (۲۰) .

مطالبی که در بالا ذکر شد از زمینه هایی است که آپتامرها در آن وارد شده و بکار گرفته شده است. مطالعات در این زمینه ها به سرعت در حال پیشرفت است اما با این وجود چالشهایی پیش روی آپتامرها وجود دارد.

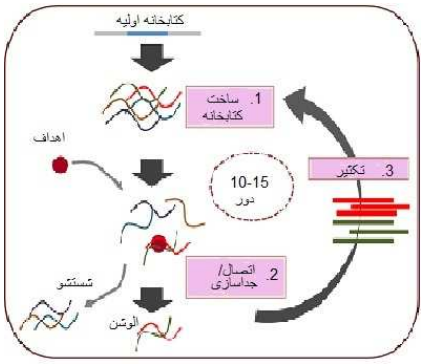
فرایند Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment (SELEX):

تولید آپتامر برای اهداف درمانی طی چندین مرحله انجام میگیرد. نوکلئیک‌اسیدهای بیولوژیکی می توانند با یکدیگر بر اساس یک کد ساده هیبرید شوند و اشکال پیچیده‌ایی را بعنوان داربست برای تعاملات مولکولی و تشکیل کمپلکس با پروتئین‌ها و دیگر اهداف کوچک مولکول فراهم آورند (۴۳, ٤٤). به تازگی پیشرفت‌های تکنولوژی زمینه ابداع روشهای تکاملی in vitro برای کشف الیگونوکلئوتیدهای غیربیولوژیکی که بتواند به اهداف پروتئینی متصل شود را فراهم نموده است. پیشرفت در روشهای صنعتی سنتز DNA، تولید مقادیر زیاد الیگوداکسی نوکلئوتیدها را میسر ساخته است. تکنیک PCR اجازه تکثیر مقدار کم مولکولها به مقادیری که به آسانی دستکاری شود را فراهم نموده است، زمانیکه این پیشرفتها با هم همراه شدند SELEX ابداع گردید. لیگاندهای نوکلئیک‌اسیدی که با SELEX تولید شدند آپتامر نامیده شد. آپتامر از لغت لاتین Aptus به معنای Fit to گرفته شده است (٤٥). آپتامرها از معدود گروه مولکولها هستند که می توانند به اهداف مختلف متصل شوند. از زمان ابداع SELEX در سال ۱۹۹۰ محققان آپتامرهایی با تمایل بالا برای اهداف متنوع خانواده‌های پروتئینی مانند سیتوکینها، پروتئازها، کینازها، گیرنده های سطح سلولی و مولکولهای چسبان سلولی شناسایی نموده اند (۷, ۱۸, ٤٦).

همانطور که گفته شد SELEX یا انتخاب in vitro تکنیکی است که برای جداسازی آپتامرها با تمایل بالا برای یک هدف معین از کتابخانه‌ای حاوی حدود ۱۰۱۲ تا ۱۰۱۵ الیگونوکلئوتید ترکیبی بکار می رود. فرایند SELEX متشکل از سه مرحله است که تکرار میشود تا نوکلئوتیدهای که بهتر به هدف متصل میشوند جستجو و یافت شوند (شکل ۲)(٤٧).

مرحله اول (ایجاد کتابخانه) است، یک کتابخانه حاوی نوکلئوتیدهای تک رشته‌ایی که متشکل از مناطق توالی رندم معمولا ٤٠-۳۰ نوکلئوتیدی و ختم شده به جایگاه اتصال پرایمر می باشد. در مرحله دوم (اتصال و جداسازی) اجزای کتابخانه‌ای متصل به هدف از اجزای غیر متصل جدا می شوند، معمولا این مرحله با چندین روش دیگر همراه است تا انتخاب هدف یا کتابخانه آسان و سریع انجام گیرد. در پایان، در مرحله سوم (تکثیر) اجزای متصل به هدف کتابخانه با PCR تکثیر شده تا یک کتابخانه جدید برای استفاده در دور بعد ایجاد شود. این مراحل ۱۰ تا ۱۵ مرتبه تکرار می شود تا آپتامرها گسترش یافته و خصوصیاتشان توسط سنجش های بیولوژیکی متنوع شناسایی شود.

شکل۲: تصویری از سه مرحله فرایند SELEX.



