ژنتیک نوین
دوره هفدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱
صفحه ۱۶ - ۱

«مقاله مروری»

آنتی‌بادی‌نماها: منشاء، تولید و کاربردها

Antibody Mimetics: Origin, Production and Application

مریم احساسات‌وطن[۱]، بهرام باغبان کهنه روز*[۱]

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

Ehsasatvatan M[1], Baghban Kohneh Rouz B[*1]

1- PhD Student, Associate Professor, Plant Breeding and Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: bahramrouz@tabrizu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۹/۱۲/۰۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۸)

چکیده

امروزه رویکرد بسیاری از محققین بیولوژی و بیوتکنولوژی تلاش برای جایگزینی مولکول‌های تکامل یافته طبیعی با مولکول نماهای ساخته دست بشر است تا از این طریق بتوانند در چالش عبور از محدودیت‌های حاصل از تکامل طبیعی، بتوانند از کل تنوع بالقوه بهره‌برداری نموده و به مولکول‌های جایگزین دست یابند. این مولکول‌ها که عموماً مولکول‌های مایمتیک نامیده می‌شوند به لحاظ منشاء و ساختار متفاوت از انواع طبیعی بوده، ولی می‌توانند از ظرفیت‌های کاملاً مشابه با مولکول‌های طبیعی برخوردار باشند. تاکنون کاربردهای متنوع آنتی‌بادی‌نماها در تحقیقات، تشخیص و درمان به‌طور گسترده توسعه یافته و مزایا و معایب آن‌ها روشن شده است. برخورداری از اندازه کوچک، حذف تغییرات بعد از ترجمه، افزایش تمایل اتصال لیگاندی، افزایش پایداری دمایی، فعالیت در دامنه pH گسترده و فقدان پیوند دی‌سولفیدی ساختاری و... از ملاحظات اساسی در معرفی مجموعه آنتی‌بادی‌نماها می‌باشد. از آنجایی‌که داربست اولیه این مولکول‌ها، دمین‌های شناخته شده از پروتئین‌های انسانی بوده مبرا از واکنش ایمنولوژیک می‌باشند. تاکنون آنتی‌بادی‌نماهای معرفی شده شامل دارپین‌ها، اویمرها، پپتیدهای آپتامری یا افیمرها، اتریمرها، افی‌بادی‌ها، ادنکتین‌ها، آنتی‌کالین‌ها، دمین‌های کونیتز، ناتین‌ها و فینومرها هستند که جهت مکان‌یابی و تصویربرداری *in vivo*، تشخیص مولکولی در نمونه‌های زیستی، درمان سرطان و بیماری‌های التهابی و دارو رسانی طراحی و تولید شده‌اند. در این مقاله ابتدا به معرفی اولیه، پایه و اساس و کاربردهای آنتی‌بادی‌نماها پرداخته و سپس منشاء و طرز ساخت و کاربردهای تخصصی به‌همراه محدودیت‌های احتمالی و چشم‌انداز آینده آن‌ها به تفکیک بحث خواهد شد.

واژه‌های کلیدی

آنتی‌بادی
آنتی‌بادی‌نما
داربست پروتئینی
مهندسی پروتئین
نمایش کتابخانه

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مقدمه

آنتی‌بادی‌نماها[1] یکی از ابزارهای مولکولی جدید و مهم اقتصادی بوده که بر اساس نیازهای جدید و به‌صورت تقاضا محور از طریق طراحی و مهندسی قابل تولید هستند. توانمندی و نقش‌آفرینی ابزارهای مولکولی در زندگی روزمره و در بخش‌های گوناگون به اثبات رسیده است و روز به روز شاهد توسعه و جایگزینی انواع مصنوعی آن‌ها هستیم (Baloch et al. 2016). پیشرفت‌های خیره کننده بشر در مهندسی زیست مولکولی، شیمی ژنتیک و حیات مصنوعی در تولید نومولکول‌های غیرزیستی، زیستی مانند انواع آپتامرها و بیوسنسورها تا موجودات تک سلولی مصنوعی و اخیراً موجودات هیبرید، چشم‌اندازهای وسیعی را به ارمغان آورده است (Yu et al. 2017). در این زمینه پروتئین‌ها و آنزیم‌ها به‌عنوان سازه‌ها و معماران توانمند زیستی و اسیدهای‌نوکلئیک به‌عنوان اجزای بنیادی اطلاعات قابل ذخیره و بیان، نقش‌آفرینان اصلی محسوب می‌شوند. امروزه طراحی و تولید جایگزین‌های مستعد و کارآمد مولکولی و سلولی از ایجاد تغییرات هدفمند و یا تصادفی محدود در اسیدهای نوکلئیک و غربالگری دقیق و هدفمند فرآورده‌های حاصل در حال انجام بوده و نتایج آن عمدتاً در بخش تشخیص و درمان و فرآوری‌های آنزیمی و اختصاصاً در تحقیقات فن‌آوری‌های برتر مورد استفاده می‌باشد (Simeon and Chen 2018).

