Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 29, No.4, Winter 2019 REVIEW ARTICLE

RNA nanotechnology breakthrough for targeted release of RNA-based drugs using cell-based aptamers

Sohameh Mohebbi[1], Nahid Bakhtiari[2], Fahimeh Charbgoo[3], Zeinab Shirvani-Farsani[4]
[1]Department of Biotechnology, Ale-Taha Institute of Higher Education, Tehran, Iran
[2]Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran
[3]Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[4]Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Life Sciences and Technology, Shahid Beheshti University G.C., Tehran, Iran

Abstract

Nucleic acids play different roles besides storing information and proteins coding. For example, single-stranded nucleic acids can fold into complicated structures with capability of molecular detection, catalyzing bioreactions and therapy. The development of RNA-based therapies has been rapidly progressed in the recent years. RNA aptamers are biomolecules with a size of 10 to 50 nm that can be useful for targeted therapy and systemic release of therapeutics into the desired tissues. Aptamers can be linked to other RNA drugs and form a biohybrid RNA nanostructure. The chemical nature of the aptamers makes them attractive therapeutic agents compared to other small molecules and antibodies. In this review, we discuss different approaches related to drug targeting and release by RNA aptamers, since the importance of the aptamer-based nano-medicine is now well demonstrated and this field become a promising platform in the treatment of diseases.
Keywords: *Aptamer, RNA-based therapies, Nano-medicine, Nanoparticles.*

Cited as: Mohebbi S, Bakhtiari N, Charbgoo F, Shirvani-Farsani Z. RNA Nanotechnology breakthrough for targeted release of RNA-based drugs using cell-based aptamers, Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2019; 29(4): **275-283.**

Correspondence to: Nahid Bakhtiari
Tel: *+98 9122812960*
E-mail: nbakhtiari@irost.org
ORCID ID: 0000-0002-9262-4341
Received: 27 Aug 2018; **Accepted:** 13 Nov 2018

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۹، شماره ۴، زمستان ۹۸، صفحات ۲۷۵ تا ۲۸۳

Review Article

تلفیق آپتامرها با فناوری RNA

سهامه محبی[۱]، ناهید بختیاری[۲]، فهیمه چربگو[۳]، زینب شیروانی[۴]

[۱]دکترای نانوبیوتکنولوژی، استادیار گروه بیوتکنولوژی، موسسه آموزش عالی آل طه
[۲]دکترای بیوشیمی، استادیار پژوهشکده زیست فناوری، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران
[۳]دکترای نانو بیوتکنولوژی، پژوهشگر پسا دکترا، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
[۴]دکترای ژنتیک مولکولی، استادیار دانشگاه شهید بهشتی، گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی

چکیده

اسیدهای نوکلئیک نقش‌های متنوعی دارند و علاوه بر ذخیره اطلاعات و کد کردن پروتئین‌ها، ابزارهای سودمندی برای کشف جزئیات سامانه‌های زیستی پیچیده در سطح مولکولی هستند. اسیدهای نوکلئیک تک رشته‌ای می‌توانند به ساختارهای پیچیده‌ای که دارای توانایی تشخیص مولکولی و حتی کاتالیزی هستند پیچ بخورند. توسعه درمان‌های مبتنی بر RNA در سال‌های اخیر پیشرفت سریعی داشته است. آپتامرهای RNAای، شکلی از نانوذرات با اندازه ۱۰ تا ۵۰ نانومتر هستند که برای رهایش سیستمیک موثر به بافت‌های بیمار می‌توانند مفید باشند. آپتامرها می‌توانند به دیگر داروهای RNAای متصل شده و از طریق نانوفناوری RNA، یک دورگه بسازند. طبیعت شیمیایی آپتامرها آنها را به عناصر دارویی جذابی تبدیل می‌کند که با مولکول‌های کوچک و آنتی‌بادی‌ها رقابت می‌کنند. در این مقاله مروری، نمونه‌هایی از استراتژی‌های متنوع رهایش با واسطه آپتامر مورد بحث قرارگرفته است. به زودی اهمیت نانومدیسین مبتنی بر آپتامر اثبات خواهد شد و به روش درمانی مورد استفاده گسترده‌تری در درمان بیماری‌ها تبدیل خواهد شد.

واژگان کلیدی: *آپتامر، درمان مبتنی بر RNA، نانومدیسین، نانوذرات.*

مقدمه

مفهوم استفاده از آپتامرها به‌عنوان ابزار دارورسانی، از اصطلاح "آپتامر همراه (escort aptamer)" در سال ۲۰۰۰ توسط هیک و استفان ابداع شد و نشان داده شد که آپتامرها می‌توانند به‌عنوان ابزاری برای رسانش عوامل ثانویه تشخیصی و درمانی به کار روند (۱). با ظهور تکنیک‌های زیست‌شناسی مولکولی، نشان داده شده است که اسیدهای نوکلئیک نقش‌های متنوعی دارند و علاوه بر ذخیره اطلاعات و کد کردن پروتئین‌ها، ابزارهای سودمندی برای کشف جزئیات سامانه‌های زیستی پیچیده در سطح مولکولی هستند؛ اسیدهای نوکلئیک تک رشته‌ای می‌توانند به ساختارهای پیچیده با توانایی تشخیص مولکولی و حتی کاتالیزی تا بخورند. ساختار سه بعدی به وسیله توالی اسیدنوکلئیک، مشابه تئوری تاخوردگی پروتئین‌های آنفینسن (Anfinsen's protein folding theory) مشخص می‌شود (۲،۳). برای مثال، RNAهای انتقالی از فرم سه بعدی خود برای شناسایی مولکولی استفاده می‌کنند و برخی از RNAهای ریبوزومی می‌توانند مرحله کلیدی در مسیر سنتز پروتئین را کاتالیز کنند. آپتامرها، مشتق از کلمه آپتوس، به معنای تطبیق کردن، اولیگونوکلئوتیدهایی هستند که در آزمایشگاه ساخته می‌شوند و توانایی انجام عمل خاصی مانند اتصال به یک مولکول هدف یا کاتالیز یک واکنش را دارند (۴،۵). به وسیله انتخاب تکرارهای اسیدنوکلئیکی از بین ۱۰۱۸ مولکول مختلف در یک لوله آزمایش و به دنبال آن تکثیر به وسیله PCR توانستند برای نخستین بار انتخاب اسید نوکلئیکی را از بین یک کتابخانه ترکیبی تصادفی اسیدنوکلئیک در سال