[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

انواع SELEX

SELEX مبتنی بر فیلتراسیون غشای نیتروسلولزی:

غشای نیتروسلولزی معمولاً برای تثبیت پروتئین‌ها در وسترن بلات و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) بکار میرود، که تثبیت آسان و سریع پروتئین‌ها با تمایل غیراختصاصی برای اسیدهای آمینه را فراهم میکند. در سال ۱۹٦۸ یک روش با استفاده از غشا نیتروسلولزی توسط گروه Kramlova برای جداسازی سریع یک پروتئین از مولکولهای RNA بکار گرفته شد (٤۸). این روش بعنوان یک ابزار تحقیقاتی برای جداسازی پروتئین-ها از دیگر اجزا و برای تثبیت پروتئینها می باشد که می تواند با دیگر بیومولکولها واکنش دهد. زمانیکه روش SELEX اولین بار توسط گروه Gold ابداع شد آپتامر علیه DNA پلیمراز T4 با استفاده از استراتژی که مبتنی بر غشا نیتروسلولزی بود بدست آمد. چون اهداف در مراحل اولیه SELEX پروتئینی بودند یک غشا سلولزی طی مرحله جداسازی بکار گرفته شد. این غشاها برخی محدودیتها از قبیل ناتوان بودن در اتصال به پپتیدها و مولکولهای کوچک را داشتند.

SELEX مبتنی بر کروماتوگرافی تمایلی:

کروماتوگرافی تمایلی روشی برای جداسازی اجزا از یک مخلوط بیوشیمیایی است. این تکنیک ابتدا برای تلخیص پروتئینهای نوترکیب براساس تعاملات بیولوژیکی اختصاصی بالا (مانند تعامل بین یک لیگاند و گیرنده یا یک آنتی‌بادی و آنتی‌ژن) بکار رفت. فاز ثابت معمولا از دانه‌های آگارز تشکیل شده و این دانه‌ها داخل یک ستون برای فرایندهای شستشو پک شده‌اند. کروماتوگرافی تمایلی در مراحل اتصال و جداسازی SELEX، در انتخاب اجزای کتابخانه‌ایی که برای هدف تمایل دارند با تثبیت مولکولهای هدف روی دانه‌ها مشارکت می کند. در مورد تثبیت پروتئینها، برچسب های مختلف مانند گلوتاتیون s-ترانسفراز و هیستیدین بکار می رود و در مورد مولکولهای آلی کوچک اهداف بطور کووالانسی از طریق یک واکنش شیمیایی مانند کوپل شدن با EDC روی دانه ها تثبیت می شوند (٤۹). بنابراین SELEX برای مولکولهای کوچک مانند پروتئینها می تواند از این روش بهره ببرد، چندین آپتامر با استفاده از این روش انتخاب شده اند (۵۰, ۵۱). اگرچه ایراد این روش اینست که نمیتوان برای اهدافی که تمایل کمی دارند و یا در مواردیکه گروه کاربردی برای کوپل شدن به دانه ها ضروریست، مورد استفاده قرار گیرند.

SELEX مبتنی بر الکتروفورز موئینه‌ای (CE):

الکتروفورز موئینه‌ای دارای چندین مزیت نسبت به روشهای جداسازی آنالیتیکی است. در این روش سرعت جداسازی و ظرفیت بالاست و کمترین رقت نمونه مورد نیاز است. این روش می تواند نمونه های یونی را با توجه به بار و شعاع هیدرودینامیک آنها در یک میدان الکتریکی جدا نماید (۵۲). با این روش می توان یک آپتامر را با توجه به میزان حرکتش در مخلوطی از هدف، کتابخانه و کمپلکس هدف-کتابخانه جدا نمود. مهمترین مزیت این روش اینست که انتخاب موفقیت آمیز آپتامر طی چند دور کوتاه، عموما ٤-۲ دور انجام پذیر است، در صورتیکه در روشهای دیگر این دورها بیشتر است. گروه Bowser آپتامرهایی را برای نورو پپتید Y و IgE انسانی بعد از تنها ٤ دور انتخاب بدست آوردند (۵۳, ۵٤).

