مقاله کوتاه

آپتامرها روشی نوین در شناسایی، تشخیص و درمان ویروس‌های کشنده

آزاده حکمت[1,*]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: آزاده حکمت، دکتری تخصصی بیوفیزیک، hekmat@ut.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۱/۲۰ تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۴/۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۶/۱۳

چکیده

انسان‌ها در طول سالیان طولانی همواره با ویروس‌ها درگیر بوده‌اند. عفونت‌های ویروسی موجب بروز عوارض شدید و حتی کشنده‌ای در انسان و حیوانات می‌شود. از آنجا که برخی ویروس‌ها خاصیت کشندگی بیشتری نسبت به دیگر ویروس‌ها دارند، بنابراین شناسایی سریع و درمان ویروس‌ها بسیار حائز اهمیت است. آپتامرها توالی‌های تک رشته‌ای سنتزی از جنس RNA، DNA یا پپتید هستند و با اختصاصیت بالا به مولکول هدف متصل می‌گردند. مزیت‌هایی ویژه آپتامرها باعث شده موثرتر از آنتی بادی‌ها عمل نمایند. آپتامرها عموما از طریق فرآیند آزمایشگاهی Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment (SELEX) از یک کتابخانه، غربال و انتخاب می‌شوند و می‌توانند به مولکول‌های هدف متصل شوند. در مقاله حاضر ابتدا به معرفی آپتامرها و سپس به بررسی کاربرد آنها در شناسایی سریع و درمان برخی ویروس‌های کشنده (ایدز، ابولا، آنفولانزا، پاپیلوما، سارس، مرس، آنفولانزا و کووید-۱۹) پرداخته می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آپتامر، آنفولانزا، ابولا، ایدز، پاپیلوما انسانی، کووید-۱۹، ویروس

مقدمه

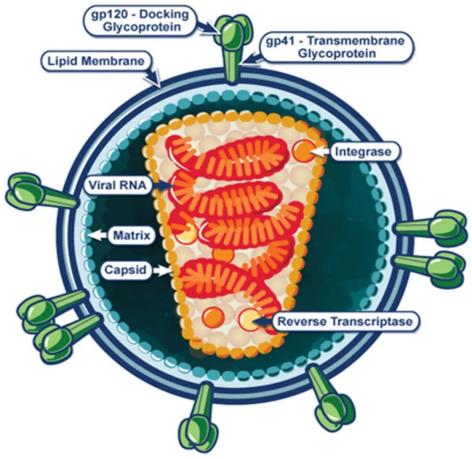
سالها است که انسان‌ها در حال مقابله با اثرات کشنده و مخرب ویروس‌ها هستند. برای برخی از بیماری‌های ویروسی، واکسن‌ها و داروهای ضدویروس امکان جلوگیری از شیوع گسترده عفونت و همچنین کمک به روند بهبودی مبتلایان را فراهم نموده است. در حال حاضر شماری از ویروس‌ها، از جمله کرونا ویروس جدید، در سراسر جهان شیوع و گسترش یافته‌اند و به عنوان تهدید جدی برای بهداشت عمومی انسان‌ها به شمار می‌آیند، چراکه هنوز روشی دقیق و مطمین برای شناسایی و درمان آنها وجود ندارد (Hekmat, 2021).

واژه آپتامر از کلمه لاتین Aptus به معنای مناسب و کلمه یونانی Meros به معنای ذره گرفته شده است و معنای دقیق آن ذره قابل تطبیق می‌باشد. آپتامرها، لیگاندهای تک رشته‌ای الیگونوکلئوتیدی از جنس پپتید، RNA و یا DNA هستند و طول تقریبی آنها بین ۳۰ تا ۷۰ نوکلئوتید می‌باشد. آپتامرها اولین بار در سال ۱۹۹۰ میلادی معرفی شدند (Rye and Nustad, 2001; Stoltenburg *et al.*, 2007). در غالب موارد، اصطلاح آپتامر به آپتامرهای اسیدنوکلئیکی اطلاق می‌گردد. آپتامرها می‌توانند با تشکیل ساختارهای سه بعدی، مانند آنتی بادی‌های بلند زنجیر، به مولکول هدف به صورت اختصاصی متصل شوند. این اتصال از طریق برهمکنش‌های الکترواستاتیک، نیروهای ضعیف واندروالسی، پیوندهای هیدروژنی و یا مجموعه‌ای از این نیروها اتفاق می‌افتد (Strehlitz *et al.*, 2008). آپتامرها همانند آنتی بادی‌ها به صورت کاملا اختصاصی مولکول هدف خود را شناسایی می‌کنند. اما آپتامرها نسبت به آنتی بادی‌ها مزیت‌هایی ویژه‌ای دارند که آنها را مورد توجه قرارداده است (Proske *et al.*, 2005). آپتامرها با روش‌های شیمیایی قابل دستکاری هستند و تغییرات ساختاری ناشی از حرارت در آنها به صورت برگشت‌پذیر می‌باشد. فرآیند تولید آپتامرها *in vivo* نمی‌باشد بنابراین این ترکیبات می‌توانند برای مولکول‌های کوچکی مثل یک یون تا یک سلول ساخته شوند، در حالیکه آنتی‌بادی‌ها تنها قابلیت

اتصال به ترکیبات ایمونولوژیک را دارند. آپتامرها برای نگهداری نیازمند دمای پائین نیستند. این قابلیت‌های آپتامرها موجب شده است که این ترکیبات در زمینه‌های مختلفی مانند پزشکی و داروسازی مورد توجه باشند. در این مقاله به کاربرد آپتامرها در شناسایی و درمان ویروس‌های عفونت‌زای کشنده (ایدز، ابولا، آنفولانزا، پاپیلوما، سارس، مرس، آنفولانزا و کووید-۱۹) پرداخته شده است.