آدرس نویسنده مسئول: سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران، پژوهشکده زیست فناوری ناهید بختیاری (**email**: nbakhtiari@irost.org)
ORCID ID: 0000-0002-9262-4341
تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۶/۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۷/۸/۲۲

۱۹۹۰ نشان دهند (۴،۵). تنوع بسیار زیاد مولکول‌های اسکرین شده به این روش به کشف مولکول‌هایی منجر شده است که با ویژگی بسیار و قدرت فوق‌العاده متصل می‌شوند.

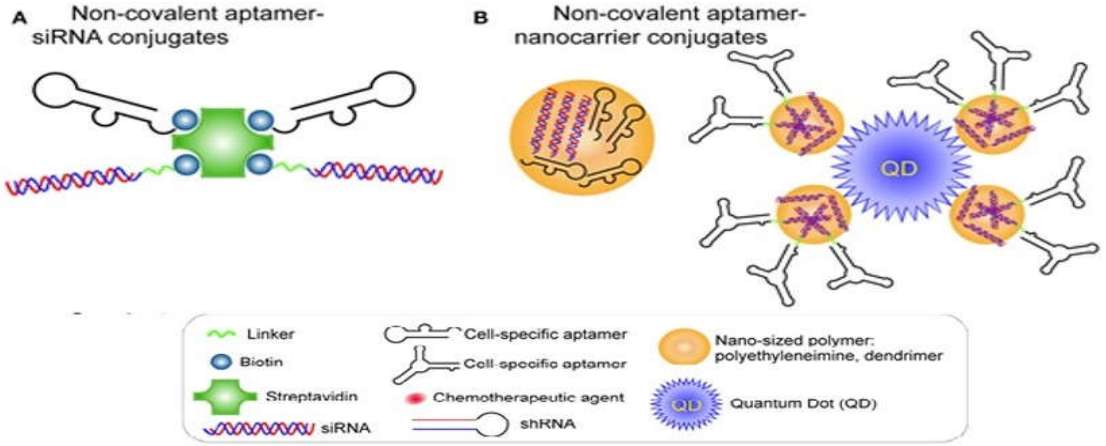
فلسفه آپتامرها شباهت‌هایی به مولکول‌های کوچک و آنتی‌بادی‌های درمانی دارد (۸-۶). طبیعت شیمیایی آپتامرها آنها را به عناصر دارویی جذابی تبدیل می‌کند که با مولکول‌های کوچک و آنتی‌بادی‌ها رقابت می‌کنند. مشابه مهار کننده‌های سنتی کوچک مولکول، از قبیل داروهای پرفروش ویاگرا، گلیوک و تامی‌فلو، آپتامرها در شکاف مناسب در سطوح پروتئین، به خصوص سایت‌های فعال آنزیم برای مهار فعالیت آن جفت می‌شوند (۹).

یکی از استفاده‌های نوآورانه از آن‌ها این است که به عنوان حامل دارو برای درمان هدفمند سلول یا بافت خاص مورد استفاده قرارگیرند (۱۰) و آپتامرها چندین ویژگی مهم برای این منظور خاص را ارائه می‌کنند (۱۱). اول اینکه، آپتامرها تشکیل ساختارهای سه بعدی پایدار می‌دهند که می‌توانند بسیار متمایز باشند و به طور خاص به اهداف مولکولی خود متصل شوند؛ زیرا ساختار فضایی آنها در محیط داخل بدن باقی می‌ماند (۱۲). دوم، آپتامرها نقش‌های معنی‌داری در تعیین شکل و استوکیومتری بازی می‌کنند. برخلاف آنتی بادی، اسیدهای نوکلئیک می‌تواند در یک مد بسیار قابل برنامه‌ریزی و قابل پیش بینی خود تجمع ذاتی داشته باشند تا حلقه‌های مختلف و

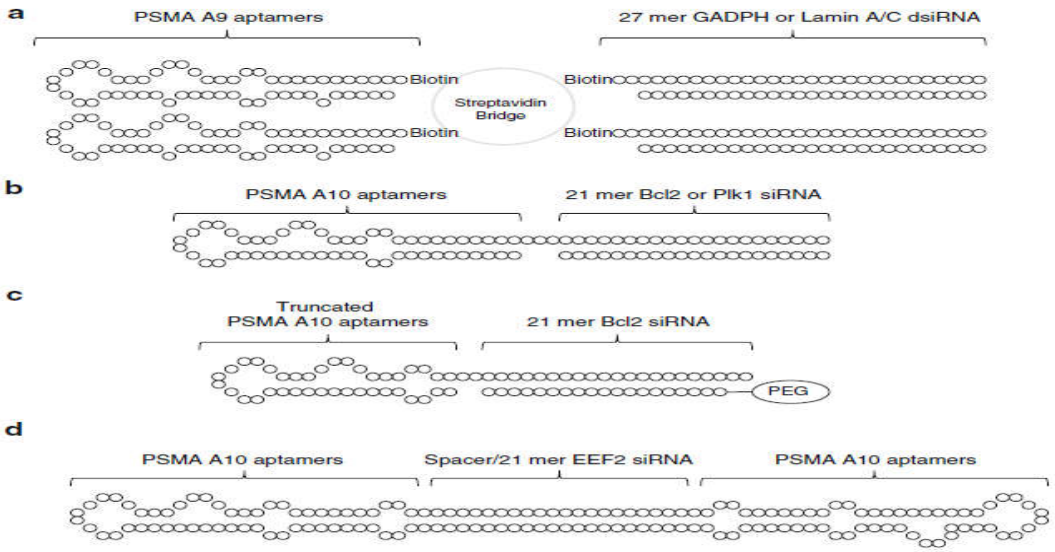
جدول۱. مثال‌هایی از آپتامرهای متصل شونده به گیرنده برای رسانش هدفمند (۲۲-۱۸)