SELEX سلولی:

هدف این مورد، یافتن آپتامر علیه کل سلول می باشد، در حالیکه اهداف اولیه دیگر روشهای SELEX پروتئینهای منفرد تخلیص شده است. بعبارت دیگر اهداف SELEX سلولی، پروتئینهای خارج سلولی سطح سلول یا ساختار خاص سلول است. در اکثر موارد فرایندهای SELEX سلولی مراحل شستشو (برای سلولهای چسبان) یا سانتریفیوژ (برای سلولهای سوسپانسیون) طی جداسازی آپتامرها وجود دارد، چون تثبیت هدف در فاز جامد عملی نیست. آپتامرهای حاصله که انتخاب می شوند برای تشخیص اختصاصی سلول، تحویل دارویی به سلول هدف و سلول درمانی اختصاصی قدرتمند و کارا

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

هستند. اخیرا گروه Kobatake یک آپتامرDNAیی برای SBC3 (رده سلولی سرطان ریه از سلولهای چسبان (SCLC)) با استفاده از SELEX سلولی شناسایی کرده اند (۵۵). در سال ۲۰۰۳ گروه Gold با فرایند SELEX سلولی یک آپتامر GBI-10 برای رده سلولی U251 (مشتق از گلیوبلاستومای انسانی) جدا نمودند. مشخص شد که یک پارتنر اتصالی که با آپتامر GBI-10 تعامل می کند پروتئین تناسین C روی سطح سلول است (۵٦).

روشهای دیگر:

چندین روش از قبیل SELEX مبتنی بر میکروفلویدیک (Microfluidic) AFM, electrophoretic mobility shift assays (EMSA), surface Plasmon resonance (SPR) شناسایی شده است (۲۸, ۵۷-۵۹). اگرچه این استراتژیها مزیت کم بودن تعداد دورها را دارند اما موثر بودن این روشها در انتخاب آپتامرها بطور واضح مشخص نشده است.

چالشهای پیش روی آپتامر درمانی

در کنار مزیتهایی که برای آپتامر ذکر شد، این گروه از مولکولها دارای محدودیتهایی نیز هستند (جدول-۱). اگرچه انتخاب آپتامرها بعنوان ابزار درمانی با سرعت رو به افزایش است اما سازگاری آپتامرها برای استفاده در in vivo نیاز به تحقیقات گسترده دارد. ویژگی‌های بسیاری از پروتئین های درمانی را می توان بر اساس خصوصیات پروتئینهای گردشی شناخته شده، پیش بینی کرد. بعنوان مثال آنتی بادی‌های درمانی تمایل به داشتن نیمه عمر طولانی دارند چون جرم مولکولی بزرگی دارند. با این وجود نوکلئیک‌اسیدهای کمی در گردش خون وجود دارند که بتوانند از مقایسه آنها ویژگیهای آپتامرهای درمانی را پیش‌گویی کرد. از طرفی چون آپتامرها مواد شیمیایی هستند نسبت به داروهای غیرپروتئینی سنتی بزرگترند و به راحتی از موانع بیولوژیکی مانند غشاهای سلولی عبور نمی کنند. بنابراین بسیاری از قوانین که توسط شیمیدان‌های پزشکی طی ساخت و طراحی دارو بکار می روند قابل تعمیم به آپتامرها نیست. بسیاری اهداف آپتامرهای درمانی یا محلول در پلاسمای خون هستند یا در سطح سلول قرار گرفته اند که در هر حال در معرض پلاسمای خون اند و آپتامرها در این محیط ها، هدف تجزیه شدن توسط نوکلئاز سرمی، فیلتراسیون کلیوی و جذب توسط کبد و دیگر بافتها مثل طحال هستند.

آپتامرهای درمانی با روشهای داخل وریدی یا زیرپوستی به بدن ارائه میشود. بر اساس کارهای اولیه در مورد الیگونوکلئوتیدها مسیرهایی مثل تنفس، موکوز، پوستی نیز مسیر است اما تاکنون این روشها برای آپتامر استفاده نشده است. اهداف اکثر آپتامرهای درمانی، پروتئین های سطحی سلول هستند که در خون، مایع منی یا مایع میان بافتی حضور دارند و بنابراین آپتامرها مستلزم بقا در این بخشها برای مدتی طولانی تر هستند. در این محیط ها آپتامرها تحت تاثیر تجزیه شدن با نوکلئازها و فیلتراسیون سریع کلیوی و توزیع سریع از اجزای پلاسمایی بداخل بافتها هستند (٦۰). این موانع در مورد همه دسته‌های الیگونوکلئوتیدها صادق است و علاوه بر آن، چالشهای اختصاصی برای هر کلاس نیز وجود دارد. بنابراین برای اینکه آپتامر درمانی موثر باشد باید پایداری ساختارش افزایش و میزان کلیرانس کلیوی آن کاهش یابد.