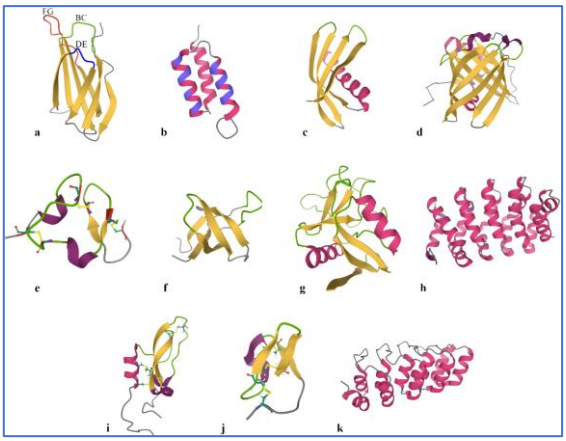
مولکول‌هایی که قادر به اتصال اختصاصی به اهداف هستند نقش‌های مهمی به‌عنوان عوامل دارویی و تشخیصی در پزشکی و به‌عنوان ابزارهایی در تحقیقات پایه و کاربردی ایفا می‌کنند. برای بیش از یک قرن، آنتی‌بادی‌ها به‌دلیل توانایی در اتصال اختصاصی به اهداف مختلف با تمایل بالا، توجه همگان را در تشخیص و درمان بیماری‌ها و تحقیقات مولکولی به خود جلب کرده‌اند (Strebhardt and Ullrich 2008). در دهه ۱۹۷۰، پیشرفت در فن‌آوری هیبریدوما[2] منجر به تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (mAbs)[3] شده و اولین آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز خون گوسفند[4] (SRBC) در سال ۱۹۷۵ تولید (Köhler and Milstein 1975) و در سال ۱۹۸٦ برای درمان انسان استفاده شد (Nelson 2010). از آن زمان، بیش از ٦۲ آنتی‌بادی مونوکلونال توسط FDA[5] به‌عنوان دارو مورد تایید قرار گرفته است و تعداد زیادی نیز در حال حاضر تحت ارزیابی‌های پیش بالینی و بالینی برای تائید نهایی هستند و پیش‌بینی می‌شود این تعداد تا سال ۲۰۲۰ به ۷۰ آنتی‌بادی مونوکلونال برسد (Ecker et al. 2015; Reichert 2017). با این حال، آنتی‌بادی‌ها از لحاظ تولید و کاربری عاری از محدودیت نیستند؛ به‌عنوان مثال می‌توان به مشکل نفوذ به بافت‌های توموری به‌دلیل اندازه بزرگ، تقریبا ۱۵۰ کیلو دالتونی آنتی‌بادی‌ها (Chauhan et al. 2011; Shah and Betts 2013)، دشواری اتصال به فرورفتگی‌ها و جایگاه‌های کاتالیزوری آنزیم‌ها به‌دلیل رابط اتصال مسطح آنتی‌بادی‌ها (Skerra 2000)، مشکلات مربوط به ناحیه Fc یا ثابت آنتی‌بادی (Dejnirattisai et al. 2016; Paul et al. 2016; Screaton et al. 2015)، ایمنوژنسیتی بالقوه (Murali and Greene 2012)، گلیکوزیلاسیون زنجیره سنگین (Jefferis 2009) نگرانی‌های اخلاقی در رابطه با استفاده از حیوانات برای تولید آنتی‌بادی و همچنین فرآیندهای تولید پرهزینه (Chames et al. 2009; Hey et al. 2005; Renberg et al. 2007) اشاره نمود. با این وجود، آنتی‌بادی‌ها به‌ویژه آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، به‌دلیل پایداری، اختصاصی بودن و تمایل بالا، به‌عنوان ابزار قابل اعتماد و قدرتمند برای درمان و تشخیص دقیق مولکولی محسوب می‌شوند.

با پیشرفت در تکنولوژی DNA نوترکیب و استراتژی‌های غربال مولکولی، نه تنها مهندسی آنتی‌بادی‌ها بلکه امکان تولید مولکول‌های شبه آنتی‌بادی تحت عنوان "آنتی‌بادی‌نماها"[6] برای غلبه بر محدودیت‌های آنتی‌بادی‌ها و در عین حال حفظ نقاط قوت آن‌ها نیز فراهم شده است. این مولکول‌ها همانند آنتی‌بادی‌ها از یک ناحیه ثابت که تاخوردگی کلی پروتئین را تضمین می‌کند و چندین ناحیه متغیر که واسط اتصالی به اهداف خاص هستند تشکیل شده‌اند و قادر به اتصال اختصاصی به آنتی‌ژن می‌باشند

[1] Antibody mimetics
[2] Hybridoma
[3] Monoclonal antibodies
[4] Anti-sheep red blood cell
[5] US Food and Drug Administration
[6] Antibody mimetics