۱- ویروس ایدز (Human Immunodeficiency Virus)

سندرم نقص ایمنی اکتسابی (Acquired immune deficiency syndrome: AIDS) یا HIV از جمله بیماری‌های ویروسی همه‌گیر در جوامع مختلف است که توسط رتروویروس (Retrovirus) از خانواده لنتی ویروس‌ها (Lenti Virus) ایجاد می‌شود. این ویروس بر تمام سیستم‌های بدن تأثیر می‌گذارد و موجب آسیب‌پذیری اندام‌های بدن نسبت به عفونت‌های فرصت طلب، کاهش وزن و درنهایت مرگ می‌شود (Knipe *et al.*, 2007). طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت، تا سال ۲۰۳۰ ایدز یکی از پنج علت اصلی مرگ و میر در کشورهای با درآمد متوسط و در حال توسعه خواهد بود (Mathers, 2008). ویروس HIV شامل دو رشته RNA است که در درون ساختار مرکزی (Core) پروتئین‌های ویروسی قرار گرفته‌اند و به وسیله یک پوشش دو لایه فسفولیپیدی مشتق از غشای سلول‌های میزبان که شامل پروتئین‌های غشایی رمزشده توسط ویروس نیز هستند، احاطه شده‌اند. تاکنون دو نوع کاملاً وابسته به هم HIV مشتمل بر HIV-1 و HIV-2 شناخته شده است. HIV-1 شایعترین علت ایدز می‌باشد، اما HIV-2 که از نظر ساختار ژنومی و پادگنی با HIV-1 تفاوت دارد، نشانگان بالینی مشابهی ایجاد می‌کند. توالی‌های تکرار شونده بلند در هر انتهای ژنوم، آمیختگی ویروس با ژنوم میزبان، بروز ژن‌های ویروسی و همانندسازی ویروس را تنظیم می‌کنند. توالی‌های Gag پروتئین‌های ساختار مرکزی را رمز می‌کنند. توالی‌های Env گلیکوپروتئین‌های پوشش ویروسی یعنی gp41 و gp120 را کد می‌کنند که برای آلوده کردن سلول‌ها مورد نیاز هستند (شکل ۱). توالی‌های pol آنزیم‌های نسخه بردار معکوس (RT)، اینتگراز و پروتئاز ویروسی را رمزدهی می‌کنند که برای همانندسازی ویروس مورد نیاز هستند؛ علاوه بر ژن‌های معمول رتروویروسی HIV-1 دارای حداقل شش ژن، تنظیمی به نام‌های vpu، vpr، nef، vif، rev و tat می‌باشد که فرآورده‌های آنها تکثیر ویروس را از راه‌های متفاوت تنظیم می‌کنند (Blankson *et al.*, 2002). آنزیم نسخه بردار معکوس مسئول انتقال ژنوم ویروسی RNA به درون دو رشته DNA است و شامل یک دمین فعالیت RNaseH است. این آنزیم هدف اغلب درمان‌های ایدز است (Leija-Montoya *et al.*, 2016). تاکنون تعداد زیادی آپتامر DNA تک رشته‌ای و RNA جهت مهار فعالیت آنزیم نسخه بردار معکوس در سلول‌ها طراحی شده است. در جدول ۱ برخی آپتامرهای ساخته شده برای پروتئین‌های HIV ذکر شده است. اغلب آپتامرهای طراحی شده برای ویروس HIV مرتبط با آنزیم نسخه بردار معکوس، RNaseH، Tat، Gag، نوکلئوکپسیدها (Nucleocapsid)، gp120 و TAR-element RNA هستند (de Soultrait *et al.*, 2002). در جدول ۱ برخی آپتامرهای ساخته شده برای درمان HIV ذکر شده است.



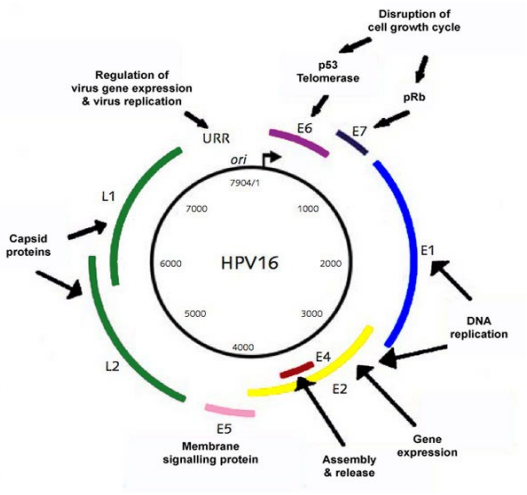
شکل ۱- ساختار ویروس ایدز

۲- ویروس پاپیلومای انسانی (Human Papilloma Virus)