Cell surface target	Oligo	Cargo	Reference
Prostate-specific membrane antigen	RNA aptamer	Anti-Lamin A/C siRNA	Chu et al. (2006b)
Prostate-specific membrane antigen	RNA aptamer	Polo-like kinase 1 (PLK1) and BCL2 siRNA	McNamara et al. (2006)
Prostate-specific membrane antigen	RNA aptamer	Eukaryotic elongation factor 2 (EEF2) siRNA	Wullner et al. (2008)
Prostate-specific membrane antigen	RNA aptamer	Polo-like kinase 1 (PLK1) siRNA	Dassie et al. (2009)
Prostate-specific membrane antigen	RNA aptamer	Gelonin (toxin)	Chu et al. (2006a)
Prostate-specific membrane antigen	RNA aptamer	Doxorubicin (cancer drug)	Bagalkot et al. (2006)
Prostate-specific membrane antigen	RNA aptamer	Cisplatin (cancer drug, encapsulated in aptamer-coated nanoparticle)	Dhar et al. (2008)
Prostate-specific membrane antigen	RNA aptamer	Docetaxel (cancer drug, encapsulated in aptamer-coasted nanoparticle)	Farokhzad et al. (2006)
Prostate-specific membrane antigen	RNA aptamer	Super-paramagnetic iron oxide (encapsulated in aptamer-coated nanoparticle for diagnostic use)	Wang et al. (2008)
Nucleolin	DNA aptamer (AS1411)	Cisplatin (cancer drug, encapsulated in aptamer-coated liposome)	Cao et al. (2009)
Nucleolin	DNA aptamer (AS1411)	TMPyP4 (photodynamic therapy)	(Shieh et al. 2010)
HIV glycoprotein (gp) 120	RNA aptamer	Tat/Rev siRNA, CD4 siRNA	Zhou et al. (2008, 2009)
O-glycan-peptide marker on cancer cells	DNA aptamer	Chlorin e_6 (photodynamic therapy)	Ferreira et al. (2009)
Mouse transferrin receptor	DNA and RNA aptamers	α-L-iduronidase (a lysosomal enzyme for enzyme replacement therapy)	Chen et al. (2008)

ساختارهای متنوع ترمودینامیکی پایدار را با استفاده از هر دو نوع میان‌کنش‌های بازی متعارف و غیرمتعارف تشکیل دهند (۱۳،۱۴). بنابراین، با توجه به ماهیت شیمیایی آپتامرها، آنها پتانسیل فوق العاده‌ای برای تشکیل بلوک‌های ساختمانی برای ساخت ساختارهای مصنوعی در مقیاس نانو برای مصارف صنعتی با استفاده از RNA نانوفناوری دارند. به عنوان مثال، آپتامرها می‌توانند از نظر شیمیایی با دیگر داروهای مبتنی بر RNA مانند siRNA ها کنژوگه شده و تشکیل نانوذراتی را برای رهایش هدفمند بدهند (۱۵). در اصل، اهداف سطحی سلول ممکن است نانوذرات آپتامری متصل را به عنوان "محموله درمانی" به داخل سلول منتقل کنند؛ در نتیجه سبب تسهیل اثر درمانی در سلول‌های هدف شوند. در حالی که سلول‌های غیر هدف چنین "محموله‌ای" را دریافت نمی‌کنند و عوارض جانبی ناخواسته می‌تواند به حداقل برسد. تعدادی از آپتامرهای واردشده به سلول،



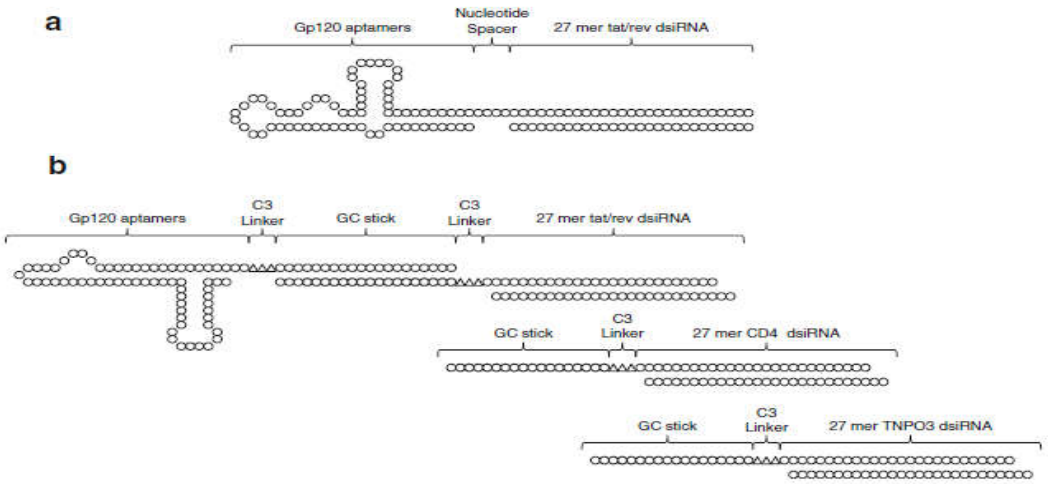
شکل ۱. رهایش RNAi با واسطه آپتامر در درمان سرطان. (A) نمایی از کانژوگه siRNA-آپتامر که به صورت غیر کوالان متصل شده اند. آپتامرهای ویژه سلولی و دو رشته siRNA ۲۷ مری به صورت شیمیایی از طریق یک گروه بیوتین متصل شدند. سپس، دو DsiRNA و دو آپتامر به صورت غیر کوالان از طریق یک استرپتاویدین تجمع یافتند. (B) نمایی از کایمر آپتامر-siRNA یا shRNA با اتصال کوالان. آپتامر تغیر یافته ′۲ فلوئور و رشته سنس siRNA به صورت همزمان رونویسی شدند سپس رشته آنتی سنس siRNA به آنها ملحق شد تا مولکول کایمر تکمیل شود (۲۸).