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

(Simeon et al. 2018). این مولکول‌ها توسط سیستم ایمنی بدن تولید نمی‌شوند و ارتباط ساختاری با آنتی‌بادی‌ها ندارند (Yu et al. 2017). مولکول‌های آنتی‌بادی‌نما، اغلب داربست‌های پروتئینی متشکل از مارپیچ‌های α[1]، صفحات β[2] و یا پیچ‌های تصادفی هستند که به اهداف خاص متصل می‌شوند و می‌توانند از طریق استراتژی‌های معمول مهندسی پروتئین برای ترکیب جایگاه‌های اتصال جدید طراحی شوند. تمام این داربست‌ها از طریق غربال‌گری کتابخانه‌های ترکیبی و بدون استفاده از حیوانات به‌دست می‌آیند. توانایی جداسازی داربست‌های مفید بستگی به طراحی، اندازه، کیفیت و قالب نمایش کتابخانه غربال شده دارد. نکته مهم در طراحی یک داربست جایگزین، پایداری آن و عدم هم‌چسبی[3] می‌باشد. از جمله ویژگی‌های مطلوب آنتی‌بادی‌نماها می‌توان به حلالیت بالا، مقاومت در برابر پروتئازها و واسرشته کننده‌های شیمیایی، پایداری در دمای بالا، و پایداری در pHهای بسیار بالا یا پائین اشاره نمود. تا به امروز، گروه‌های متنوعی از آنتی‌بادی‌نماها مثل افی‌بادی‌ها[4]، آنتی‌کالین‌ها[5]، دارپین‌ها[6]، فینومرها[7]، اویمرها[8] و ... با تمایل و اختصاصی بودن بالا به‌طور موفق تولید شده و تعداد زیادی نیز درحال تحقیق و تولید هستند (شکل ۱، جدول ۱). ویژگی‌های مهم آنتی‌بادی‌نماها و استراتژی‌های جدید ساخت و انتخاب آن‌ها، آنتی‌بادی‌نماها را به‌عنوان نسل بعدی کاندیدای مولکولی تشخیصی و درمانی به‌ویژه در درمان بیماری‌های مهم بالینی از جمله سرطان، بیماری‌های خود ایمنی و بیماری‌های ویروسی مثل HIV و ویروس عامل پاندمی اخیر (COVID-19) ساخته است (Baloch et al. 2016). با توجه به اهمیت آنتی‌بادی‌نماها، در این مطالعه ضمن آشنایی با کاربردهای بالینی و تحقیقی این مولکول‌ها، استراتژی‌های ساخت این پروتئین‌ها و معایب و مزایای نسبی آن‌ها بررسی می‌شود.



شکل ۱- ساختار سه بعدی مولکول‌های آنتی‌بادی‌نما؛ a) مولکول ادنکتین (PDB:1TTG)، b) مولکول افی‌بادی (PDB:1Q2N)، c) مولکول افیمر (PDB:4N6T)، d) مولکول آنتی‌کالین (PDB:1LNM)، e) مولکول اویمر (PDB:1AJJ)، f) مولکول فینومر (PDB:1M27)، g) مولکول اتریمر (PDB:1TN3)، h) مولکول پروتئین تکرار آرمادیلو (PDB:4DB9)، i) مولکول مهارکننده دمین کونیتز (PDB:2DDI)، j) مولکول ناتین (PDB:2IT7)، k) مولکول پروتئین تکرار آنکرین (PDB:4J8Y)؛ نواحی اتصالی با رنگ آبی، حلقه‌های متغیر با رنگ سبز و پل‌های دی‌سولفیدی با مدل گوی و میله نشان داده شده‌اند. تصاویر با استفاده از RCSB PDB Mol *Viewer 1.0.1 ایجاد شده‌اند (Sehnal et al. 2018).

اغلب داربست‌های غیرایمونوگلوبولینی برای رفع نیازهای مختلف درمانی و تشخیصی، به‌ویژه در درمان سرطان، بیماری‌های التهابی، اختلالات خونی و بیماری‌های قلبی- عروقی توسعه یافته‌اند. اغلب این داربست‌ها به اهداف پروتئینی مرتبط با بیماری که اغلب پروتئین‌های درگیر در سیگنال‌دهی، گیرنده‌های سطحی و یا واسطه‌های محلول هستند متصل می‌شوند. داربست‌های غیرایمونوگلوبولینی که بر علیه اهداف مختلف تولید شده‌اند و در مراحل مختلف آزمایشات بالینی و یا پیش‌بالینی هستند در جدول ۱ آورده شده‌اند. داربست‌های غیر ایمونوگلوبولینی همچنین جایگزین‌های مناسبی برای آنتی‌بادی‌ها در تحقیقات پایه و کاربردی می‌باشند. این کاربردها می‌توانند شامل روش‌های تشخیصی از جمله الایزا، لکه‌گذاری وسترن، ریزآرایه و فلوسایتومتری و همچنین روش‌های اختصاصی‌تر از جمله کروماتوگرافی تمایلی، تعیین ساختار، تشخیص درون سلولی و تنظیم آنزیمی باشند.