پاپیلوما ویروس (HPV) دارای کوچک‌ترین DNA ویروسی و بدون پوشش لیپیدی است که قادر است سلول‌های پوست یا مخاطی را آلوده کند و متعلق به خانواده پاپیلوما ویریده (Papillomaviridae) است. این ویروس دارای انواع مختلفی است که محدوده عظیمی از حیوانات و انسان‌ها را آلوده می‌کنند. تاکنون بیش از صد نوع از پاپیلوما ویروس انسانی شناسایی شده‌اند و به انواع کم خطر، احتمالا خطرناک و خطرناک تقسیم‌بندی شده‌اند. تیپ ۱۶ و ۱۸ ویروس پاپیلوما با ایجاد سرطان دهانه رحم (دومین سرطان شایع در زنان) مرتبط است. DNA این ویروس دو رشته‌ای است و در سه بخش تقسیم‌بندی شده است. این سه بخش شامل بخش تنظیمی بالادست (URR)، بخش ابتدایی (E) و بخش انتهایی (L) است. بخش URR شامل تعدادی فاکتور رونویسی جهت کنترل بیان ژن است. بخش ابتدایی شامل ۶ ژن (E1، E2، E4، E5، E6 و E7) است که در همانندسازی، رونویسی و تغییر شکل سلول نقش دارد (Belyaeva *et al.*, 2014) و بخش انتهایی پروتئین کپسید (L1 و L2) را کد می‌کند (شکل ۲). برای شناسایی و درمان این ویروس نیز پژوهشگران چندین آپتامر را معرفی کرده‌اند. در جدول ۲ برخی آپتامرهای ساخته شده برای درمان و تشخیص HPV ذکر شده است.

جدول ۱- برخی آپتامرهای ساخته شده برای HIV

آپتامر	نوع	توالی	هدف	عملکرد	منبع
P5	RNA	GGGAGCUCAGAAUAAACG CUCAACGGCACAGGGGUU GUAUCCUCCGGGACGAAU UCGACAUGAGGCCCGGAU CCGGC	اینتگراز	مهار برهمکنش بین اینتگراز وDNA	(Allen *et al.*, 1995)
A54	RNA	GGGAGCUCAGAAUAAACG CUCAAGUCAAUCAUCGAU GUCCUGUGCCCUAGGGCU UCGACAUGAGGCCCGGAU CCGGC	اینتگراز	مهار برهمکنش بین اینتگراز وDNA	(Allen *et al.*, 1995)
del93	DNA	GGGGTGGGAGGAGGGT	اینتگراز	مهار فعالیت اینتگراز	(Phan *et al.*, 2004)
Del112	DNA	CGGGTGGGTGGGTGGT	اینتگراز	مهار اینتگراز	de Soultrait *et al.*,) (2002
RNA tat	RNA	ACGAAGCUUGAUCCCGUU UGCCGGUCGAUCGCUUCG A	TAR	مهار Tat	Yamamoto *et al.*,) (1995
B40	RNA	TAATACGACTCACTATAGG GAGACAAGACTAGACGCT CAaTGTGGGCCACGCCCGA TTTTACGCTTTTACCCGCA CGCGATTGGTTTGTTTTCG ACATGGACTCACAACAGTT CCCTTTAGTGAGGGTTAAT T	Gp120	خنثی شدن عفونت ویروس	(Khati *et al.*, 2003)
B40t77	RNA	TAATACGACTCACTATAGG GAGACAAGACTAGACGCT CAATGTGGCCACGCCCGAT TTTACGCTTTTACCGCACG CGATTGGTTTGTTTCCC	Gp120	خنثی شدن عفونت ویروس	(Dey *et al.*, 2005)
RT-26	DNA	ATCCGCCTGATTAGCGATA CTTACGTGAGCGTGCTGTC CCCTAAAGGTGATACGTCA CTTGAGCAAAATCACCTGC AGGGG	RT	مهار آنزیم نسخه بردار معکوس	(Pavski and Le, 2001)



شکل ۲- ساختار ویروس پاپیلوما

۳- ویروس آنفولانزا (Influenza Virus)

براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO)، در صورت شیوع آنفولانزا، بالغ بر ۵۰۰،۰۰۰ نفر در سراسر جهان جان خود را از دست خواهند داد. در صورت ظهور یک گونه جدید آنفولانزا و بروز یک پاندمی (شیوع جهانی)، مرگ و میر بسیار بیشتر در پی خواهد داشت. مرگبارترین پاندمی آنفولانزا، که آن را آنفولانزای اسپانیایی نیز می‌نامند، در سال ۱۹۱۸ میلادی رخ داد و تقریبا ۴۰٪ از مردم جهان را بیمار کرد و منجر به مرگ حدود ۵۰ میلیون نفر شد. ویروس آنفولانزا پوشش‌دار و دارای RNA است. شدت بیماری به نوع ویروس (نوع A، نوع B یا نوع C) بستگی دارد. آنفولانزا نوع A درپرندگان و پستانداران عفونت‌زا هستند. نوع B بیشتر بر روی انسان اثرگذار است و نوع C نسبت به دو نوع قبل کمتر معمول است. اگرچه میزبان هر سه نوع ویروس متفاوت

است اما همه آنها بر انسان موثر است و بنابراین با استفاده از روش SELEX جهت درمان مورد هدف قرار می‌گیرند (Graham and Zarbl, 2012; Dadonaite *et al.*, 2019).

