Journal of Police Medicine
Spring 2013; Vol. 2, No. 1: 39-45
Original Article

Design of Aptamer-Based Detector for Trinitrotoluene (TNT) and Review of Its Performance

Received: 13 February 2013 **Accepted:** 15 March 2013

RaminTorshizi
Mehdi Zeinoddini*
Ali-Asghar Deldar
Seyed-Mortaza Robatjazi

Department of Bioscience and Biotechnology, Malek--Ashtar University of Technology, Tehran, Iran.

ABSTRACT

Background: The aim of this work is to achieve a DNA sequence of the aptamer that specifically able to detect of the trinitrotoluene (TNT).

Materials and Methods: Amplification of nucleotide fragments (PCR) was performed using special primers and a library of random nucleotides (two determined sequences of 19 and 21 nucleotides for connecting to primers and 78 randomized nucleotides in the center). To SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) study using magnetic nanoparticles and the EDC reagent, TNT as binds to albumin (TNP-BSA) was immobilized. After initial screening, PCR were repeated on isolated pieces of nanoparticles using digoxigenin (DIG)-labeled nucleotides. In order to evaluate the aptamer function, using ELONA technique (Enzyme Linked Oligonucleotide Assay) and a specific anti-DIG antibody which is conjugated to peroxidase, the performance of aptamer for TNT detection was studied. Finally, this sequence is cloned into pBluescript plasmid and sequenced.

Results and Conclusion: The cloned aptamer has good efficiency for detection of TNT and could be used as aptasensor for detection of TNT in future studies.

Keywords: Aptamer, TNT, Clone, SELEX, ELONA

***Corresponding Author:**
Assistant Professor of Biochemistry,
Tel: (+98) 21 2296 4600,
Email: zeinoddini@mut.ac.ir

[Downloaded from jpmed.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22286241.1392.2.1.5.9]
[DOI: 10.30505/2.1.39]

مجله طب انتظامی
بهار ۱۳۹۲ – شماره ۲ – مسلسل –۱ صفحات ۳۹–۴۵
مقاله تحقیقی

طراحی آپتامر شناساگرتری نیتروتولوئن (TNT) و بررسی کارایی آن

تاریخ دریافت: ۲۵ بهمن ۱۳۹۱ **تاریخ پذیرش:** ۲۶ اسفند ۱۳۹۱

چکیده

مقدمه: هدف این کار تحقیقاتی دستیابی به ترادف آپتامری از DNA است که بصورت اختصاصی بتواند تری نیتروتولوئن (TNT) را شناسایی نماید.
مواد و روش‌ها: با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و کتابخانه تصادفی از نوکلئوتیدها (با دو ترادف ۱۹ و ۲۱ بازی مشخص جهت اتصال پرایمرها و ۷۸ باز تصادفی در وسط)، تکثیر قطعات نوکلئوتیدی (PCR) انجام گرفت. به منظور انجام SELEX[1] با استفاده از نانوذرات مغناطیسی و ماده واکنشگر EDC[2]، تثبیت TNT صورت پذیرفت. در مراحل آزمایش از ماده TNP-BSA[3]، (TNT متصل شده به پروتئین آلبومین) به جای TNT استفاده گردید. پس از غربالگری اولیه، مجدد PCR بر روی قطعات جدا شده از نانوذرات و نوکلئوتیدهای نشاندار با دی اکسیژنین (DIG) تکرار گردید. در ادامه جهت ارزیابی عملکرد آپتامر، به کمک روش ELONA[4] و آنتی بادی اختصاصی بر علیه DIG که کانژوگه به آنزیم پراکسیداز است، کارایی آپتامر در شناسایی TNT مورد مطالعه قرار گرفت. در نهایت نیز ترادف مربوطه در پلاسمید pBluescript کلون و تعیین ترادف گردید.
یافته‌ها و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده، آپتامر کلون شده دارای کارایی مناسب در شناسایی TNTبوده و می‌تواند به عنوان آپتاسنسور شناساگر TNT در مطالعات آتی استفاده گردد.