جرم مولکولی یک آپتامر ۱۵-۵ کیلودالتون است. اگرچه وزن مولکولی پایین، سنتز شیمیایی آپتامر را اختصاصی تر کرده و از طرفی دستیابی به هدف را آسانتر نموده اما این وزن مولکولی کم باعث حذف سریع آپتامر از بدن توسط کلیرانس کلیوی میگردد. برای افزایش دسترسی زیستی آپتامر میتوان وزن مولکولی آن را بالا برد. برای این کار میتوان آپتامرها را با کلسترول یا پلی اتیلین گلیکول (PEG) کونژوگه نمود. از این استراتژی

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

برای کم کردن سرعت کلیرانس کلیـوی و افـزایش نیمـه عمر در گردش آپتامرها استفاده می شود (۶۰).

زمانیکه آپتامرهای اصلاح نشده وارد سلول می شـود به سرعت توسط نوکلئازها تجزیه شده و نوکلئوزیـدهای حاصل متابولیزه میگردند. نیمه‌عمر آپتامرها در خـون بـه کوتاهی ۲ دقیقه است که با اصلاحاتی در قسمت قنـدی یا اتصالات فسفودی استری می تـوان آنـرا افـزایش داد (۱۸). رایجترین اصلاحات مربوط بـه نوکلئوتیـدهایی بـا گروه های فلور یا o-متیل در موقعیت ۲ قند اسـت، ایـن اصلاحات پروفایل فارمـاکوکنیتیکی آپتامرهـا در بـدن را افزایش می دهد (۱۸).

اطلاعـات محـدودی در مـورد سـمیت آپتامرهـا در دسـترس اسـت. Macugen و آپتـامر ضدسـرطان AS1411 سمیت کمی را نشان داده‌اند (۶۰). با توجه به اینکه آپتامرها سمیت یکسانی ایجـاد نمـی کننـد، بـرای داشـتن آپتـامر درمـانی، دانسـتن میـزان سـمیت آنهـا ضروریست. اثرات سمیتی که آپتامرها می تواننـد ایجـاد کننـد شـامل تحریـک ایمنـی ذاتـی و تجمـع بـافتی الیگونوکلئوتیدها و اثرات پلی آنیونی است. در واقع بعـد از چند بار تزریق، آپتامرها در داخل بافت تجمع می یابند و تشکیل گرانولهای بازوفیل را می دهند. البته این گرانول ها تا زمانیکه خیلی زیاد نشده باشند اثرات سوئ نخواهند داشت. تجمع بیش از حد گرانولها باعث آسـیب غشـا و تخریب ارگان می گردد. از عوارض دیگر سمیت می توان به کاهش حجم RBC در تزریقات مداوم آپتـامر اشـاره کرد (۶۰). بنابراین برای ارائه آپتامر با سمیت کمتر نیاز به مطالعات بیشتری می باشد.

با افزایش رشد بازار برای آپتـامر، تقاضـای فراوانـی برای تولید آپتامرها با قیمت مناسب و بـا کیفیـت ایجـاد شده است. محصول بیشتر، خلوص بالاتر و قیمت کمتر از مولفه های اصلی است. چالش مهـم دیگـر اینسـت کـه معمولا بعد از اعمال اصلاحات طی فراینـد تولیـد بایـد کنترلی روی کیفیت محصول نهایی باشد و برخی از ایـن اصلاحات ممکن است باعث ناپایدار شدن محصول شود (۱۶, ۶۱). بعد از اینکه آپتامر بهینه و آماده برای مصـرف بالین گردیـد، بایـد خصوصـیات دارویـی و سـمیت آن بررسی شود که بیشتر بستگی به بیولوژی هدف، مسـیر و نحوه تزریق دارد. در این فرایند یکی از معضلات تحویل اختصاصـی جایگـاه اسـت. بـرای اینکـه ایـن تحویـل اختصاصی انجام گیرد معمولا از یک وکتور رتروویـروس بیان کننده آپتامر استفاده میکنند (۱۶).