[1] α-helix
[2] β-sheets
[3] Aggregation
[4] Affibodies
[5] Anticalins
[6] DARPins
[7] Fynomers
[8] Avimers

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ۱ – داربست‌های پروتئینی تائید شده توسط FDA و یا در مراحل آزمایشات بالینی (Simeon et al. 2018)

نوع داربست	نام	تمایل	هدف مولکولی	بیماری هدف	شرکت	آزمایشات بالینی
آدنکتین	CT-322	۰/۰۶ nmol/L	گیرنده VEGF	سرطان پانکراس	Bristol-Meyers Squibb	فاز I، فاز II (Schiff et al. 2015; Tolcher et al. 2011)
	BMS-962476	۰/۸۵ nmol/L	PCSK9	کلسترول بالا	Bristol-Meyers Squibb	فاز I (Stein et al. 2014)
	BMS-986089	۰/۱۷ nmol/L	میوستاتین	دیستروفی عضلانی دوشن	Bristol-Meyers Squibb	فاز I (NCT02145234) فاز II (NCT02515669)
افی‌بادی	ABY-025	۷۶ pmol/L	HER2	تصویربرداری از تومور	Affibody	فاز I (NCT02095210) فاز I.II (NCT01858116)، NCT01216033)
آنتی‌کالین	PRS-050	کمتر از ۱ nmol/L	VEGF	بازدارنده تومور	Pieris	فاز I (Mross et al. 2013)
	PRS-080	۵۰ pmol/L	هپسیدین	آنمی	Pieris	فاز I (Moebius et al. 2015)
						فاز II/I (NCT02754167)
اویمر	C326 (AMG220)	کمتر از ۰/۲ nmol/L	IL-6	بیماری کرون	Amgen	فاز I (NCT00353756)
دارپین	MP0112	۲ pmol/L	VEGF-A	AMD, DME	Molecular Partners, Allergan	فاز II/I (Campochiaro et al. 2013; Souied et al. 2014)
	Abicipar	۲ pmol/L	VEGF-A	AMD	Molecular Partners, Allergan	فاز III (NCT02462486, NCT02462928)
	MP0250	کمتر از ۱ nmol/L	VEGF, HGF	بازدارنده تومور	Molecular Partners, Allergan	فاز I (Rodon et al. 2015)
	MP0274		HER2	بازدارنده تومور	Molecular Partners, Allergan	فاز I (Reichert et al. 2014)
فینومر	COVA 322	۰/۹ nmol/L	کیماز	پلاک پسوریاسیس	Covagen	فاز II/I (NCT02243787)
ناتین	Ziconotide (Prialt)	۱ pmol/L	کانال کلسیم نوع N	دردهای نوروپاتیک	Jazz Pharmaceuticals	تائید شده توسط FDA در سال ۲۰۰۴
	Linaclotide (Linzess)	۱ nmol/L	گیرنده گوانیلات سیکلاز C	بیماری روده تحریک‌پذیر	Ironwood Pharmaceuticals	تائید شده توسط FDA در سال ۲۰۱۲
دُمین کونیتز	DX-88 (Ecallantide)	٤٤ pmol/L	کالکرین پلاسما	آنژیوادم اکتسابی	Dyax	تائید شده توسط FDA در سال ۲۰۱۲
	DX-890 (Depelstat)	۱ pmol/L	الاستاز نوتروفیل	فیبروز ریوی	Dyax	فاز II (NCT00455767)
مایمتیک‌های سنجاق‌سری β	POL6326	۲ nmol/L	CXCR4	بازدارنده تومور	Polyphor	فاز I (NCT01837095)

آنتی‌بادی‌نماها عمدتاً از دو روش هدایت شده تکاملی پروتئین‌ها[1] و اتصال نواحی شناساگر و مکمل[2] ساخته می‌شوند.

در روش هدایت شده تکاملی پروتئینی، کنترل توانمندی انتخاب طبیعی در جهت تکامل پروتئین‌هایی با ویژگی‌های مطلوب به‌کار گرفته می‌شود. این روش شامل چهار مرحله کلیدی زیر می‌باشد (شکل ۲).

۱) شناسایی[3]: ساخت آنتی‌بادی‌نما با انتخاب یک داربست مناسب برای اتصال بخش‌های شناسایی آغاز می‌شود. در این مرحله توالی مورد نظر بر اساس عملکرد مطلوب و تکامل‌پذیری[4] آن انتخاب می‌شود (Romero and Arnold 2009). در این روش داربست یک ساختار پروتئینی شناخته شده با قابلیت جهش‌زایی و درج مطرح می‌شود. این داربست بایستی دارای انعطاف‌پذیری کافی در ساختار اولیه خود بدون تغییر در ساختار ثانویه و پایداری کلی آن باشد. به‌طورکلی، چنین داربست‌هایی با هدف بهبود محدودیت‌های آنتی‌بادی‌ها بدون تأثیر بر تمایل و

[1] Protein-directed evolution
[2] Complementarity determining regions
[3] Identification
[4] Evolvability

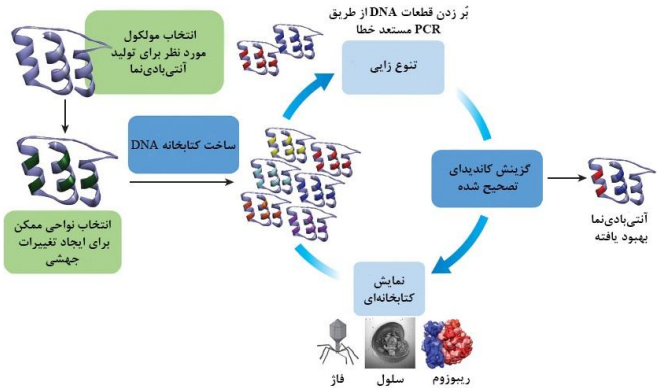
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

اختصاصی بودن آن‌ها به‌کار می‌روند. این مولکول‌ها باید پروتئین‌های تک دمین‌کوچک، ترجیحاً مقاوم در برابر دما، بدون پیوند دی‌سولفید و گلیکوزیلاسیون بوده و همچنین در سیتوپلاسم سیستم‌های بیانی پروکاریوتی با تاخوردگی صحیح و بدون هم‌چسبی و تخریب[1] قابل بیان باشند (Löfblom et al. 2011; Weidle et al. 2013).