رامین ترشیزی
مهدی زین الدینی*
علی اصغر دلدار
سید مرتضی رباط جزی

پژوهشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران.

***نویسنده مسئول:**
استادیار بیوشیمی،
تلفن: ۴۶۰۰ ۲۲۹۶ ۲۱ (۹۸+)
پست الکترونیک: zeinoddini@mut.ac.ir

کلید واژه‌ها: آپتامر، تری نیترو تولوئن، کلون، سیلکس، الونا

مقدمه

رشته‌های الیگونوکلئوتیدی عملکردی از جنس RNA یا DNA را آپتامر نام نهادند که از کلمه لاتین aptus به معنی مناسب گرفته شده است و بر اساس نحوه قرارگرفتن اسیدهای نوکلئیک، شکل فضایی سه بعدی خاصی به خود می‌گیرند. آپتامرها اغلب تمایل بالایی برای اهدافشان داشته که از قابلیت تاخوردگی[5] آنها می‌باشد و می‌توانند به صورت اختصاصی و محکم به هدف خود متصل شوند. آنها می‌توانند مولکول‌های کوچک را درون خود قرار داده و همچنین به مولکول‌های بزرگ مانند پروتئین، متصل شوند [۵–۱]. از آپتامرها با عنوان آنتی بادی‌های شیمیایی نیز نام می‌برند چرا که مراحل تولید آن مصنوعی و در شرایط آزمایشگاهی، با استفاده از چرخه SELEX انجام می‌گیرد. SELEX، یک روش شیمی ترکیبی است که در آن از میان یک کتابخانه‌ای شامل 10^{15} تا 10^{16} الیگونوکلئوتید تک رشته‌ای که به صورت تصادفی تولید شده‌اند، تنها آنهایی که برای هدف خود اختصاصی‌اند، متصل و انتخاب شده و بقیه در طی شستشو جدا می‌شوند و سپس آپتامرهای اتصالی برای تکثیر بعدی استفاده می‌شوند [۹–۶].

از سوی دیگر شناسایی ترکیبات انفجاری، بخصوص در مبادی ورودی نظیر فرودگاه‌ها، از اولویت‌های امنیتی اکثر کشورها می‌باشد. بر این اساس طراحی تجهیزات اختصاصی، ساده و دقیق در راستای شناسایی مواد منفجره اهمیت زیادی دارد. امروزه علاوه بر استفاده از تکنیک‌ها و فناوری‌های جدید شیمیایی و فیزیکی جهت شناسایی ترکیبات نیتروآروماتیک از فناوری زیستی نیز برای این منظور استفاده می‌شود. روش‌های زیادی برای شناسایی ترکیبات نیتروآروماتیک توسعه یافته است که از نظر هزینه و زمان پاسخدهی، مقرون به صرفه نبوده و بنابراین نیاز به استفاده از روش‌هایی است که بتواند این عمل را با هزینه و زمان بسیار کم، انجام دهد. حسگرهای زیستی یک نیاز امکاناتی بوده که سهم اصلی را در کشف و شناسایی ترکیبات نیتروآروماتیک دارا می‌باشند. این ساختارها با دقت بالایی قادر به کشف این ترکیبات

[1] Systemic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment, [2] 1-Ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl]carbamide hydrochloride, [3] Trinitrophenol-Bovine serom albumin, [4] Enzyme linked Oligonucleotide Assay, [5] Folding

[Downloaded from jpmed.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22286241.1392.2.1.5.9]
[DOI: 10.30505/2.1.39]

Forward -T90 (21 mer)	5/ - GGTATCGATAAGCTTGATATC- 3/
Reverse -T90 (19 mer)	5/ - GCTGCAGGAATTCGATATC- 3/
Standard (126 bp)	5/-GGTATCGATAAGCTTGATATC GGCAATCGGCCGCACGAGGGCATTATGCCGGCCCC CGCGTGCATGGTCTCTTATCAGA TGGTCAACACAATACCATGGCTC GAGCTGATATCGAATTCCTGCAGC-3/
Random (118 bp)	5/ - GGTATCGATAAGCTTGATATC78(N)GATATCGAATTCCTGCAGC- 3/