۳-۱- ویروس آنفولانزا نوع A (Influenza A Virus: IAV)

ژنوم IVA شامل هشت بخش RNA خطی و دو گلیکوپروتئین سطحی است. که این دو گلیکوپروتئین شامل هماگلوتینین (HA) و نورامیداز (NA) است. این پروتئین‌ها جهت طبقه‌بندی IVA به کار می‌رود. ۱۷ زیرگروه HA (H1–H17) و ۹ زیر گروه NA (N1–N9) تاکنون شناسایی شده است (Dadonaite *et al.*, 2019). اغلب آپتامرهای تهیه شده جهت اتصال به HA و NA طراحی شده‌اند. جدول ۳ برخی آپتامرهای ساخته شده برای پروتئین‌های IVA را نشان می‌دهد.

جدول ۲- برخی آپتامرهای ساخته شده برای HPV

آپتامر	نوع	توالی	هدف	عملکرد	منبع
F2	RNA	GGGAAUGGAUCCACAUACUACGAAUAUUCAACAUUCGAGGUGGAUGCUACGAAUCAACUUCACUGCAGACUUGACGAAGCUU	E6	مهار E6-PDZ	(Belyaeva *et al.*, 2014)
F4	RNA	GGGAAUGGAUCCACAUACUACGAAAACUCGUUUCGAGGUUCGAAACGUUGUAAAGCCGUUUCACUGCAGACUUGACGAAGCUU	E6	مهار E6-PDZ	(Belyaeva *et al.*, 2014)
A2	RNA	GGGAAUGGAUCCACAUCUACGAAUCCCUUCAUCAUUAACCCGUCCACGCGCUUCACUGCAGACUUGACGAAGCUU	E7	مهار E7-pRb	(Nicol *et al.*, 2011)
G5a3N.4	RNA	GGGAGACCCAAGCCGAUUUAUUUUGUGCAGCUUUUGUUCCCUUUAGUGAGGGUUAAUU	E7	افزایش تمایل E7 به سلول	(Toscano-Garibay *et al.*, 2015)
Sc5-c3	RNA	GGGAACAAAAGCUGCACAGGUUACCCCCGCUUGGGUCUCCCUAUAGUGAGUCGUAUUA	L1	افزایش تمایل E7 به سلول	(Leija-Montoya *et al.*, 2014)
C5	RNA	GGGAGGACGAUGCGGAAGCATCAAGGGTGATCGTTTGACCCTCCCCAGACGACUCGCCCGA	HPV-16 E6/E7-HTECs	کمک به انتقال داروی ضد ویروس	(Gourronc *et al.*, 2013)
13	DNA	ATACCAGCTTATTCAATTGGGCACAGACGGAAGATGAGAATTGTGGGGCTTAGTATAGTGAGGTGCGTGTAGATAGTAAGTGCAATCT	HF cell line	شناسایی عدم وجود بیومارکرهای تغییر شکل	(Graham and Zarbl, 2012)
14	DNA	ATACCAGCTTATTCAATTGGGCGGGGAGTAGGGAGAGGGGTTTCCATCGGCGACAGAGGAGTTATGTGTGTAGATAGTAAGTGCAATCT	HF cell line	شناسایی عدم وجود بیومارکرهای تغییر شکل	(Graham and Zarbl, 2012)

جدول ۳- برخی آپتامرهای ساخته شده برای IVA

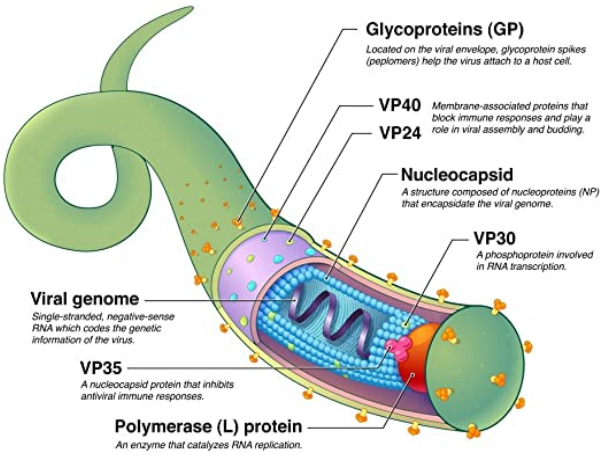
آپتامر	نوع	توالی	هدف	عملکرد	منبع
H3N2	DNA	AATTAACCCTCACTAAAGGGCTGAGTCTCAAAACCGCAATACACTGGTTGTATGGTCGAATAAGTTAA	HA	مهار عفونت‌زایی	(Graham and Zarbl, 2012)
H5N1	DNA	GATTCAGTCGGACAGCGGGGTTCCCATGCGGATGTTATAAAGCAGTCGCTTATAAGGGATGGACGAATATCGTCTCCC	HA	مهار عفونت‌زایی	(Cheng *et al.*, 2008)
H9N2	DNA	GCTGCAATACTCATGGACAGCCTCCTGGGGTCAGGCTCAGACATTGATAAAGCGACATCGGTCTGGAGTACGACCCTGAA	HA	مهار گیرنده‌ها	(Zhang *et al.*, 2015)
H5N1 AND H7N7	RNA	GGGCAACCGCUGGAACUUGAAGUCGGUAAUGCGAGCGGAAAGCCC	E7	افزایش تمایل E7 به سلول	(Suenaga and Kumar, 2014)
H5N1 و HIN1 H3N2	DNA	GGGTTTGGGTTGGGTTGGGTTTTTGGGTTTGGGTTGGGTTGGGAAAAA	rHA	تشخیص IVA	(Shiratori *et al.*, 2014)

۳-۲- ویروس آنفولانزا نوع B (Influenza B Virus: IVB)

همانگونه که ذکر شد آنفولانزا نوع B بیشتر بر روی انسان اثرگذار است جدول ۴ برخی آپتامرهای طراحی شده برای IVB را نشان می‌دهد. دو آپتامر B/Tokyo/S3/99 و Jilin/20/2003 از بین آپتامرهای ساخته شده برای این ویروس بیشتر قابل توجه هستند (Lakshmipriya *et al.*, 2013). شدت حساسیت آپتامر توکیو ۲۵۰ بار بیشتر از آنتی بادی‌های تجاری است و نشانگر تاثیر آن بر ویروس آنفولانزا است.