۲) تنوع‌زایی[2]: در این مرحله با استفاده از روش‌های PCR مستعد خطا[3] و بُر زدن (قطعات) DNA[4] در توالی اصلی تنوع ایجاد می‌شود. پس از انتخاب داربست مناسب، کتابخانه با به‌کارگیری روش‌های *in silico* طراحی و با استفاده از پروتکل‌های زیست‌شناسی مولکولی ساخته می‌شود. چنانچه داربست انتخاب شده از قابلیت شناسایی مولکولی برخوردار باشد، باقی‌مانده‌های آمینواسیدی دخیل در اتصال لیگاند بهترین نقطه شروع برای ایجاد جهش و یا تغییرات دیگر هستند. انتخاب این باقی‌مانده‌های آمینواسیدی برای آنتی‌بادی‌نماهای جدید با استفاده از داده‌های کریستالوگرافی اشعه X و مدل‌سازی مولکولی انجام‌پذیر است. پس از شناسایی کاندیدهای ممکن برای ایجاد جهش، کتابخانه‌های آنتی‌بادی‌نما با بکارگیری استراتژی‌های جهش‌زایی هدایت شده مکانی[5] و یا تصادفی قابل ساخت هستند.

۳) غربال و گزینش[6]: کتابخانه ایجاد شده به‌منظور بررسی وجود جهش تحت غربال و انتخاب قرار می‌گیرد. پس از طراحی و ساخت کتابخانه، داربست‌های پروتئینی ترجمه شده برای جداسازی جهش‌یافته‌های با ویژگی‌های مطلوب غربال و گزینش می‌شوند. در یک کتابخانه معمول با 10^{12} عضو یا واریانت، برای کاهش زمان فرآیند غربال از یک روش با کارایی بالا که به‌طور معمول شامل تکنیک‌های نمایش[7] از جمله نمایش فاژی[8]، نمایش ریبوزومی[9]، نمایش mRNA[10]، نمایش مخمر[11] و نمایش سطح سلول باکتریایی[12] می‌باشد استفاده می‌شود (Dreier and Plückthun 2011; Gai and Wittrup 2007; Qi et al. 2012; Rakonjac et al. 2011).

۴) تکثیر[13]: برای به‌دست آوردن واریانتی با ویژگی‌های مورد نظر، کتابخانه ایجاد شده غربال، واریانت‌های مورد نظر پس از انتخاب، چندین بار تکثیر می‌شوند. کتابخانه‌های ترکیبی[14] بزرگ با تصادفی کردن اسیدهای آمینه در حلقه‌های متغیر ساختاری پروتئین‌ها (Schönfeld et al. 2009) و یا بُر زدن اگزون[15] و سپس نمایش فاژی (Silverman et al. 2005) ساخته می‌شوند؛ سپس کتابخانه‌های جهش‌یافته اختصاصی در برابر آنتی‌ژن توسط نمایش فاژی یا نمایش ریبوزومی غربال می‌شوند. با اینکه طی چهار مرحله فوق الذکر به‌دست آوردن داربست‌های پروتئینی با تمایل اتصال بیشتر از فمتومول امکان‌پذیر خواهد بود (Boder et al. 2000) ولی می‌توان پس از تولید آنتی‌بادی‌نماها و با توجه به کاربرد مورد نظر تغییرات بیشتری در آن‌ها اعمال کرد. به‌عنوان مثال، آنتی‌بادی‌نماها را می‌توان از طریق تلفیق یا اتصال[16] ژنتیکی یا شیمیایی به یک گزارشگر تغییر داد. آنتی‌بادی‌نماها به‌خاطر همین تغییرات، سمیت و ایمونوژنسیتی کمتری نشان داده و برای کاربردهای تشخیصی و تصویربرداری استفاده می‌شوند.



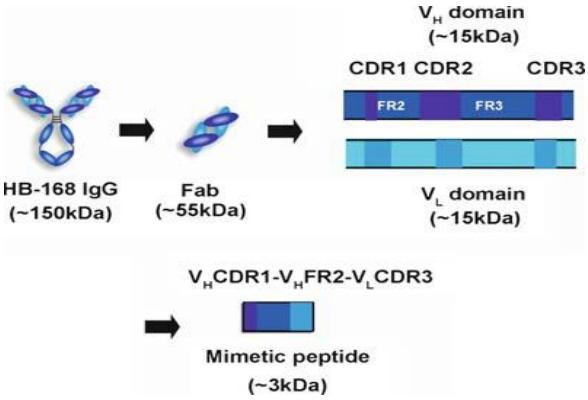
شکل ۲- چرخه هدایت شده تکاملی برای ساخت آنتی‌بادی‌نماهای جدید