جدول ۱: فهرست پرایمر و توالی‌ها

می‌باشند. از اینرو، پس از مطالعات انجام گرفته در زمینه آپتامرها؛ می‌توان در اثر اختصاصی کردن آپتامر برای آنالیت مربوطه و استفاده از ابزار کمکی مانند کیت‌های الکتروشیمیایی، زمان و هزینه این آزمایشات را کاهش داد.
هدف تحقیق حاضر، طراحی و تولید آپتامر اختصاصی و شناساگرتری نیتروتولوئن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- پیش بینی ساختار آپتامری به کمک شبیه سازی‌های کامپیوتری
برای طراحی یک آپتامر لازم است تا ابتدا یک کتابخانه از رشته‌های تصادفی به طول مناسب تولید شود. پس از آن نوبت به سنتز این رشته‌ها می‌رسد. مرحله سنتز رشته، مرحله‌ای زمان بر بوده و با هزینه زیادی همراه است. از این رو می‌توان از نرم افزار شبیه‌سازی استفاده کرد. برای شبیه‌سازی سنتز و پیش‌بینی ساختار آپتامر از نرم افزار Rosetta استفاده شد. همچنین برای بدست آوردن بهترین برهمکنش بین آپتامر و ساختار TNT (انجام عملیات پهلوگیری مولکولی)، از نرم افزار Auto Dock استفاده گردید.

- تکثیر توالی‌ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی
پس از مطالعاتی که بر روی آپتامرهای شناساگر ترکیبات نیتروآروماتیک صورت گرفت، آپتامری که در مطالعات قبلی با منشاء RNA گزارش شده بود [۱۰]، با تغییر به فرم DNA، به عنوان توالی استاندارد (با ۸۶ bp) و همچنین توالی تصادفی (با ۷۸ bp) تهیه شد. در دو طرف هر دو توالی، ترادف‌های معلوم قابل اتصال به پرایمرهای اختصاصی (۱۹ و ۲۱ بازی) به همراه سایت برش EcoRV، طراحی گردید (جدول ۱). ساختار توالی استاندارد به کمک شبیه‌سازی کامپیوتری از نظر برهمکنش با TNT مورد مطالعه قرار گرفت.
تکثیر[1] نمونه‌های تصادفی و استاندارد با استفاده از ترموسایکلر و تکنیک PCR انجام گرفت و برای تست کنترلی از ژل آگارز ۱/۵ درصد (با TBE) استفاده گردید. همچنین برای شناسایی وجود آپتامر در مراحل آشکارسازی، از نوکلئوتیدهای نشاندار (Dig[2] dUTP) استفاده شد.