٤- ویروس ابولا (Ebola Virus)

خانواده ویروس فیلوویده (Filoviridae) شامل ویروس کویوا (Cuevavirus)، ویروس ماربورگ (Marburgvirus) و ویروس ابولا یا EBOV می‌باشد. تب خونریزی‌دهنده ابولا (Ebola hemorrhagic fever) از طریق تماس با خون یا مایعات بدن حیوان آلوده و همچنین ترشحاتی همچون خلط افراد آلوده به این ویروس منتقل می‌شود. ژنوم ویروس ابولا یک RNA تک رشته‌ای و شامل پوشش ویروس، ماتریکس و اجزای نوکلئوکپسید است. این ژنوم هفت پروتئین ساختاری را رمز می‌کند که شامل نوکلئوپروتئین (NP)، پلی‌مراز کوفاکتور (GP، VP40 و VP35)، فعال کننده رونویسی (VP24 و VP30) و RNA پلی‌مراز هستند (شکل ۳). پنج گونه‌ای که تاکنون از ویروس ابولا شناسایی شده‌اند شامل زئیر (Zaire Ebolavirus)، بوندیبوگیو (Bundibugyo Ebolavirus)، سودان (Sudan Ebolaavirus)، رستون (Reston Ebolavirus) و جنگل تای (Taï Forest Ebolavirus) می‌باشد که در این بین، ابولا ویروس‌های زئیر، بوندیبوگیو و سودان شیوع گسترده در آفریقا دارند. اولین شیوع شناخته شده ابولا در انسان در سال ۱۹۷۶ میلادی به طور همزمان در جمهوری سودان و جمهوری دموکراتیک کنگو رخ داد. میزان مرگ و میر این گونه‌های شناخته شده ابولا بسیار متفاوت است (Binning *et al.*, 2013). گونه ابولا رستون، حتی باعث بیمار شدن فرد نمی‌شود. اما میزان مرگ و میر گونه بوندیبوگیو ٪۵۰ است و بر اساس اظهارات سازمان بهداشت جهانی، این میزان برای گونه سودان ٪۷۱ است (Shubham *et al.*, 2018). جدول ۵ برخی آپتامرهای ساخته شده برای تشخیص و درمان EBOV را نشان می‌دهد.



شکل ۳- ساختار ویروس ابولا

جدول ٤- برخی آپتامرهای ساخته شده برای IVB

آپتامر	نوع	توالی	هدف	عملکرد	منبع
Class A-20	RNA	GGGAGCUCAGCCUUCACUGCACUCCGGCUGGUGGACGCGGUACGAGCAAUUUGUACCGGAUGGAUGUUCGGGCAGCGGUGUGGCAGGGAUGAGCGGCACCACGGUCGGAUCCAC	HA	شناسایی و تشخیص ویروس	Gopinath *et al.*, (2006)
Tokio virus aptamer (clone D)	RNA	GGGAGAAUUCCGACCAGAAGUUUUUGUUUAUAUUGUUGUUUUAUUCCUUUCCUCUCCUUCCUCUUCU	کل سلول	شناسایی و تشخیص ویروس	Lakshmipriya *et al.*, 2013)
Jilin-HA aptamer	RNA	GGGAGAAUUCCGACCAGAAGGGUCUACGCCCGAAGGGUUGCCGUGCCUUUCCUCUCUCCUUCCUCUUCU	HA	شناسایی و تشخیص ویروس	Lakshmipriya *et al.*, 2013)

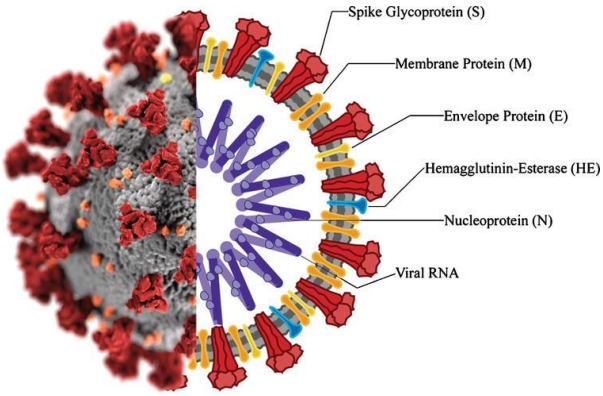
جدول ٥- برخی آپتامرهای ساخته شده برای برای EBOV