شکل ۲. نانوذرات آپتامر_siRNA ضد PSMA . (a) آپتامرهای A9 PSMA و ۲۷-mer GADPH/ Lamin A/C dsiRNA بیوتینیله شده و سپس به پل استرپتاویدین متصل شدند. (b) آپتامرهای A10 PSMA و siRNAهای ۲۱مری Bcl2/Plk1 برای تشکیل کایمر به هم متصل شدند. (c) آپتامرهای کوتاه شده‌ی A10 PSMA و siRNAهای ۲۱مری Bcl2 برای تشکیل یک کایمر متصل شدند. یک دنباله‌ی PEG به انتهای ′5 رشته‌ی مسافر siRNA اضافه شد. (d) آپتامرهای PSMA بوسیله‌ی siRNA های EEF2 دایمریزه شدند که به عنوان یک فاصله انداز برای اتصال دو آپتامر A10 PSMA در دو انتها عمل می‌کند.

شناسایی، و به دلیل میل ترکیبی و اختصاصیت بالا و امکان کانژوگه شدن شیمیایی، به‌طور ویژه برای تحویل هدفمند طیف گسترده‌ای از گونه‌های مولکولی (به‌عنوان‌مثال، siRNA ها و داروهای ضد سرطان) آماده شده‌اند (جدول ۱). روش آپتامر-کایمر می‌تواند عوارض جانبی ناخواسته مرتبط را با هدف قرار دادن اختصاصی کاهش می‌دهد. قبل از استفاده از آپتامرها برای رسانش هدفمند، آنتی‌بادی‌ها نقش مشابهی درآوردن عوامل ثانویه به انواع سلول‌های خاص، بر عهده داشتند (۱۶). به‌هرحال آپتامرها نسبت به آنتی‌بادی‌ها، مزیت‌هایی دارند (۱۷). اول اینکه آپتامرها اندازه‌ای حدود ۶-۲۵ کیلو دالتون دارند که به آن‌ها اجازه می‌دهد به دمین‌های پروتئینی خاصی دسترسی داشته باشند که آنتی‌بادی‌ها به دلیل حجیم بودن (>100 kDa) قادر به دستیابی به آن نیستند. اگرچه فرآیند ورود آپتامر به پروتئین‌های هدف واسطه ورود وابسته است، اندازه کوچک آپتامرها مزیت مهمی محسوب می‌شود و اجازه می‌دهد در مقایسه با آنتی‌بادی‌ها، مولکول‌های بیشتری به پروتئین هدف متصل شوند؛ درنتیجه کارایی ورود و تأثیرگذاری دارو را افزایش می‌دهد. دوم اینکه آپتامرها در لوله‌آزمایش و به‌صورت شیمیایی سنتز می‌شوند و رابطه ساختار-فعالیت ثابتی دارند. این ویژگی به آپتامرها اجازه می‌دهد به طیف وسیعی از محموله‌ها شامل siRNA، داروها، توکسین ها، آنزیم‌ها، مولکول‌های فوتودینامیک و رادیو نوکلئوتید اتصال یابند. سوم اینکه آپتامرها برخلاف آنتی‌بادی‌ها به تغییرات دما و pH حساس نیستند و حتی وقتی بالاتر از دوز درمانی در پستانداران ازجمله انسان به کار روند، ایمونوژن و سمی نیستند. فعالیت آپتامرها با استفاده از آن‌ها حفظ می‌شود (۱۵).

ماکرومولکول‌های بیولوژیکی، شامل DNA، RNA و پروتئین‌ها، ممکن است به‌عنوان بلوک‌های ساختمانی قدرتمند و منحصربه‌فرد برای مونتاژ از پایین به بالای ساختارهای نانو و نانو ابزارها به کار روند که آن‌ها به‌طور ذاتی ویژگی‌های تعریف‌شده‌ای در مقیاس نانومتری دارند. RNA با دارا بودن تفاوت‌های جالب‌توجه در ساختار و تنوع در عملکرد، برای این کاربردها مناسب است. RNA می‌تواند طراحی شود و با یک سطحی از ویژگی‌های ساده DNA دست ورزی شود، درحالی‌که در همان زمان پیچیدگی در ساختار و عملکرد مشابه پروتئین‌ها را داراست. مارپیچ دوگانه RNA-RNA ازنظر ترمودینامیکی پایدارترین مارپیچ در بین سه مارپیچ RNA-RNA، RNA-DNA و DNA-DNA هست؛ بنابراین RNA به‌عنوان یک بلوک ساختمانی پایدار جهت ساخت نانو ذرات RNA برای شرایط و کاربردهای مختلف به‌کاربرده می‌شود. در دهه‌های گذشته، انواع مختلف مولکول RNA مانند ریبوزیم، siRNA، آنتی سنس و آپتامرها به‌طور بالقوه برای درمان بر پایه نانوتکنولوژی مورداستفاده قرارگرفته‌اند (۲۶-۲۳). گرچه این روش ها با کارایی و اختصاصیت بالا برای خاموش کردن بیان ژن ها در شرایط برون تنی استفاده می‌شود ولی تحویل کارامد RNA به سلول خاص بصورت درون تنی به صورت یک چالش باقی مانده است. چندین مانع کلیدی در تحویل درمانی RNA برای کاربردهای موفق آن در درمان بیماری‌ها باید برطرف شود: ۱) داروی RNA نباید کوچک‌تر از ۱۰ nm باشد، در غیراین صورت به سرعت از طریق کلیه‌ها از بدن حذف می‌شود، ۲) RNA نباید بزرگتر از ۵۰۰nm یا حتی nm ۱۰۰ باشد زیرا قادر به ورود به سلول از طریق اندوسیتوز نیست، و