[1] Degradation
[2] Diversification
[3] Error-prone PCR
[4] DNA shuffling
[5] Site-directed mutagenesis
[6] Screening and Selection
[7] Display techniques
[8] Phage display
[9] Ribosome display
[10] mRNA display
[11] Yeast display

[12] Bacterial cell surface display
[13] Amplification
[14] Combinatorial libraries
[15] Exon shuffling
[16] Fusion

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

در روش دوم ساخت آنتی‌بادی‌نماها، یعنی روش اتصال نواحی شناساگر و مکمل، پپتیدهای CDR-FR از طریق اتصال دو ناحیه مکمل معین (CDR) به یک ناحیه چارچوب[1] (FR) ساخته می‌شوند (شکل ۳). در آنتی بادی‌های رایج، آنتی‌ژن‌های پروتئینی توسط تمام شش CDR موجود در نواحی متغیر مکان اتصال (سه CDR در زنجیره سبک (VL) و سه CDR در زنجیره سنگین (VH)) شناسایی می‌شوند و در این میان حلقه CDR3 به‌دلیل دارا بودن تنوع توالی بیشتر در اتصال لیگاند به‌عنوان ضروری‌ترین ناحیه در دسترس آنتی‌بادی‌نماها محسوب می‌شود. بر همین اساس مایمتیک‌های ۳kDa متعددی به‌نام CDR-FR از طریق اتصال انتهای کربوکسیلی حلقه‌های انتخاب شده CDR1 یا CDR2 به انتهای آمینی حلقه CDR3 از زنجیره سبک یا سنگین به‌واسطه یک FR تولید شده‌اند (جدول ۱).



شکل ۳- ساخت آنتی‌بادی‌نمای جدید با اتصال نواحی مکمل معین.

آنتی‌بادی‌نماها گروهی از مایمتیک‌های مولکولی هستند که برای رفع محدودیت‌های آنتی بادی‌های رایج تولید شده و مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به ماهیت مولکولی متفاوت آن‌ها به مشخصات فنی هر یک از آن‌ها اشاره می‌شود.

آدنکتین‌ها[2] (مونوبادی‌ها[3])

آدنکتین در اصل از دهمین دمین خارج سلولی فیبرونکتین انسانی نوع III[4] با نام اختصاری 10Fn3 مشتق شده است. دمین 10Fn3 حاوی ۹۴ اسیدآمینه است و تاخوردگی ۷ رشته β[5] که با ٦ حلقه معین به‌هم متصل شده‌اند منجر به تشکیل یک ساختار پایدار ساندویچی β[6] می‌شود و مشابه با دمین متغیر آنتی‌بادی‌هاست (شکل ۱a). این ساختار پایدار نشان دهنده پتانسیل بالقوه آن برای استفاده جایگزین برای آنتی‌بادی‌ها می‌باشد (Dickinson et al. 1994; Lipovšek 2010).

بر خلاف آنتی‌بادی‌ها، چنانچه از شکل سه بعدی آن پیداست پایداری ساختار آدنکتین‌ها ناشی از پیوندهای دی‌سولفیدی نیست. سه حلقه از شش حلقه 10Fn3 (یعنی BC، DE و FG) دارای تشابه ساختاری با CDR در دمین متغیر آنتی‌بادی (یعنی H1، H2 و H3) هستند، که با تصادفی کردن اسیدهای آمینه در این حلقه‌ها و ایجاد تنوع در این مولکول می‌توان به تمایل و اختصاصی بودن قابل مقایسه با آنتی‌بادی در آن دست یافت. آدنکتین ساختار پروتئینی ساده‌تری داشته (یک پروتئین تک دمین، بدون باقی‌مانده‌های آزاد سیستئین و پیوندهای دی‌سولفیدی) و برای کاربردهای *in vivo* و بیان نوترکیب *in vitro* ترجیح داده می‌شود (Bloom and Calabro 2009). با استفاده از نمایش فاژی، نمایش mRNA و نمایش مخمری، مولکول‌های آدنکتین اختصاصی در برابر اهداف مختلفی از جمله یوبی‌کوئیتین[7]، α–TNF، لیزوزیم، دمین SH2 آبلسون کیناز (Abl)[8]، گیرنده ۲ فاکتور رشد اندوتلیال عروقی انسان[9] (VEGFR2)، پروپروتئین کانورتاز سابتیلیسین/ککسین نوع ۹[10] (PCSK9)، زیر واحد p19 اینترلوکین ۲۳ (IL-23) و β–سیکلودکسترین[11] تولید و مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Dineen et al. 2008; Emanuel et al. 2011; Lipovšek 2010; Mitchell et al. 2014).