نتیجه‌گیری

در این مقاله مروری، آپتامرها، فواید و کاربردهایشـان با معرفی چند نمونه بیان گردیـد. آپتـامر یـک جـایگزین مناسب برای آنتی بادی اسـت و تحـت شـرایط گرمـا و دشوار بسیار پایدار است، چـون آپتامرهـا الیگونوکلئیـک اسید هستند و به آسانی مـی تواننـد در مقـادیر بـالا بـا خلوص بالا تولید گردند و با استفاده از واکنشهای سـاده شیمیایی آنها را اصلاح نمود، بنـابراین آپتامرهـا قـدرت زیادی در طیف وسـیعی از کاربردهـا را دارنـد. بعـلاوه آپتامرها مواد غیرسمی و غیر ایمنـی زا هسـتند کـه مـی تواننـد در پزشـکی در زمینـه هـای تشـخیص و درمـان بیماریها، دارو، تصویربرداری زیستی بکار رونـد. امـروزه روشهای SELEX متنوع طراحـی شـده تـا اهـداف بـا سرعت و دقت بیشتری آپتامرها را انتخاب کنند.

تکنولوژی آپتامر بعنوان یک تکنولوژی معتبر و مـوثر گسترش یافته و مطالعات زیادی از کاربردهـای آپتامرهـا انجام گرفته است و امروزه آپتامرها در جنبه‌های مختلـف بعنـوان یـک ابـزار تشخیصـی و درمـانی، در گسـترش داروهای جدید و سیستمهای تحویل دارو بکار می روند. با این وجود آپتامرها هنوز جایگاه خود را در زمینه درمان و تشخیص پزشکی پیدا نکرده است.

البته آپتامرها هنوز چالشـها و محـدودیتهایی را پـیش روی خود دارند. امید است که در آینده‌ای نزدیک هزینـه های سنتز کاهش و خصوصیات فارماکوکینتیـک افـزایش یابد تا کارایی آپتامرها افزایش یافته و همچنین بـر دیگـر محدودیتهای آن فائق آیند.

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

منابع

1. Dollins CM, Nair S, Sullenger BA. Aptamers in immunotherapy. Human gene therapy 2008;19(5):443-50.

2. Sullenger BA, Gallardo HF, Ungers GE, Gilboa E. Overexpression of TAR sequences renders cells resistant to human immunodeficiency virus replication. Cell 1990;63(3):601-8.

3. O'Malley RP, Mariano TM, Siekierka J, Mathews MB. A mechanism for the control of protein synthesis by adenovirus VA RNA I. Cell 1986;44(3):391-400.

4. Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. Nature 1990;346(6287):818-22.

5. Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. Science 1990;249(4968):505-10.

6. Han K, Liang Z, Zhou N. Design strategies for aptamer-based biosensors. Sensors 2010;10(5):4541-57.

7. Lin Y, Qiu Q, Gill SC, Jayasena SD. Modified RNA sequence pools for in vitro selection. Nucleic acids research 1994;22(24):5229-34.

8. Bock LC, Griffin LC, Latham JA, Vermaas EH, Toole JJ. Selection of single-stranded DNA molecules that bind and inhibit human thrombin. Nature 1992;355:564-566.

9. Borghouts C, Kunz C, Groner B. Peptide aptamers: recent developments for cancer therapy. Biol. Ther 2005;5:783-797.

10. Cdk CD. Genetic selection of peptide aptamers that recognize and inhibit cyclin-dependent kinase 2. Nature 1996;380:11.

11. Bunka DHJ, Stockley PG. Aptamers come of ageâ€“at last. Nature Reviews Microbiology 2006;4(8):588-96.

12. Mascini M. Aptamers and their applications. Analytical and bioanalytical chemistry 2008;390:987-988.

13. Birch JR, Racher AJ. Antibody production. Advanced drug delivery reviews 2006;58(5):671-85.

14. Ferreira CSM, Missailidis S. Aptamer-based therapeutics and their potential in radiopharmaceutical design. Brazilian archives of biology and technology 2007;50(SPE):63-76.

15. Jayasena SD. Aptamers: an emerging class of molecules that rival antibodies in diagnostics. Clinical chemistry 1999;45(9):1628-50.

16. Ireson CR, Kelland LR. Discovery and development of anticancer aptamers. Molecular cancer therapeutics 2006;5(12):2957-62.