شکل ۳. اتصالات gp120 aptamer–siRNA . (a) آپتامرهای gp120 و dsiRNA های ۲۷مری tat/rev که از طریق یک اتصال دهنده‌ی ۴ نوکلئوتیدی به هم متصل شدند. (b) آپتامرهای gp120 و انواع dsiRNAهای ۲۷مری ضد tat/rev، TNPO3 و CD4 از طریق یک پل چسبنده‌ی غنی از GC به هم متصل شدند (۲۸).

۳) RNA باید به صورت اختصاصی به سلول هدف وارد شود و به محل فعالیت خود برسد. برای رسیدن به این اهداف، گسترش نانو ابزارهایی با کارایی و اختصاصیت بالا و غیر بیماری زا بسیار مورد نیاز است. رسانش با واسطه آپتامر پتانسیل جدیدی در این رابطه محسوب می‌شود (۱۵).

بحث

کایمر آپتامر- siRNA

آپتامرهای RNA ویژگی‌های ذاتی دارند که آن‌ها را به بلوک‌های ساختمانی بالقوه برای ساخت پایین به بالا نانوذرات تبدیل می‌کند (۲۷). RNA به دلیل ساختار و عملکرد متنوع، در ساختن منحصربه فرد است. یک ساختار بزرگتر دو یا سه بعدی نانوذرات RNA می‌تواند در یک روش قابل پیش بینی به وسیله مونتاژ خود به خودی تک مولکول‌های RNA، ساخته شود. آپتامرهای RNA و siRNA به طور موفق به صورت غیرکووالانسی برای ساخت یک کایمر جهت رسیدن به رسانش هدفمند siRNA، افزایش پتانسیل تداخل RNA و کم کردن عوارض جانبی ناخواسته، به هم متصل شده‌اند (۱۵). مولکول‌های siRNA دوپلکس های RNA حدود ۲۲ نوکلئوتیدی هستند با یک توالی ۲ نوکلئوتیدی در انتهای 3' که می‌تواند مکانیسم تداخل RNA سلولی (RNAi) را برای خاموش کردن ژن اختصاصی به راه بیندازد. مثال‌های زیر چندین روش مختلف خودبازآرایی آپتامر و siRNA برای درمان هدفمند را بیان می‌کند.

RNAi با واسطه آپتامر ضد آنتی ن غشایی پروستات (PSMA)

آنتی‌ژن غشایی اختصاصی پروستات (PSMA) یک پروتئین عبور کننده از غشا است که در مراحل اولیه و متاستاز سرطان پروستات به میزان بالا روی سطح سلول و غشای اندوتلیوم بیان می‌شود، ولی روی سطح سلول های اپی‌تلیال طبیعی پروستات بیان نمی‌شود. آپتامر ضد PSMA به طور موفقیت آمیزی برای رسانش هدفمند siRNA به سلول‌های هدف سرطانی به کار برده شد (۳۰). در مطالعه‌ای که توسط چو و همکارانش انجام گرفت، آپتامرهای PSMA A9 به صورت غیرکووالانسی به siRNA سوبسترای دایسر ۲۷-مر بر ضد GAPDH یا لامین A/C با استفاده از یک استراتژی مدولار جفت شدند که آپتامرهای PSMA وsiRNA سوبسترای دایسر به طور جداگانه بیوتینه شدند و سپس با اتصال به یک پل استرپتاویدین با هم متحد شدند (شکل ۲a) (۱۸).

RNAi با واسطه آپتامر برای درمان HIV_1

به نظر می‌رسد که عفونت HIV_1 به وسیله میان‌کنش بین گیرنده سطح سلول میزبان CD4 و گلیکوپروتئین gp120 پوشش خارجی ویروس آغاز می‌شود و درپی آن منجر به ادغام غشای ویروس با غشای سلول هدف می‌شود (۳۰،۳۱). بنابراین هم CD_4 و هم gp120 اهداف اولیه برای درمان HIV1 هستند. بر همین اساس، گروهی از محققین مدلی را طراحی کردند که آپتامرهای ضد gp120 را با siRNA ای که ژن های مسئول HIV_1 را هدف قرار می‌دهد، مونتاژ می‌کرد (۳۲). در اولین گزارش، آپتامر ضدgp120 با رشته سنس یک siRNA اگزون رایج anti HIV tat/rev با هم ترجمه شدند و سپس با یک رشته آنتی سنس تغییر شکل نیافته مکمل anti HIV tat/rev siRNA هیبرید شدند (شکل ۳a) (۳۳). کایمر آپتامر-siRNA عملکرد دوگانه متفاوتی دارند: ۱) آپتامر ضد gp120، میانکنش CD_4 و gp120 و ورود و الحاق HIV_1 به سلول را مهار می‌کند. ۲) anti HIV tat/rev siRNA بیان پروتئین های ویروسی Tat و Rev را خاموش می‌کند و در نتیجه نسخه برداری ژنوم ویروس را مهار می‌کند.