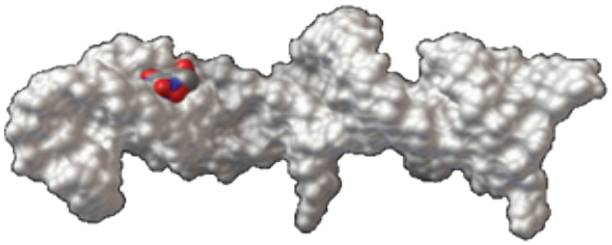
- غربالگری با استفاده از نانوذرات مغناطیسی
جهت انجام مراحل SELEX با توجه به اینکه TNT ماده شیمیایی کوچک و فراری است و قابلیت تثبیت آن مشکل است، لذا از TNT متصل شده به آلبومین (BSA–TNP, T۵۰۵۰, sigma) استفاده شد تا از طریق آلبومین بتوان آن را تثبیت نمود. روش کمکی برای سرعت بخشیدن و افزایش دقت در بدست آوردن توالی اختصاصی (بهینه کردن شرایط)؛ تثبیت TNP–BSA از طریق بخش پروتئینی آن به نانوذره مغناطیسی آمینی با استفاده از واکنشگر شیمیایی EDC است. تحت تأثیر میدان مغناطیسی به همراه آپتامری که پس از اضافه کردن به محیط، به آن افزوده می‌گردد، مجموعه به سمت آهنربا کشیده شده و شستشوی بهتری انجام خواهد گرفت.
در این روش، هم حجم TNP–BSA، نانوذره به محیطی با بافر مس (۰/۱ M ۵/۵ pH) افزوده شد. سپس برای فعال‌سازی گروه آمینی نانوذره و اتصال آن به TNP–BSA، ۱ ساعت به همراه EDC (۵۰ mgr/ml) انکوبه گردید. پس از این مرحله، ۳ ساعت در معرض محلول آپتامری قرار گرفت. ۳۵ میکرولیتر آب استریل به میکروتیوپ افزوده شد و پیپتاژ شدید انجام گرفت. لازم به ذکر است؛ مراحل شستشو با بافر مس و تحت میدان مغناطیسی انجام می‌گیرد. از مزیت‌های این روش می‌توان به تکثیر آپتامر بدون جداسازی از مجموعه (آپتامر–آنالیت–نانوذره) اشاره کرد.

- ارزیابی عملکرد آپتامر با تکنیک ELONA
برای کنترل عملکرد آپتامر غربال شده در اتصال به مولکول هدف مورد نظر، از تکنیک ELONA استفاده شد [۱۱]. این تکنیک همانند ELISA بوده که در آن به جای آنتی بادی از الیگونوکلئوتید استفاده می‌شود. در این روش، ابتدا TNP–BSA (۱mg/ml) به میزان ۱۰۰ میکروگرم، در چاهک‌های استریپ ۸ تایی تثبیت شد. سپس مراحل کار به ترتیب زیر صورت گرفت: ۱ ساعت انکوباسیون با محلول بلاکینگ (BSA ۳٪) ، ۳ ساعت انکوباسیون با محلول آپتامر نشاندار، ۱ ساعت انکوباسیون با محلول آنتی بادی منوکلونال اختصاصی بر علیه DIG (با رقت ۱/۱۰۰۰) که به آنزیم پراکسیداز متصل است و در نهایت انجام مراحل آشکارسازی با کروموژن TMB[3] و سوبسترای پراکسید. در این مرحله تشکیل یا عدم تشکیل رنگ سبز در نمونه‌ها بررسی گردید. سپس برای توقف واکنش، H_2SO_4 افزوده گردید و جذب آن در ۴۵۰ نانومتر خوانده شد. لازم به ذکر است، بعد از هر یک از مراحل فوق، با بافر TBS (۷/۵ pH) حاوی توئین ۲۰، ۳ تا ۵ بار شستشو انجام گرفت. همچنین برای نشاندار کردن آپتامرها از نوکلئوتیدهای نشاندار dUTP (Dig) استفاده

[1]: Amplification, [2]: Dgoxigenin, [3]: Tri Methyl Benzamidine

[Downloaded from jpmed.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22286241.1392.2.1.5.9]
[DOI: 10.30505/2.1.39]

مجله طب انتظامی
شماره ۲ – مسلسل –۱ صفحات ۳۹-۴۵



شکل ۱: برهمکنش آپتامر پیش‌بینی شده با TNT

شد. Dioxigenine ترکیبی استروئیدی بوده که می‌تواند الیگونوکلئوتیدها را تغییر دهد. این پروب‌ها با استفاده از آنتی بادی anti-DIG قابل شناسایی می‌باشند و خود این آنتی بادی‌ها نیز با رنگ‌های فلورسنت قابل مشاهده‌اند.