17. Eyetech Study G. Preclinical and phase 1A clinical evaluation of an anti-VEGF pegylated aptamer (EYE001) for the

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

24. Krieg AM. Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation. Nature Reviews Drug Discovery 2006;5(6):471-84.

25. Krieg AM. Toll-like receptor 9 (TLR9) agonists in the treatment of cancer. Oncogene 2008;27(2):161-7.

26. Sheehan JP, Lan H-C. Phosphorothioate oligonucleotides inhibit the intrinsic tenase complex. Blood 1998;92(5):1617-25.

27. Keefe AD, Pai S, Ellington A. Aptamers as therapeutics. Nature Reviews Drug Discovery 2010; 9(7):537-50.

28. Khati M, SchÃ¼man M, Ibrahim J, Sattentau Q, Gordon S, James W. Neutralization of infectivity of diverse R5 clinical isolates of human immunodeficiency virus type 1 by gp120-binding 20 F-RNA aptamers. Journal of virology 2003;77(23):12692-8.

29. Ruckman J, Green LS, Beeson J, Waugh S, Gillette WL, Henninger DD, et al. 20 Fluoropyrimidine RNA-based aptamers to the 165-amino acid form of vascular endothelial growth factor (VEGF165) Inhibition of receptor binding and VEGF-induced vascular permeability through interactions requiring the exon 7-encoded domain. Journal of Biological Chemistry 1998;273(32):20556-67.

30. Kaur G, Roy I. Therapeutic applications of aptamers. Expert Opin Investig Drugs 2008;17:43-60.

treatment of exudative age-related macular degeneration. Retina 2002;22(2):143-52.

18. Keefe AD, Cload ST. SELEX with modified nucleotides. Current opinion in chemical biology 2008;12(4):448-56.

19. Lee J, Jucker F, Pardi A. Imino proton exchange rates imply an induced-fit binding mechanism for the VEGF165-targeting aptamer, Macugen Curr Opin Mol Ther 2009;11:707–15.

20. Becker RC, Chan MY. REG-1, a regimen comprising RB-006, a Factor IXa antagonist, and its oligonucleotide active control agent RB-007 for the potential treatment of arterial thrombosis. Current opinion in molecular therapeutics 2009; 11: 707-715.

21. Bates PJ, Laber DA, Miller DM, Thomas SD, Trent JO. Discovery and development of the G-rich oligonucleotide AS1411 as a novel treatment for cancer. Experimental and molecular pathology 2009;86(3):151-64.

22. Bates PJ, Kahlon JB, Thomas SD , Trent JO, Miller DM. Antiproliferative activity of G-rich oligonucleotides correlates with protein binding. Journal of Biological Chemistry 1999;274(37):26369-77.

23. Teng Y, Girvan AC, Casson LK, Pierce WM, Qian M, Thomas SD, et al. AS1411 alters the localization of a complex containing protein arginine methyltransferase 5 and nucleolin. Cancer research 2007;67(21):10491-500.

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

38. Lee KY, Kang H, Ryu SH, Lee DS, Lee JH, Kim S. Bioimaging of nucleolin aptamer-containing 5-(N-benzylcarboxyamide) 20-deoxyuridine more capable of specific binding to targets in cancer cells. BioMed Research International 2010:1-9.

39. KangÃ Ku J. Simultaneous electrochemical detection of both PSMA (+) and PSMA (-) prostate cancer cells using an RNA/peptide dual-aptamer probe. Chemical Communications 2010;46(30):5566-8.

40. Shin S, Kim I-H, Kang W, Yang JK, Hah SS. An alternative to Western blot analysis using RNA aptamer-functionalized quantum dots. Bioorganic & medicinal chemistry letters 2010;20(11):3322-5.

41. Romig TS, Bell C, Drolet DW. Aptamer affinity chromatography:: combinatorial chemistry applied to protein purification. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications 1999;731(2):275-84.

42. Zhao Q, Li XF, Shao Y, Le XC. Aptamer-based affinity chromatographic assays for thrombin. Anal Chem 2008;80:7586-93.

43. Jones S, Daley DTA, Luscombe NM, Berman HM, Thornton JM. Proteinâ€“RNA interactions: a structural analysis. Nucleic acids research 2001;29(4):943-54.