RNAi با واسطه آپتامر ضد Her2

جین گرند و همکارانش، کانژوگه آپتامر Bcl2 siRNA-Her2 را برای درمان سرطان سینه به کار بردند (۳۴). Her2 یک گیرنده سطح سلول فاکتور رشد اپیدرمال است که در تومور اولیه و مناطق متاستاز، بیش بیان می‌شود (۳۵). در حالی‌که Bcl2 یک ژن ضد آپوپتوز است که آپوپتوز القا شده با ترکیبات شیمیایی را در سلول‌های سرطان سینه انسانی مهار می‌کند (۳۶). از آنجایی که سرطان سینه +Her2 نسبت به سلول های سرطانی فاقد Her2، پیشرونده‌تر و مقاوم‌تر به شیمی‌درمانی هستند، آپتامرهای Her2 برای انتقال انتخابی Bcl2 siRNA به سلول‌های سرطانی +Her2 انتخاب شدند (۳۴). کانژوگه آپتامر-Bcl2 siRNA پس از عرضه به سلول، به طور اختصاصی وارد سلول‌های سرطان سینه $Her2^+$ شده و سبب کاهش بیان ژن Bcl_2 شد (۱۱).

کایمر آپتامر- آنتی سنس

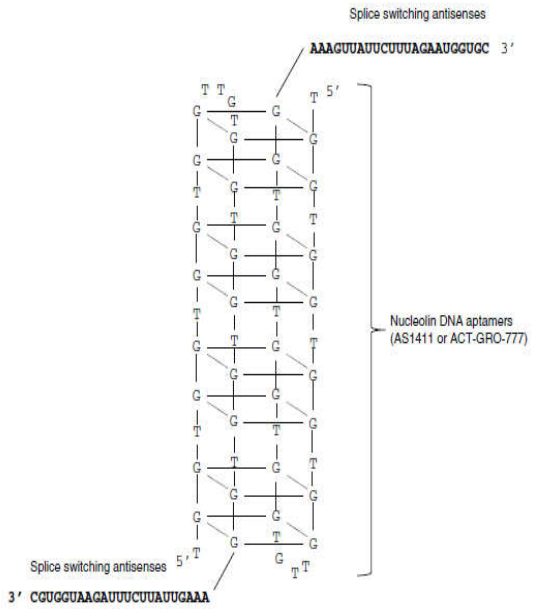
رسانش با واسطه آپتامر الیگونوکلئوتید درمانی، خودشان را به رسانش نوکلئیک اسید درون سیتوزول سلول محدود نمی‌کنند و رسانش هسته ای را هم انجام می‌دهند. به تازگی سولنجر و همکارانش یک کایمر مبتنی بر آپتامر با الیگو آنتی سنس به عنوان محموله (cargo) طراحی کرده‌اند که درون هسته آزاد می‌شود (شکل۴) (۳۷). الیگو آنتی سنس به کار رفته، RNA تک رشته‌ای با ستون فقرات شیمیایی 2′-O-Me

phosphorothioate است که به محل پیرایش (splicing) تقویت‌کننده (enhancer) متصل می‌شود تا مانع دسترسی به ماشین پیرایش شود؛ در نتیجه الگوی پیرایش mRNA هدف و سپس پروتئین های کد شده را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳۸). نام دیگر این نوع الیگونوکلئوتید آنتی سنس، الیگونوکلئوتید splice-switching است. الیگوی splice-switching که لوسیفراز را هدف قرار می‌دهد، به انتهای ´3 آپتامر nucleolin متصل می‌شود (۱۲). از آنجایی که nucleolin در بسیاری از سرطان‌ها بیش بیان شده و به عنوان یک شاتل پروتئینی از غشای سلولی به هسته انتقال می‌یابد، کایمر آپتامر- الیگوی splice-switching به نوکلئولیم متصل شده و وارد هسته می-گردد و ویرایش pre-mRNA راتغییر می‌دهد و همچنین دوز درمانی کمتری در مقایسه با الیگوی splice-switching تنها لازم دارد (۱۲، ۱۴، ۳۹).

نتیجه‌گیری و چشم‌انداز آینده

آپتامرها، اسیدهای نوکلئیک غیر کدکننده تک‌رشته‌ای هستند که می‌توانند در شرایط برون تنی تکامل‌یافته و با تشکیل یک ساختار سه‌بعدی فعال نسبت به هدف خود یک عملکرد ویژه را انجام دهند. آپتامرها بازدارنده‌های آنزیمی فوق‌العاده قوی و خاصی را تولید می‌کنند که قابل‌مقایسه و اغلب حتی بهتر از آنتی‌بادی‌های درمانی و مولکول‌های کوچک متداول هستند؛ درعین‌حال نگرانی‌های مربوط به ایجاد پاسخ ایمنی و سمیت در مورد آن‌ها وجود ندارد (۴۰). همچنین تا به امروز، پیشرفت‌های قابل‌توجهی در نانو فناوری RNA، خودآرایی الیگونوکلئوتیدهای درمانی مختلف به شکل نانو ذرات را امکان‌پذیر ساخته است (۱۴). این نانو ذرات به‌طورکلی از مولکول‌های RNA تشکیل‌شده و پتانسیل بسیار زیادی در کاربردهای درمانی دارند که به برخی از آن‌ها در زیر اشاره‌شده است:

اندازه مناسب، ظرفیت چندگانه، کمترین تحریک پاسخ ایمنی ذاتی، ماهیت شیمیایی نانو ذرات RNA، تولید مولکول‌های RNA از طریق سنتز شیمیایی با دقت و تکرارپذیری بی‌نهایت، خالص سازی با درجه بسیار بالا، بازگشت سریع فعالیت دارو، و انتخاب و شناسایی مولکول RNA قوی. بنابراین، تنوع نسل به نسل در سنتز RNA حداقل است. با توجه به ماهیت شیمیایی نانو ذرات RNA، مولکول‌های گزارشگر و یا گروه‌های فعال می‌تواند در طول سنتز شیمیایی در جایگاه دقیق به مولکول‌های RNA اضافه گردد (۴۱).



