



APTÂMEROS

Gabriela Ricardo – nº49255, Inês Dionísio – nº49306, Maria Ribeiro – nº49008, Susana Costa – nº49334

Os aptâmeros consistem em pequenos oligonucleótidos de cadeia simples, de RNA ou ssDNA (*single stranded DNA*) (Song *et al.* 2012), tendo a particularidade de serem capazes de se ligar a moléculas-alvo com grande afinidade e especificidade (Lakhin *et al.* 2013), devido às estruturas secundárias e/ou terciárias específicas que conseguem adquirir (Stoltenburg *et al.* 2007).

Independentemente de serem de RNA ou ssDNA, já foi demonstrado que reconhecem e se ligam aos seus alvos da mesma forma, podendo estes ir desde células inteiras ou patogêneos (Su *et al.* 2019) até grandes proteínas, drogas, toxinas, pequenas moléculas orgânicas ou mesmo iões metálicos (Stoltenburg *et al.* 2007).

Os aptâmeros correspondem, então, ao output de um método de seleção *in vitro* designado por SELEX (*Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment*) (Gold *et al.* 2012), sendo que, neste contexto, os ácidos nucleicos gerados terão uma futura aplicabilidade enquanto ligandos para alvos específicos. Esta tecnologia baseia-se na síntese e screening simultâneo de amplas bibliotecas sintéticas de oligonucleótidos relacionados, embora estruturalmente diferentes, com o propósito de identificar e isolar moléculas funcionais (Stoltenburg *et al.* 2007).

Estes polímeros de nucleótidos vão funcionar como análogos dos anticorpos, com diversas vantagens acrescidas, nomeadamente: têm menores dimensões; a sua síntese é consideravelmente mais fácil e barata relativamente à produção de anticorpos; não têm propriedades tóxicas nem imunogénicas (Lakhin *et al.* 2013); são de fácil amplificação por PCR ou por transcrição *in vitro* (Stoltenburg *et al.* 2007); podem desnaturar de forma reversível; a sua modificação é controlável; têm uma cinética de degradação lenta; e uma ampla gama de moléculas-alvo (Su *et al.* 2019).

Assim sendo, tornam-se ótimas ferramentas para diversas aplicações como são: a investigação básica médica e farmacêutica (Stoltenburg *et al.* 2007); novas técnicas de diagnóstico e terapêuticas; purificação de moléculas-alvo a partir de misturas complexas (ferramentas analíticas e de separação que vão usar os aptâmeros como elementos moleculares de reconhecimento e ligação); desenho de biossensores (Lakhin *et al.* 2013); alternativas sintéticas a alguns fatores de crescimento (caros e termicamente instáveis) usados em culturas de células estaminais, como, por exemplo, o bFGF (*basic fibroblast growth factor*) (Sando *et al.* 2019); deteção da concentração de resíduos de antibióticos (por exemplo, Tetraciclina) na comida diária (Gong *et al.* 2019); deteção sensível de bactérias patogénicas transmitidas por alimentos (por exemplo, estirpe de *E. coli* O157:H7) (Hao *et al.* 2019) ou presentes em amostras de sangue de doentes infetados (por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa*) (Shi *et al.* 2019).

Entrando em detalhe neste último exemplo mencionado, o que foi proposto por Shi e os seus associados foi um novo mecanismo de deteção rápida e seletiva de *P. aeruginosa*, o qual está baseado num sensor piezoelétrico (MSPQC, *multichannel series piezoelectric quartz crystal*) ligado a um elétrodo interdigital de ouro (Au IDE, *gold interdigital electrode*) e na formação de um complexo: pérola magnética – aptâmero – DNA poliadenilado. A pérola magnética serve para imobilizar o aptâmero específico para a proteína OprF (*outer membrane protein, porin F*) de *P. aeruginosa*. Por sua vez, por complementaridade de bases, o DNA poliadenilado emparelha parcialmente com o aptâmero. Se exemplares de *P. aeruginosa* se encontrarem presentes na amostra de sangue, então, devido a interações específicas entre a bactéria e o seu aptâmero correspondente, esta liga-se a ele, conduzindo à libertação do DNA poliadenilado para a solução. Este fica disponível para se ligar à plataforma de deteção do Au IDE, sendo que esta ligação ocorre devido à elevada afinidade entre a poli-Adenina e o Ouro. Este elétrodo, por estar ligado ao sensor MSPQC, conduz a uma resposta de alteração sensível à frequência. Esta variação da frequência (em Hz) será proporcional ao logaritmo da concentração da bactéria na solução (em cfu/mL, unidades formadoras de colónias por mililitro) e, portanto, através de uma reta de calibração será possível concluir não só acerca da presença ou ausência da bactéria patogénica, mas também aferir a sua concentração (Shi *et al.* 2019).

Referências bibliográficas

1. Gold, L. et al. Aptamers and the RNA World, Past and Present. *Br. J. Appl. Phys.* 4, 326–329 (2012).
2. Gong, X., Li, X., Qing, T., Feng, B. & Zhang, P. Amplified colorimetric detection of tetracycline based on an enzyme-linked aptamer assay with multivalent HRP-mimicking DNAzyme. *Analyst* 1948–1954 (2019). doi:10.1039/c8an02284d
3. Hao, X. et al. Aptamer surface functionalization of microfluidic devices using dendrimers as multi-handled templates and its application in sensitive detections of foodborne pathogenic bacteria. *Anal. Chim. Acta* 1056, 96–107 (2019).
4. Lakhin, A. V, Tarantul, V. Z. & Gening, L. V. Aptamers : Problems, Solutions and Prospects. 5, 34–43 (2013).
5. Sando, S. et al. DNA Aptamer Assemblies as Fibroblast Growth Factor Mimics and Their Application in Stem Cell Culture. *Chem. Commun.* 2672–2675 (2019). doi:10.1039/c8cc08080a
6. Shi, X., Zhang, J. & He, F. A New Aptamer/polyadenylated DNA Interdigitated Gold Electrode Piezoelectric Sensor for Rapid Detection of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biosens. Bioelectron.* 132, 224–229 (2019).
7. Song, K. M., Lee, S. & Ban, C. Aptamers and their biological applications. *Sensors* 12, 612–631 (2012).
8. Stoltenburg, R., Reinemann, C. & Strehlitz, B. SELEX-A (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. *Biomol. Eng.* 24, 381–403 (2007).
9. Su, R. *et al.* Facile detection of melamine by a FAM–aptamer–G-quadruplex construct. *Anal. Bioanal. Chem.* (2019). doi:10.1007/s00216-019-01688-3