44. Jones S, van Heyningen P, Berman HM, Thornton JM. Protein-DNA

31. Lupold SE, Hicke BJ, Lin Y, Coffey DS. Identification and characterization of nuclease-stabilized RNA molecules that bind human prostate cancer cells via the prostate-specific membrane antigen. Cancer research 2002;62:4029-4033

32. Abbasalipourkabir R, Salehzadeh A, Abdullah R. Solid lipid nanoparticles as new drug delivery system. International Journal of Biothechnology and Molecular Biology Research 2011;13:252-61.

33. Abbasalipourkabir R, Rasedeeb A, Wunb HC. Characterization of surface-modified nanostructured lipid carriers as colloidal carrier system 2011;44(13):S76.

34. Abbasalipourkabir R, Salehzadeh A, Abdullah R. Antitumor activity of tamoxifen loaded solid lipid nanoparticles on induced mammary tumor gland in Sprague-Dawley rats. Afr J Biotech 2010;9(43):7337-45.

35. Abbasalipurkabir R, Salehzadeh A, Abdullah R. Delivering tamoxifen within solid lipid nanoparticles. Pharmaceutical Technology 2011;35(4):74-9.

36. Chu TC, Twu KY, Ellington AD, Levy M. Aptamer mediated siRNA delivery. Nucleic acids research 2006;34(10):e37.

37. Bagalkot V, Zhang L, Levy-Nissenbaum E, Jon S, Kantoff PW, Langer R, et al. Quantum dot–aptamer conjugates for synchronous cancer imaging, therapy, and sensing of drug delivery based on bi-fluorescence resonance energy transfer. Nano Letters 2007;7(10):3065-70.

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

53. Mendonsa SD, Bowser MT. In vitro selection of aptamers with affinity for neuropeptide Y using capillary electrophoresis. Journal of the American Chemical Society 2005;127(26):9382-3.

54. Mendonsa SD, Bowser MT. In vitro selection of high-affinity DNA ligands for human IgE using capillary electrophoresis. Analytical chemistry 2004;76(18):5387-92.

55. Kunii T, Ogura S-i, Mie M, Kobatake E. Selection of DNA aptamers recognizing small cell lung cancer using living cell-SELEX. Analyst 2011;136(7):1310-2.

56. Daniels DA, Chen H, Hicke BJ, Swiderek KM, Gold L. A tenascin-C aptamer identified by tumor cell SELEX: systematic evolution of ligands by exponential enrichment. Proceedings of the National Academy of Sciences 2003;100(26):15416-21.

57. Guthold M, Cubicciotti R, Superfine R, Taylor RM. Novel methodology to detect, isolate, amplify and characterize single aptamer molecules with desirable target-binding properties. Biophys J 2002;82:163A-1163A.

58. Tsai RYL, Reed RR. Identification of DNA recognition sequences and protein interaction domains of the multiple-Zn–finger protein Roaz. Molecular and cellular biology 1998;18(11):6447-56.

59. Misono TS, Kumar PKR. Selection of RNA aptamers against human influenza interactions: a structural analysis. Journal of molecular biology 1999;287(5):877-96.

45. Bunka DHJ, Platonova O, Stockley PG. Development of aptamer therapeutics. Current opinion in pharmacology 2010;10(5):557-62.

46. Ruckman J, Gold L, Stephens A, Janjic N. Nucleic acid ligands to integrins. Google Patents; 2006. US20020150536 A1.

47. Syed MA, Pervaiz S. Advances in aptamers. Oligonucleotides 2010;20(5):215-24.

48. Pristoupil TI, KramlovÄ*f* M. Microchromatographic separation of ribonucleic acids from proteins on nitrocellulose membranes. Journal of chromatography 1968;32(4):769.

49. Song K-M, Cho M, Jo H, Min K, Jeon SH, Kim T, et al. Gold nanoparticle-based colorimetric detection of kanamycin using a DNA aptamer .Analytical biochemistry 2011;415(2):175-81.

50. Vianini E, Palumbo M, Gatto B. In vitro selection of DNA aptamers that bind L-tyrosinamide. Bioorganic & medicinal chemistry 2001;9(10):2543-8.

51. Lévesque D, Beaudoin JD, Roy S, Perreault JP. In vitro selection and characterization of RNA aptamers binding thyroxine hormone. Biochem J 2007;403(1):129-38.