شکل۴. آپتامرهای AS1411 هسته چهارتایی ضد موازی دایمر G به وسیله اولیگونوکلئوتیدهای spliceswitching

تحقیقات بیشتر در توسعه نانو فناوری RNA باهدف مقابله با سه چالش اصلی زیر باید انجام گیرد:

اولین و مهم‌ترین چالش این است که به نظر می‌رسد نانو ذرات RNA از طریق مسیر اندوسیتوز به درون سلول وارد می‌شود که می‌تواند به چهار نوع مختلف تقسیم شود: (۱) اندوسیتوز باواسطه کلاترین، (۲) اندوسیتوز باواسطه کاوئولا، (۳) اندوسیتوز مستقل از کاوئولا و کلاترین و (۴) فاگوسیتوز و ماکروپینوسیتوز (۴۴-۴۲).

دومین مبحث مهم که کاربرد گسترده این فناوری را محدود می‌کند، این است که گیرنده‌های شناخته‌شده سطح سلولی مربوط به ورود به داخل سلول بسیار اندک هستند؛ بنابراین این احتمال وجود دارد که آپتامرهای انتخاب‌شده در فرایند SELEX سلولی، تنها به سطح سلول اتصال یافته، اما به‌طور مؤثر به سیتوپلاسم سلول وارد نشوند. در این مورد، محموله دارویی، مانند siRNAها یا آنتی‌سنس، همراه با آپتامرها نمی‌تواند به جایگاه عمل خود برسد.

سوم اینکه، اگرچه فناوری سنتز اسید نوکلئیک به‌طور قابل‌توجهی در دهه گذشته، بهبودیافته است؛ اما، هزینه تولید RNAهای طویل و با درجه cGMP و باکیفیت بالا در مقیاس صنعتی بسیار زیاد بوده و به‌طور قابل‌توجهی توسعه بالینی و حتی تست‌های پیش بالینی در حیوانات را محدود می‌کند (۴۵-۴۱).

پیش‌بینی می‌شود که نانو ذرات مبتنی بر آپتامر جدید، مانند کایمرهای آپتامر-micro RNA، کایمراهای آپتامر-antagomir، کایمراهای آپتامر- mRNA، RNA (sa) فعال کوچک- آپتامر، کایمراهای آپتامر-آپتامر و حتی نانوذرات چند ظرفیتی آپتامر-microRNA-siRNA، به‌زودی توسعه خواهد یافت. درمجموع این نانو ذرات مبتنی بر آپتامر کاربردهای مختلفی خواهند داشت؛ و با اطمینان می‌توان گفت در چند سال آینده، فناوری نانو نقش حیاتی در تسریع ترجمه و توسعه داروهای مبتنی بر RNA ایفا خواهد کرد.

REFERENCES

1. Hicke BJ, Stephens AW. Escort aptamers: a delivery service for diagnosis and therapy. J Clin Invest 2000; 106:923-28.

2. Paris G, Kraszewski S, Ramseyer C, Enescu M. About the structural role of disulfide bridges in serum albumins: evidence from protein simulated unfolding. Biopolymers 2012; 97: 889–98.

3. Govindarajan S, Goldstein R. On the thermodynamic hypothesis of protein folding. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95:5545-49.

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

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

6. Lakhin AV, Tarantul VZ, Gening LV. Aptamers: problems, solutions and prospects. Acta Naturae 2013; 5: 34–43.

7. Crivianu-Gaita V, Thompson M. Aptamers, antibody scFv, and antibody Fab' fragments: An overview and comparison of three of the most versatile biosensor biorecognition elements. Biosens Bioelectron 2016;85:32-45.

8. Majumder P, Gomes KN, Ulrich H. Aptamers: from bench side research towards patented molecules with therapeutic applications. Expert Opin Ther Pat 2009;19:1603–13.

9. Dunn MR, Jimenez RM, Chaput JC. Analysis of aptamer discovery and technology. Nature Rev Chem 2017;10: 0076.

10. Sun W, Du L, Li M. Advances and perspectives in cell-specific aptamers. Curr Pharm Des 2011;17:80–91.

11. Zhou J, Rossi JJ. Aptamer-targeted cell-specific RNA interference. Silence 2010;1:4.

12. Klussmann S, ed. The aptamer handbook: functional oligonucleotides and their applications. Germany: Wiley; 2006.

13. Rossi JJ. RNA nanoparticles come of age. Acta Biochim Biophys Sin 2011;43:245–47.

14. Guo P, Coban O, Snead NM. Engineering RNA for targeted siRNA delivery and medical application. Adv Drug Deliv Rev 2010;62:650–66.

15. Zhou J, Rossi JJ. Cell-specific aptamer-mediated targeted drug delivery. Oligonucleotides 2011;21:1–10.

16. Song E, Zhu P, Lee SK. Antibody mediated in vivo delivery of small interfering RNAs via cell-surface receptors. Nat Biotechnol 2005.23:709–717.

17. Nimjee SM, White RR, Becker RC, Sullenger BA. Aptamers as therapeutics. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2017; 57:61-79.

18. Chu TC, Twu KY, Ellington AD. Aptamer mediated siRNA delivery. Nucleic Acids Res 2006; 34:e73

19. McNamara JO 2nd, Andrechek ER, Wang Y, Viles KD, Rempel RE, Gilboa E, et al. Cell type-specific delivery of siRNAs with aptamer-siRNA chimeras. Nat Biotechnol 2006;24:1005-15.