آپتامر	نوع	توالی	هدف	عملکرد	منبع
1G8–14, 2F11-14	RNA	GGGAGACAAGAAUAAACGCUCAAGGCAUUUCUGCUAGUCUGGUUGUAAGAUAUUCAACACGUGAGUUUCGACAGGAGGCUCACAACAGGC	VP35	مهار پلیمراز	Binning *et al.*, (2013)
39SGP1A	RNA	GGGAGAAUUCCGACCAGAAGUUUUUGUUUAUAUUGUUGUUUUAUUCCUUUCCUCUCCUUCCUCUUCU	گلیکوپروتئین	شناسایی و تشخیص ویروس	Shubham *et al.*, 2018)
21E, 21K, 21I	RNA	GGAAGATCTGGGAACAGTCCGAGCC	zinc-finger antiviral protein	شناسایی و تشخیص ویروس	Lakshmipriya *et al.*, 2013)

۵- ویروس کووید-۲۰۱۹ (Coronavirus disease 2019: COVID-19)

ویروس کرونا ۲۰۱۹ یا کووید-۱۹ (SARS-CoV-2) اولین بار در ماه دسامبر سال ۲۰۱۹ در شهر ووهان چین شناسایی شد. منشا این ویروس مانند SARS-CoV احتمالا خفاش است و پیش از آلودن افراد، از حیوان واسط عبور می‌کند. کرونا ویروس‌ها جزء ویروس‌های RNA دار تک‌رشته‌ای، پوشش‌دار و با قطر ۱۲۰-۸۰ نانومتر هستند و به ۴ گروه آلفا، بتا، دلتا و گاما تقسیم می‌شوند. COVID-19 عضو خانواده بتا کرونا ویروس‌ها است و هفتمین کرونا ویروس است که می‌تواند انسان را آلوده کند. چهار کرونا ویروس HCoV-OC43، HCoV-229E، HCoV-NL63 و HCoVHKU1 فقط بیماری‌های تنفسی خفیف ایجاد می‌کنند، این در حالی است که دو کرونا ویروس سارس (SARS-CoV) و مرس (MERS-CoV) دو همه‌گیری کشنده را رقم زدند. ساختار ژنومی معمول کرونا ویروس‌ها شامل پروتئین‌های ساختاری اسپایک (S)، غلاف (E)، غشایی (M) و نوکلئوکپسید (N) و همچنین چندین پروتئین جانبی منحصر به فرد می‌باشد (شکل ۴). orf1ab بزرگترین ژن SARS-CoV-2 است که پلی‌پروتئین pp1ab و ۱۵ nsp را رمز گذاری می‌کند (Chen *et al.*, 2020; Ren *et al.*, 2020). کووید-۱۹ از طریق زیرواحد متصل‌شونده به رسپتور RBD (Receptor-Binding Domain) که در پروتئین اسپایک قرار دارد، از آنزیم نوع ۲ مبدل آنژیوتانسین (Angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2 به عنوان رسپتور استفاده نموده و سلول‌های

دارای ACE2 را آلوده می‌کند. رسپتور ACE2 در سلول‌های آلوئولار، اندوتلیال عروق و میوسیت قلب یافت می‌شود (Ding *et al.*, 2017). به علت میل اتصالی بالای کووید-۱۹ به ACE2، تعداد ویروسی که سلول‌ها را آلوده می‌کند، بیشتر از سایر کرونا ویروس‌ها می‌باشد جدول ۶ برخی آپتامرهای ساخته شده برای ویروس کووید-۱۹ را نشان می‌دهد.



شکل ۳- ساختار ویروس‌کووید-۱۹

جدول ٦- برخی آپتامرهای ساخته شده برای ویروس کووید-۱۹

منبع	عملکرد	هدف	توالی	نوع	آپتامر
Chen *et al.*, 2020	شناسایی و تشخیص ویروس	N پروتئین	GCAATGGTACGGTACTTCCGGATG CGGAAACTGGCTAATTGGT GAGGCTGGGGCGGTCGTGCAGCA AAAGTGCACGCTACTTTGCTAA	DNA	N Aptamer 1
Chen *et al.*, 2020	شناسایی و تشخیص ویروس	N پروتئین	GCAATGGTACGGTACTTCCGGATG CGGAAACTGGCTAATTGGT GAGGCTGGGGCGGTCGTGCAGCA AAAGTGCACGCT	DNA	N Aptamer 2
Chen *et al.*, 2020	شناسایی و تشخیص ویروس	N پروتئین	GCAATGGTACGGTACTTCCGGATG CGGAAACTGGCTAATTGGT GAGGCTGGGGCGGT	DNA	N Aptamer 3