52. Gopinath SCB. Methods developed for SELEX. Analytical and bioanalytical chemistry 2007;387(1):171-82.

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

61. Farman CA, Kornbrust DJ. Oligodeoxynucleotide studies in primates: antisense and immune stimulatory indications. Toxicologic pathology 2003;31(1 suppl):119-22.

virus hemagglutinin using surface plasmon resonance. Analytical biochemistry 2005;342(2):312-7.

60. Bouchard PR, Hutabarat RM, Thompson KM. Discovery and development of therapeutic aptamers. Annual review of pharmacology and toxicology 2010;50:237-57.

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

جدول۱: مزایا و محدودیتهای آپتامرها

مزایای آپتامرها:	محدودیتهای آپتامرها:
۱. آپتامرها در فرایندهایی شیمیایی ساده در مقادیر زیاد قابل تولید هستند. ۲.فرایندهای شیمیایی تولیدی، مستعد آلودگی های ویروسی و باکتریایی نمی باشد. ۳.ایمنی زا نیستند. ٤.اندازه کوچکشان اجازه ورود به بسیاری از بخشهای بیولوژیکی را میدهد. ۵.توانایی انتخاب علیه اهداف خاص و یا انتخاب علیه اهداف سطحی سلولی را دارند. ٦.معمولا بطور برگشت پذیر دناتوره می شوند و باند فسفودی‌استر بسیار پایدار است. ۷.تغییرات شیمیایی هنگام افزودن گروه های کاربردی و رنگی معمولا بر فعالیتشان تاثیرگذار نیست.	۱.خصوصیات فارماکوکینتیک آپتامرها معمولا متغیر و غیر قابل پیش بینی است. ۲.اندازه کوچکشان آنها را مستعد فیلتراسیون کلیوی کرده و نیمه عمر شان را کوتاه تر می کند. ۳.آپتامرهای اصلاح نشده مستعد تجزیه شدن در سرم هستند. ٤.تکنولوژی تولید آپتامرها در انحصار چند شرکت محدود است.

جدول ۲: لیستی از آپتامرهای درمانی

آپتامر	شرایط بیماری	هدف	فاز بالینی
ARC1905	Age-related macular degeneration	فاکتور C5 آبشار کمپلمان	فاز۱
AS1411	لوکمی حاد میلوئید	نوکلئوین	فاز۲
E10030 plus Lucentis	Age-related macular degeneration	فاکتوررشد مشتق از پلاکت	فاز۲
NOX-A12	پیوند سلول بنیادی	SDF-1	فاز۱
NOX-E36	دیابت نوع۲	MCP-1	فاز۱
NU172	بیماری قلبی	الفا ترومبین	فاز۲
Pegaptanib/Macugen	Age-related macular degeneration	فاکتور رشد مشتق از پلاکت	فاز٤
REG1	بیماری قلبی عروقی	مهارگر فاکتور a۱۱	فاز۲

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]

Aptamers and their biological-therapeutical applications: A review article

Abstract:

Aptamers are the artificial single-stranded DNA or RNA sequences (more recently, peptides) that fold into secondary and tertiary structures making them bind to certain targets with extremely high specificity. Aptamers were reported for the first time in 1990, a number of their unique features make them a more effective choice than antibodies. Aptamers typically generated through Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment (SELEX) and screened and selected via in vitro process from a library, making it possible to attach to any target molecules (from small inorganic ions to intact cells). Also, aptamers, once selected, can undergo subsequent amplification through Polymerase Chain Reaction (PCR) to produce a large quantity with high purity. The simple chemical structure of aptamer makes it easily amendable to further functional modifications according to different purposes. Finally, aptamers are much more stable than antibodies, making them suitable in applications requiring harsh conditions (e.g., high temperature). The increasing studies and explorations in the fields of diagnostics and therapeutics are running. It is likely that in the near future, aptamers will increasingly find use in concert with other therapeutic molecules.

In the current review article, the reasons why aptamers are known as alternatives to antibodies are presented. Furthermore, various applications of aptamers including diagnostics, therapeutics, molecular imaging and drug delivery were introduce. Several types of in vitro selection processes are explained in detail.

Key words: *Aptamer, Antibody, Drug Delivery system, Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment (SELEX).*

[Downloaded from psj.umsha.ac.ir on 2025-07-05]