20. Wullner U, Neef I, Eller A, Kleines M, Tur MK, Barth S. Cell-specific induction of apoptosis by rationally designed bivalent aptamer-siRNA transcripts silencing eukaryotic elongation factor 2. Curr Cancer Drug Targets 2008; 8:554–65.

21. Dassie JP, Liu XY, Thomas GS, Whitaker RM, Thiel KW, Stockdale KR, et al. Systemic administration of optimized aptamer-siRNA chimeras promotes regression of PSMA-expressing tumors. Nat Biotechnol 2009; 27:839-49.

22. Dhar S, Gu FX, Langer R, Farokhzad OC, Lippard SJ. Targeted delivery of cisplatin to prostate cancer cells by aptamer functionalized Pt(IV) prodrug-PLGA-PEG nanoparticles. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105:17356–61.

23. Charbgoo F, Behmanesh M, Nikkhah M, Kane EG. RNAi mediated gene silencing of ITPA using a targeted nanocarrier: apoptosis induction in SKBR3 cancer cells, Clin Exper Pharmacol Physiol 2017;44: 24-31.

24. Mohebbi S, Behmanesh M, Nikkhah M, Tohidi Moghadam T. Apoptosis induction in glioma cells by downregulation of HIF-1α gene. JMBS 2017; 9:103-10. [In Persian]

25. Bakhtiari N, Safavi SM, Hoseinipajouh KH. Cytotoxic effects of Clusterin antisense oligonucleotides and Docetaxel on two prostate cancer cell lines. JQUMS. 2015;19: 4-10. [In Persian]

26. Bakhtiari N, Mirshahi M, Babaeipour V, Maghsoudi N. Inhibition of ackA and pta genes using two specific antisense RNAs reduced acetate accumulation in batch fermentation of E.coli BL21(DE3). Iranian J Biotechnol 2010; 8: 243-51.

27. Guo P. The emerging field of RNA nanotechnology. Nat Nanotechnol 2010;5:833-42.

28 Zhou J, Bobbin ML, Burnett JG, Rossi JJ. Current progress of RNA aptamer-based therapeutics. Front Genet. 2012;3:234.

29. Anilkumar G, Rajasekaran SA, Wang S, Hankinson O, Bander NH, Rajasekaran AK. Prostate-specific membrane antigen association with filamin A modulates its internalization and NAALADase activity. Cancer Res 2003; 63:2645-48.

30. Markovic I, Clouse KA. Recent advances in understanding the molecular mechanisms of HIV-1 entry and fusion: revisiting current targets and considering new options for therapeutic intervention. Curr HIV Res 2004; 2:223-34.

31. Wilen CB, Tilton JC, Doms RW. Molecular mechanisms of HIV entry. Adv Exp Med Biol 2012;726:223-42.

32. Zhou J, Li H, Li S, Zaia J, Rossi JJ. Novel dual inhibitory function aptamer-siRNA delivery system for HIV-1 therapy. Mol Ther 2008;16:1481-89.

33. Zhou J, Swiderski P, Li H, Zhang J, Neff CP, Akkina R, et al. Selection, characterization and application of new RNA HIV gp 120 aptamers for facile delivery of dicer substrate siRNAs into HIV infected cells. Nucleic Acids Res 2009;37:3094-109.

34 Thiel KW, Hernandez LI, Dassie JP, Thiel WH, Liu X, Stockdale KR, Rothman AM, et al. Delivery of chemo-sensitizing siRNAs to HER2 + _breast cancer cells using RNA aptamers. Nucleic Acids Res. 2012; 40:6319-37.

35. Arteaga CL, Sliwkowski MX, Osborne CK, Perez EA, Puglisi F, Gianni L. Treatment of HER2-positive breast cancer: current status and future perspectives. Nat Rev Clin Oncol 2012;9:16–32.

36. Liu W, Bulgaru A, Haigentz M, Stein CA, Perez-Soler R, Mani S. The BCL2-family of protein ligands as cancer drugs: the next generation of therapeutics. Curr Med Chem Anticancer Agents 2003;3:217–223.

37. Kotula JW, Pratico ED, Ming X , Nakagawa O, Juliano RL, Sullenger BA. Aptamer-mediated delivery of splice-switching oligonucleotides to the nuclei of cancer cells. Nucleic Acid Ther 2012;22:187–195.

38. Bauman J, Jearawiriyapaisarn N, Kole R. Therapeutic potential of splice-switching oligonucleotides. Oligonucleotides 2009;19:1-13.

39. Soundararajan S, Wang L, Sridharan V, Chen W, Courtenay-Luck N, Jones D, et al. Plasma membrane nucleolin is a receptor for the anticancer aptamer AS1411 in MV4-11 leukemia cells. Mol Pharmacol 2009;76:984-91.

40. Nimjee SM, Rusconi CP, Sullenger BA. Aptamers: an emerging class of therapeutics. Annu Rev Med 2005;56:555–83.

41. Caruthers MH. The chemical synthesis of DNA/RNA – our gift to science. J Biol Chem 2012;288:1420-27.

42. Nguyen J, Szoka FC. Nucleic acid delivery: the missing pieces of the puzzle? Acc Chem Res 2012; 45:1153–62.

43. Mukherjee S, Ghosh RN, Maxfield FR. Endocytosis. Physiol Rev 1997;77:759–803.

44. Schroeder A, Levins CG, Cortez C, Langer R, Anderson DG. Lipid-based nanotherapeutics for siRNA delivery. J Intern Med 2010;267:9-21.

45. Thiel KW, Giangrande PH. Intracellular delivery of RNA-based therapeutics using aptamers. Ther Deliv 2010;1:849–61.