افی‌بادی‌ها از مهندسی دمین Z پروتئین A استافیلوکوکوس[12] (SPA) تولید شده‌اند. پایداری این مولکول بیشتر از دمین B (دمین اتصالی ناحیه Fc ایمونوگلوبولین G) می‌باشد. مولکول افی‌بادی دارای ۵۸ اسید آمینه، فاقد پیوند دی‌سولفیدی و

[1] Framework region
[2] Adnectins
[3] Monobodies
[4] Fibronectin type III

[5] β-strands
[6] β-sandwich
[7] Ubiquitin
[8] Abelson kinase SH2 domain
[9] Human vascular endothelial growth factor receptor-2
[10] proprotein convertase subtilisin kexin-9
[11] β-cyclodextrin
[12] *Staphylococcus aureus*

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

ساختاری متشکل از ۳ مارپیچ آلفا بوده و سینتیک واکنش تا خوردگی آن بسیار سریع است (شکل ۱b) (Myers and Oas 2001; Nilsson et al. 1987; Salmanian et al. 2018). ۱۳ اسیدآمینه موجود در مارپیچ ۱ و ۲ سطح اتصالی این پروتئین را تشکیل می‌دهند، که با ایجاد تغییرات تصادفی در آن‌ها می‌توان اتصال اختصاصی و با تمایل بالای مولکول افی‌بادی با لیگاند مورد نظر را ایجاد کرد (Nygren 2008). همچنین با ایجاد تغییر در ۱۱ اسیدآمینه در ناحیه غیر اتصالی این مولکول می‌توان مقاومت دمایی و شیمیایی آن را افزایش داد (Vazquez-Lombardi et al. 2015). تمایل دمین Z تغییر یافته پروتئین A برای بخش Fc ایمونوگلوبولین حفظ شده ولی تمایل آن برای بخش Fab تقریبا از بین رفته است (De et al. 2018).

مولکول‌های افی‌بادی در مقایسه با آنتی‌بادی‌ها دارای اندازه کوچکتر، تاخوردگی سریع‌تر، حلالیت بیشتر و مقاومت دمایی بالاتری هستند که موجب تولید مقرون به صرفه و سریع این مولکول‌ها از طریق بیان نوترکیب و سنتز پپتیدی فاز جامد[1] (SPPS) می‌شود. افی‌بادی‌ها در تنظیم آنزیمی[2]، سنجش ایمنی[3]، ریزآرایه‌ها[4]، جداسازی زیستی[5]، تصویربرداری *in vivo*[6]، و کاربردهای تشخیصی و تحقیقاتی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Löfblom et al. 2010; Salmanian et al. 2018; Škrlec et al. 2015). مولکول‌های افی‌بادی دارای توانایی اتصال به پروتئین‌های هدف با تمایل و اختصاصیت بالا هستند. مولکول‌های افی‌بادی می‌توانند به‌عنوان عامل اتصال در سیستم‌های ریزآرایه جایگزین آنتی‌بادی‌ها شده و یک سیستم تشخیصی با ظرفیت بالا تولید نمایند (Phelan and Nock 2003; Renberg et al. 2007). پروتئین‌های افی‌بادی به‌دلیل ساختار قدرتمند و پایداری در pHهای مختلف، که هر دو از ویژگی‌های مطلوب در فرآیندهای بازآرایی[7] و تثبیت[8] ستون هستند، می‌توانند در روش‌های کروماتوگرافی تمایلی نیز مورد استفاده قرار گیرند (Nilsson et al. 1987; Nord et al. 2000). مولکول‌های افی‌بادی به‌دلیل اندازه کوچک می‌توانند سریع‌تر از عروق خونی خارج شده و در بافت هدف نفوذ کنند، بنابراین می‌توانند جایگزین آنتی‌بادی‌ها در رنگ‌آمیزی *in vitro* شوند (Feldwisch and Tolmachev 2012).

آپتامرهای پپتیدی[9] و افیمرها[10]

آپتامرهای پپتیدی پروتئین‌های ترکیبی کوچکی هستند که برای اتصال به جایگاه‌های اختصاصی در مولکول‌های هدف طراحی و گزینش شده‌اند. این مولکول‌ها پروتئین‌هایی کوچک، با ساختاری ساده و انطباق‌پذیر بوده و دارای پایداری قابل توجهی در pHهای بالا یا پایین و دمای بالا هستند و همچنین برای تولید این پروتئین‌ها نیازی به سیستم‌های جانوری نیست (Tiede et al. 2017). آپتامرهای پپتیدی بسته به نوع داربست خود، مهارکننده پروتئاز استفین A انسانی (Stadler et al. 2011) یا پروتئین فیتوسیستاتین (یک داربست ادهیرون[11]) (Nelson 2010) به‌ترتیب در گروه I و یا II طبقه‌بندی می‌شوند. هر دو گروه دارای چهار صفحه β و یک مارپیچ α هستند. جایگاه اتصال این مولکول‌ها در حلقه‌های متغیر که شامل توالی‌های کوتاه با ۵ تا ۲۰ باقی‌مانده اسیدآمینه بوده و بین دو صفحه β قرار گرفته‌اند می‌باشد (شکل ۱c). افیمرها نوعی از آپتامرهای پپتیدی هستند که در سیستم‌های آنالیزی مختلف از جمله ELISA، میکروآرایه‌ها کروماتوگرافی تمایلی و ایمونوهیستوشیمی کاربرد دارند (Klont 2018; Tans et al. 2020). آپتامرهای پپتیدی بر علیه مولکول‌های هدف مختلف دارای کاربردهای زیست پزشکی بسیاری هستند، از جمله؛ قطع مسیرهای سیگنال‌دهی درون سلولی، مهار عملکرد گیرنده‌های خارج سلولی، اتصال‌دهنده‌های[12] تنظیم عملکرد کانال‌های یونی، اتصال‌دهنده‌های تصویربرداری *in vivo*، فلوئورسانس تمایلی برای سلول‌های تثبیت شده، کاوشگر میکروسکوپ با وضوح بسیار بالا[13] و ردیابی ذرات منفرد (Kyle 2018; Tiede et al. 2017; Tiede et al. 2014).