– کلون آپتامر در پلاسمید

پس از غربالگری انجام گرفته و بررسی عملکرد آپتامر بدست آمده، ترادف اختصاصی مربوطه در پلاسمید کلون[1] شد و سپس پلاسمید حاصله به باکتری، منتقل گردید. برای این منظور از پلاسمید pBlueScript استفاده گردید که در معرض آنزیم EcoRV، برش داده شد (ایجاد دو انتهای صاف[2] می نماید). پس از برش، برای غیرفعال کردن آنزیم، به مدت ۲۰ دقیقه، در بن ماری ۸۰ درجه قرار گرفت. پس از لیگاسیون، برای انتقال پلاسمید جدید (pBlueScript-RT) به سلول باکتری، باید باکتری مستعد شود. در این آزمایش از سویه XL1-Blue باکتری E. Coli استفاده شده است. سپس پلاسمید حلقوی جدید به درون سلول باکتری ترانسفورم گردید. محصول، تغلیظ شده و در محیط LB-Agar محتوی Amp/X-gal/IPTG[3] گسترش داده شد (Blue-White Screening). در مرحله بعد، از میان کلنی‌های سفید (نشان‌دهنده وجود پلاسمید دارای قطعه آپتامری)، یک کلنی در محیط LB-Broth کشت داده شد و با استفاده از کیت استخراج پلاسمید، استخراج انجام گرفت. در نهایت نیز پس از تأیید ملکولی قطعه کلون شده با استفاده از هضم آنزیم و تأیید مجدد عملکرد آپتامر با روش ELONA، جهت تعیین ترادف با پرایمرهای عمومی M۱۳، ترادف آپتامر کلون شده بدست آمد.

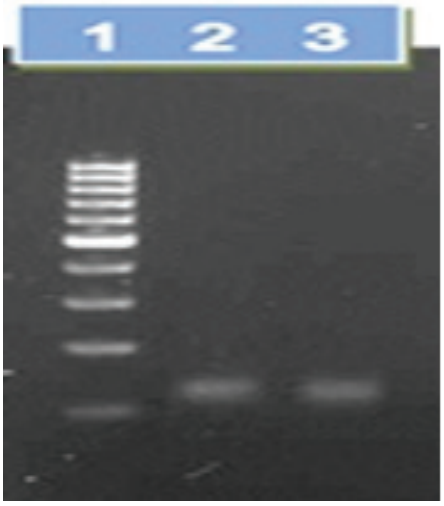
نتایج

– آنالیز نتایج حاصل از شبیه‌سازی

نتایج بررسی ساختار شبیه‌سازی شده بر روی ترادف آپتامری استاندارد (با منشاء DNA) نشان داد، ساختار آپتامری پیش‌بینی شده قادر است تا به خوبی TNT را شناسایی کرده و به آن متصل شود (شکل ۱).

– تکثیر ترادف‌های آپتامری

در بررسی‌هایی که پس از تکثیر توالی‌های تهیه شده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی بدست آمد؛ قطعه آپتامری در اندازه مورد نظر در ژل آگارز مشاهده شده و بنابراین صحت این قطعه مورد



شکل ۲: آنالیز محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز. (۱) مارکر DNA (۱۰۰ bp). (۲) محصول PCR با توالی الیگونوکلئوتید استاندارد به عنوان الگو (۳) محصول PCR با توالی الیگونوکلئوتید تصادفی به عنوان الگو.

تأیید می‌باشد (شکل ۲). همچنین در تکثیر توالی‌های نشاندار نیز نتایج مشابهی حاصل شد.

– غربالگری با استفاده از نانوذرات مغناطیسی

با اتصال TNP-BSA به نانوذره و در مجاورت کتابخانه آپتامری (با طول ۱۱۸ bp)، غربالگری انجام گرفت. لازم به ذکر است، با توجه به استفاده از نانوذرات در مسیر غربالگری، یک چرخه SELEX انجام گرفت.