بحث و نتیجه‌گیری

شیوع و پاندمی ویروس کووید-۱۹ در سال ۲۰۱۹ میلادی بار دیگر اهمیت تشخیص و درمان سریع ویروس‌ها را برای پژوهشگران نمایان ساخت. در مقالات متعدد به کارگیری آپتامرها در تشخیص و درمان بیماری‌ها به علت ویژگی‌های خاص آنها مانند اختصاصی بودن و تمایل بالا به اتصال به مولکول‌های هدف، بسیارتاکید شده است و گزارشات متعددی از مزایای استفاده از آپتامرها در شناسایی و درمان ویروس‌ها به چاپ رسیده است. با اینحال کاربرد آپتامرها هنوز با مشکلاتی پیش رو است. اگرچه اصول انتخاب هدفمند لیگاند به روش غنی سازی نمایی (Systematics Evolution of Ligands by Exponential enrichment: SELEX) که برای انتهاب آپتامرها از یک کتابخانه تصادفی الیگونوکلئوتیدی بکار می‌رود در تمام هدف‌ها یکسان است اما جزییات آزمایش‌ها با یکدیگر متفاوت است و این امر زمانبر است. همچنین دشواری در روش PCR که به جهت تکثیر آپتامرهای طراحی شده به کار می‌رود، خود کاربرد گسترده آپتامرها را با مشکلاتی روبرو ساخته است. از دیگر سو آپتامرها در شرایط آزمایشگاهی تهیه می‌شوند و این امکان وجود دارد که ویژگی‌های آنها با تغییر شرایط، تغییر نماید و به عبارتی ساختار، عملکرد، تمایل آنها به اتصال به مولکول هدف و اختصاصی بودن آپتامرها در شرایط بالینی تغییر نماید. از دیگر سو تولید نوکلئوتیدها جهت طراحی آپتامرها هزینه بر می‌باشد. این موارد می‌تواند بر تولید و کاربرد گشتره آپتامرها صه بگذارد. اما تقویت طراحی آپتامرها، شناخت دقیق ساختار سه بعدی آپتامرها و همچنین آزمایش آپتامرها در شرایط برون تنی (*in vitro*) و درون تنی (*in vivo*) به طور یقین کاربرد آپتامرها را در شناسایی و درمان بیماری‌ها به ویژه ویروس‌ها تقویت خواهد نمود و با پیشرفت تکنولوژی، استفاده از آنها برای شناسایی و درمان ویروس‌ها به سرعت افزایش خواهد یافت.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت معنوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را داریم.

مراجع

Allen, P., Worland, S. and Gold, L. 1995. Isolation of high-affinity rna ligands to hiv-1 integrase from a random pool. Virology, 209(2): 327-336.

Belyaeva, T.A., Nicol, C., Cesur, Ö., Travé, G., Blair, G.E. and Stonehouse, N.J. 2014. An rna aptamer targets the pdz-binding motif of the hpv16 e6 oncoprotein. Cancers, 6(3): 1553-1569.

Binning, J.M., Wang, T., Luthra, P., Shabman, R.S., Borek, D.M., Liu, G., Xu, W., Leung, D.W., Basler, C.F. and Amarasinghe, G.K. 2013. Development of rna aptamers targeting ebola virus vp35. Biochemistry, 52(47): 8406-8419.

Blankson, J.N., Persaud, D. and Siliciano, R.F. 2002. The challenge of viral reservoirs in hiv-1 infection. Annual review of medicine, 53(1): 557-593.

Chen, Z., Wu, Q., Chen, J., Ni, X. and Dai, J. 2020. A DNA aptamer based method for detection of sars-cov-2 nucleocapsid protein. Virologica Sinica: 1.

Cheng, C., Dong, J., Yao, L., Chen, A., Jia, R., Huan, L., Guo, J., Shu, Y. and Zhang, Z. 2008. Potent inhibition of human influenza h5n1 virus by oligonucleotides derived by selex. Biochemical and biophysical research communications, 366(3): 670-674.

Dadonaite, B., Gilbertson, B., Knight, M.L., Trifkovic, S., Rockman, S., Laederach, A., Brown, L.E., Fodor, E. and Bauer, D.L. 2019. The structure of the influenza a virus genome. Nature microbiology, 4(11): 1781-1789.

de Soultrait, V.R., Lozach, P.-Y., Altmeyer, R., Tarrago-Litvak, L., Litvak, S. and Andreola, M. 2002. DNA aptamers derived from hiv-1 rnase h inhibitors are strong anti-integrase agents. Journal of molecular biology, 324(2): 195-203.

Dey, A.K., Khati, M., Tang, M., Wyatt, R., Lea, S.M. and James, W. 2005. An aptamer that neutralizes r5 strains of human immunodeficiency virus type 1 blocks gp120-ccr5 interaction. Journal of virology, 79(21): 13806-13810.

Ding, N., Zhao, K., Lan, Y., Li, Z., Lv, X., Su, J., Lu, H., Gao, F. and He, W. 2017. Induction of atypical autophagy by porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus contributes to viral replication. Frontiers in cellular and infection microbiology, 7: 56.

Gopinath, S.C., Misono, T.S., Kawasaki, K., Mizuno, T., Imai, M., Odagiri, T. and Kumar, P.K. 2006. An rna aptamer that distinguishes between closely related human influenza viruses and inhibits haemagglutinin-mediated membrane fusion. Journal of General Virology, 87(3): 479-487.

Gourronc, F.A., Rockey, W.M., Thiel, W.H., Giangrande, P.H. and Klingelhutz, A.J. 2013. Identification of rna aptamers that internalize into hpv-16 e6/e7 transformed tonsillar epithelial cells. Virology, 446(1-2): 325-333.

Graham, J.C. and Zarbl, H. 2012. Use of cell-selex to generate DNA aptamers as molecular probes of hpv-associated cervical cancer cells. PLoS One, 7(4): e36103.

Hekmat, A. 2021. The role of aptamers in diagnosis of human coronaviruses. Science Cultivation, 11(1): 69-75.

Khati, M., Schüman, M., Ibrahim, J., Sattentau, Q., Gordon, S. and James, W. 2003. Neutralization of infectivity of diverse r5 clinical isolates of human immunodeficiency virus type 1 by gp120-binding 2′ f-rna aptamers. Journal of virology, 77(23): 12692-12698.

Knipe, D., Howley, P., Griffin, D., Lamb, R., Martin, M., Roizman, B. and Straus, S. 2007. Fields virology, lippincott williams & wilkins. Philadelphia, PA [Google Scholar].