– آنالیز تکثیر پلاسمید محتوی توالی غربال شده

پس از کلون کردن آپتامر اختصاصی درون پلاسمید، لازم است تا عملکرد آپتامر مورد ارزیابی قرار گیرد. برای این منظور، پلاسمید pBlueScript-RT (با پرایمرهای اختصاصی) تکثیر شد. با توجه به نتایج بدست آمده با استفاده از ژل آگارز، قطعه آپتامری درون پلاسمید وجود دارد.

– بررسی عملکرد آپتامر

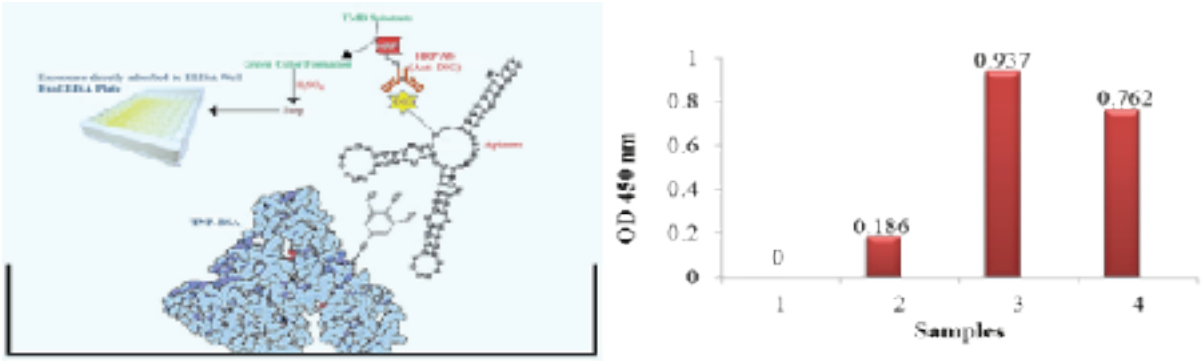
آپتامر غربال شده با نمونه آپتامری استاندارد (به عنوان کنترل مثبت) و همچنین همراه با دو حالت کنترل منفی (بدون آپتامر و بدون TNP-BSA)، استفاده گردید (در حالت کنترلی بدون TNP-BSA، شرایط همانند نمونه کنترل مثبت می‌باشد و تنها، به جای BSA، TNP-BSA در کف چاهک تثبیت گردیده تا عملکرد آپتامر نسبت به آن نیز بررسی گردد).

با توجه به نتایج بدست آمده (شکل ۳)، توالی حاصل نسبت به آنالیت مورد نظر بسیار اختصاصی بوده و حتی نسبت به کنترل مثبت دارای اختصاصیت بیشتری می‌باشد. همچنین نتایج نشان می‌دهد که نمونه کنترل منفی دوم (یعنی در حالت تثبیت BSA بجای آنالیت) نیز، به مقدار بسیار کمی تمایل جذب به آپتامر نشان می‌دهد که می‌توان از آن صرف نظر نمود. همچنین ارزیابی

[1] Ligation, [2] Blunt ends, [3] Ampicilin

[Downloaded from jpmed.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22286241.1392.2.1.5.9]
[DOI: 10.30505/2.1.39]

Journal of Police Medicine
Spring 2013; Vol. 2, No. 1: 39-45



شکل ۳: سمت چپ، استراتژی تکنیک ELONA و سمت راست، منحنی جذب نمونه‌ها را نمایش می‌دهد. در منحنی فوق؛ (۱) کنترل منفی اول، بدون حضور آپتامر (۲) کنترل منفی دوم، با تثبیت BSA به جای BSA-TNP (در کف چاهک) (۳) در حضور آپتامر غربال شده (۴) در حضور آپتامر استاندارد به عنوان کنترل مثبت، می‌باشد.

حساسیت آپتامر مورد استفاده نشان داد که کمترین میزان TNP-BSA شناسایی شده توسط آپتامر در حدود ۱ نانوگرم است.