Lakshmipriya, T., Fujimaki, M., Gopinath, S.C. and Awazu, K. 2013. Generation of anti-influenza aptamers using the systematic evolution of ligands by exponential enrichment for sensing applications. Langmuir, 29(48): 15107-15115.

Leija-Montoya, A.G., Benítez-Hess, M.L. and Alvarez-Salas, L.M. 2016. Application of nucleic acid aptamers to viral detection and inhibition. Nucleic Acids—From Basic Aspects to Laboratory Tools, Edited by Marcelo L. Larramendy and Sonia Soloneski: 93-119.

Leija-Montoya, A.G., Benítez-Hess, M.L., Toscano-Garibay, J.D. and Alvarez-Salas, L.M. 2014. Characterization of an rna

aptamer against hpv-16 l1 virus-like particles. nucleic acid therapeutics, 24(5): 344-355.

Mathers, C. 2008. The global burden of disease: 2004 update. World Health Organization.

Nicol, C., Bunka, D.H., Blair ,G.E. and Stonehouse, N.J. 2011. Effects of single nucleotide changes on the binding and activity of rna aptamers to human papillomavirus 16 e7 oncoprotein. Biochemical and biophysical research communications, 405(3): 417-421.

Pavski, V. and Le, X.C. 2001. Detection of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase using aptamers as probes in affinity capillary electrophoresis. Analytical chemistry, 73(24): 6070-6076.

Phan, A.T., Modi, Y.S. and Patel, D.J. 2004. Propeller-type parallel-stranded g-quadruplexes in the human c-myc promoter. Journal of the American Chemical Society, 126(28): 8710-8716.

Proske, D., Blank, M., Buhmann, R. and Resch, A. 2005. Aptamers—basic research, drug development, and clinical applications. Applied microbiology and biotechnology, 69(4): 367-374.

Ren, L.-L., Wang, Y.-M., Wu, Z.-Q., Xiang, Z.-C., Guo, L., Xu, T., Jiang, Y.-Z., Xiong, Y., Li, Y.-J. and Li, X.-W. 2020. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: A descriptive study. Chinese medical journal.

Rye, P.D. and Nustad, K. 2001. Immunomagnetic DNA aptamer assay. BioTechniques, 30(2): 290-295.

Shiratori, I., Akitomi, J., Boltz, D.A., Horii, K., Furuichi, M. and Waga, I. 2014. Selection of DNA aptamers that bind to influenza a viruses with high affinity and broad subtype specificity. Biochemical and Biophysical Research Communications, 443(1): 37-41.

Shubham, S., Hoinka, J., Banerjee, S., Swanson, E., Dillard, J.A., Lennemann, N.J., Przytycka, T.M., Maury, W. and Nilsen-Hamilton, M. 2018. A 2′ fy-rna motif defines an aptamer for ebolavirus secreted protein. Scientific reports, 8(1): 1-11.

Stoltenburg, R., Reinemann, C. and Strehlitz, B. 2007. Selex—a (r) evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. Biomolecular engineering, 24(4): 381-403.

Strehlitz, B., Nikolaus, N. and Stoltenburg, R. 2008. Protein detection with aptamer biosensors. Sensors, 8(7): 4296-4307.

Suenaga, E. and Kumar, P.K. 2014. An aptamer that binds efficiently to the hemagglutinins of highly pathogenic avian influenza viruses (h5n1 and h7n7) and inhibits hemagglutinin–glycan interactions. Acta biomaterialia, 10(3): 1314-1323.

Toscano-Garibay, J.D., Benítez-Hess, M.L. and Alvarez-Salas, L.M. 2015. Targeting of the hpv-16 e7 protein by rna aptamers. In: Cervical cancer. Springer: pp: 221-239.

Yamamoto, R., Toyoda, S., Viljanen, P., Machida, K., Nishikawa, S., Murakami, K., Taira, K. and Kumar, P. 1995. In vitro selection of rna aptamers that can bind specifically to tat protein of hiv-1. In: Nucleic acids symposium series. pp: 145.

Zhang, Y., Yu, Z., Jiang, F., Fu, P., Shen, J., Wu, W. and Li, J. 2015. Two DNA aptamers against avian influenza h9n2 virus prevent viral infection in cells. PloS one, 10(3): e0123060.

Research in Karyotic Cell &Tissue, Volume 1, Issue 2, 2020 Pages 6-14

Short Article

Aptamers as a new approach in detection, diagnosis, and therapy of deadly Viruses

Azadeh Hekmat[1,*]

[1] Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*Correspondence to Azadeh Hekmat, Ph.D., hekmat@ut.ac.ir

Received 31st December 2019 Revised 23rd June 2020 Accepted 3rd September 2020

Abstracts

Humans have been battling viruses since before our species had even evolved into its modern form. some viruses are equally deadly, and some that are even deadlier. Accurate and early detection of viruses is often crucial for clinical diagnosis and therapy. Aptamers are the artificial single-stranded DNA, RNA sequences, or peptides that can bind to certain targets with tremendously high specificity. A number of their unique features make them a more effective choice than antibodies. Aptamers are 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. In this review, aptamers were briefly defined and their applications in the rapid detection and diagnosis of some deadly viruses (HIV, Ebola, IVA, IVB, HPV, SARS-CoV, MERS-CoV, and COVID-19) were described.

Keywords: Aptamer, Influenza, Ebola, HIV, HPV, COVID-19, Virus