- تعیین توالی آپتامر اختصاصی

پلاسمید pBlueScript-RT، برای تعیین توالی فرستاده شد که پس از بررسی‌های انجام گرفته، توالی زیر بدست آمد:

GGTATCGATAAGCTTGATATCCATG-۵/
ACGCCGGTTCGTTGGGGATATCTCT
TTCAAGACGACATGGGGATAGAAGC
GATAATTGTATATTGATTTTGCATGAT
۳/-ATCGAATTCCTGCAGC

بحث

کارایی بسیار بالای آپتامر سبب شده است که محققین و دانشمندان امروزه رویکرد مثبتی به آنها داشته باشند. به همین خاطر از این ماده در روش‌های مختلف تشخیصی در قالب حسگرهای زیستی استفاده زیادی می‌گردد [۱۵-۱۲].

از سوی دیگر، تاکنون روش‌های آنالیزی و کلاسیکی متعددی جهت شناسایی ترکیبات انفجاری بکار گرفته شده است. نظیر روش‌های کلریمتریک، GC-MS، HPLC که اغلب حاوی روش‌های سنسوری متفاوت می‌باشند. امروزه، انتخاب طیف وسیعی از آپتامرها با توانایی اتصال به مولکول‌های کوچک، پپتیدها، پروتئین‌ها، سلول‌ها و غیره با اختصاصیت، انتخاب و تمایل برابر و اغلب بیشتر از آنتی بادی‌ها توسعه یافته است.

در تحقیقاتی که توسط Ehrentreich و همکارانش در سال ۲۰۰۸ صورت گرفت، توالی RNA اختصاصی و شناساگر ترکیب TNT بعد از ۱۳ مرتبه غربالگری بدست آمد. در آزمایش فوق، آنالیت مربوطه در قسمت ثابت ستون کروماتوگرافی تثبیت شد. توالی مذکور، RNA تک رشته‌ای بوده و قادر به اتصال با اختصاصیت بالا به آنالیت مربوطه می‌باشد. با استفاده از فیبر نوری، واکنش‌های تمایلی ایمنی برای تشخیص مواد منفجره حساس مورد استفاده قرار گرفت [۱۰].

در کار تحقیقاتی دیگری که توسط Lan و گروهش (۲۰۰۰) انجام گرفت، آنتی بادی‌های ضد TNTدر سل ژل (مشتق از سیلیکا) محصور شدند تا در سنجش ایمنی بکار گرفته شود. این آنتی بادی‌ها قادر به شناسایی TNTمی‌باشند [۱۶].

همچنین در آزمایشی که توسط گروه تحقیقاتی Shankaran (۲۰۰۸) صورت گرفت، روش‌های سنجش ایمنی سریع و بدون برچسب برای تشخیص TNT براساس رزونانس پلاسمایی سطحی (SPR)ایجاد گردید. حسگر ایمنی با تثبیت TNPh[1]-KLH در صفحه طلایی دارای قدرت جذب، ایجاد گردید. در میان ۴ آنتی بادی مورد آزمایش، آنتی بادی پلی کلونال ضد تری نیتروفنیل، بیشترین حساسیت را با حد تشخیصی ۰/۰۰۲ نانوگرم بر میلی لیتر (۲ ppt TNT) دارا می‌باشد [۱۷].

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر، از روش آپتامرها (البته به فرم DNA) برای شناسایی TNT استفاده شد و همچنین برای سرعت بخشیدن به مسیر آزمایشات شناسایی مولکول هدف از تکنیک ELONA استفاده گردید. در این روش، به جای استفاده حجم زیادی از کتابخانه تصادفی، غربالگری و شناسایی در مقادیر بسیار کم قابل انجام می‌باشد. همچنین در این تحقیق، از نانوذرات مغناطیسی برای بهینه نمودن غربالگری استفاده گردید و بنابراین، غربالگری با یک چرخه، انجام گرفت. برای دستیابی به توالی آپتامری با اختصاصیت بیشتر لازم است تا سیکل غربالگری، افزایش یافته و بر روی ترکیبات مشابه TNT نظیر DNT یا تولوئن و بنزن نیز آزمایشات تکرار گردد. نتایج حساسیت این روش نیز بیانگر عملکرد نسبتاً مطلوب آپتامر در شناسایی TNT است که لازم است در مطالعات بعدی توسعه یابد.

[1]Trinitrophenyl-keyhole limpet hemocyanin

[Downloaded from jpmed.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22286241.1392.2.1.5.9]
[DOI: 10.30505/2.1.39]

مجله طب انتظامی
شماره ۲ - مسلسل -۱ صفحات ۳۹-۴۵

تشکر و قدردانی

پروژه فوق در پژوهشکده فناوری زیستی دانشگاه مالک اشتر انجام گرفته است و بودجه آزمایشات فوق از سوی این دانشگاه تأمین شده است. بنابراین جا دارد تا از زحمات مسئولین این دانشگاه سپاسگزاری گردد.

منابع

1. Menger M, Glokler J, Rimmele M. Application of aptamers in therapeutics and for small-molecule detection, RNA toward medicine 2006; 173: 359-373.

2. Bang GS, Cho S, Kim BG. A novel electrochemical detection method for aptamer biosensors. Biosens Bioelectron 2005; 21: 863-870.

3. Hermann T, Patel DJ. Adaptive recognition by nucleic acid aptamers. Science 2000; 287: 820-825.

4. Mairal T, Cengiz-Ozalp V, Lozano-Sánchez P, Mir M, Katakis I, O'Sullivan CK. Aptamers: molecular tools for analytical applications. Anal Biochem 2008; 390: 989-1007.

5. Song S, Wang L, Li J, Fan C, Zhao J. Aptamer-based biosensors. Trac-Trend Anal Chem 2008; 27: 108-117.

6. Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B. SELEX—A (r) evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. Biomol Eng 2007; 24: 381-403.

7. Luo X, McKeague M, Pitre S, Dumontier M, Green J, Golshani A. Computational approaches toward the design of pools for the in vitro selection of complex aptamers. RNA 2010; 16: 2252-2262.

8. Djordjevic M. SELEX experiments: New prospects, applications and data analysis in inferring regulatory pathways. Mathematical Biosciences. Biomol Eng 2007; 24: 179-189.

9. Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. Science 1990; 249; 505-510.

10. Ehrentreich-Forster E. Biosensor-based on-site explosives detection using aptamers as recognition elements. Anal Biochem 2008; 391: 1793-1800.

11. Drolet DW, Sumedha J, Gold L. Enzyme linked oligonucleotide assays (ELONAs), United States Patent 1998; 5789163.

12. Kawde AN. Label-free bioelectronic detection of aptamer–protein interactions. Electrochem Commun 2005; 7: 537–540.

13. Xie S, Walton SP. Development of a dual-ap-

[Downloaded from jpmed.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22286241.1392.2.1.5.9]
[DOI: 10.30505/2.1.39]

tamer-based multiplex protein biosensor. Biosens Bioelectron 2010; 25: 2663–2668.

14. Wang W. Aptamer biosensor for protein detection using gold nanoparticles. Anal Biochem 2008; 373: 213–219.

15. Pultar J. Aptamer–antibody on-chip sandwich immunoassay for detection of CRP in spiked serum. Biosens Bioelectron 2009; 24: 1456–1461.

16. Lan EH, Dunn B, Zink JI. Sol-gel encapsulated anti-trinitrotoluene antibodies in immunoassays for TNT. Chem Mater 2000; 12; 1874-1878.

17. Shankaran DR, Kawaguchi T, Kim SJ, Matsumoto K, Toko K, Miura N. Evaluation of the molecular recognition of monoclonal and polyclonal antibodies for sensitive detection of 2, 4, 6-trinitrotoluene (TNT) by indirect competitive surface plasmon resonance immunoassay. Anal Biochem 2006; 386: 1313-1320.

[Downloaded from jpmed.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22286241.1392.2.1.5.9]
[DOI: 10.30505/2.1.39]