آنتی‌کالین‌ها مشتق از لیپوکالین‌های[14] انسانی هستند که گروهی از

[1] Solid-phase peptide synthesis
[2] Enzyme regulation
[3] Immunoassays
[4] Microarrays
[5] Bio-separations
[6] In vivo imaging
[7] Regeneration
[8] Immobilization

[9] Peptide Aptamers
[10] Affimers
[11] Adhiron
[12] Binder
[13] Super-resolution microscopy
[14] Lipocalins

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

پروتئین‌های اتصالی بوده و در نقل و انتقالات ترکیبات آبگریز نقش دارند، بنابراین ایمنوژنسیتی کمی دارند. آنتی‌کالین‌ها شامل هشت رشته β غیر موازی هستند که یک بشکه β[1] حفاظت شده را تشکیل داده و به یک مارپیچ α مجاور متصل شده‌اند. چهار حلقه موجود در بشکه بتا، با ۱۶ تا ۲۴ اسیدآمینه متغیر عمل شناسایی و اتصال به هدف را انجام می‌دهند (Gebauer and Skerra 2012; Rothe and Skerra 2018). آنتی‌کالین‌ها با اندازه کوچک (تقریباً ۲۰ kD) از یک زنجیره پلی‌پپتیدی تشکیل شده‌اند، فاقد پیوند دی‌سولفیدی بوده و گلیکوزیله نمی‌شوند و می‌توانند به‌طور کارآمد در سیستم‌های بیان پروکاریوتی تولید شوند (شکل ۱d). از دیگر ویژگی‌های پروتئین‌های آنتی‌کالین می‌توان به تمایل و اختصاصیت نسبت به لیگاند، و همچنین ویژگی‌های بیوشیمیایی و بیوفیزیکی مطلوب از جمله حلالیت و پایداری تاخوردگی اشاره نمود (Rothe et al. 2018). آنتی‌کالین‌ها به‌دلیل اندازه کوچک می‌توانند در تشخیص‌های *in vivo* (Skerra 2001) و تصویربرداری با کنتراست بالا مورد استفاده قرار گیرند (Skerra 2007). به‌طور کلی، مکان اتصال به لیگاند در آنتی‌کالین‌ها نزدیک به سطح پروتئین قرار گرفته و از چهار حلقه لیپوکالین که به شکل یک پاکت نسبتاً عمیق تا خورده تشکیل شده است، با تغییر دز اسیدهای آمینه این ناحیه آنتی‌کالین‌های اختصاصی بر علیه هاپتن‌ها[2] و پپتیدهای کوچک با موفقیت انتخاب شده‌اند. با این حال، همانند آنتی‌بادی‌ها، این حلقه‌ها انعطاف‌پذیری بالایی نشان می‌دهند که می‌تواند منجر به برهمکنش با اهداف بزرگ‌تر از جمله پروتئین‌ها شود. علاوه بر این، آنتی‌کالین‌ها می‌توانند به‌صورت پروتئین‌های الحاقی دو یا حتی چند کاره، به‌ویژه در ترکیب با آنتی‌بادی‌ها برای ایجاد اختصاصیت ثانویه مهندسی شوند (Rothe et al. 2018). از جمله پروتئین‌های آنتی‌کالین تولید شده با اهداف درمانی می‌توان به PRS-050 بر علیه فاکتور رشد اندوتلیال عروقی-A[3] انسانی (VEGF-A) در تومورهای جامد (Mross et al. 2013)، DS-9001a بر علیه پروپروتئین کانورتاز سابتیلیسین/ککسین نوع ۹[4] (PCSK9) در چربی پریشی[5] (Masuda et al. 2018) و PRS-080 بر علیه هپسیدین[6] در کم خونی (Renders et al. 2019) که فاز ۱ آزمایشات بالینی آن‌ها تکمیل شده است اشاره کرد.

اویمرها مولکول‌هایی بر پایه دمین A گیرنده‌های خارج سلولی از جمله پروتئین‌های مرتبط با چگالی[7] (LRP) و گیرنده لیپوپروتئینی با چگالی خیلی کم[8] (VLDLR) هستند. دمین A به‌طور معمول شامل تقریبا ۳۵ اسیدآمینه (با وزن مولکولی تقریبی ۴ kD) و سه پیوند دی‌سولفید داخلی است (شکل ۱d) (Huang et al. 1999; North and Blacklow 1999). ۱۲ اسیدآمینه حفاظت شده ساختار داربستی اویمر را تشکیل می‌دهند و با تغییر تصادفی در ۲۳ اسیدآمینه باقیمانده این دمین می‌توان اویمرهایی با قابلیت اتصال به اهداف مختلف تولید کرد (Silverman et al. 2005). به‌دلیل وجود پیوندهای دی‌سولفیدی، این مولکول‌ها دارای پایداری دمایی بالایی هستند و حتی پس از ۲ هفته نگهداری در دمای ۵۰ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد نیز فعالیت کامل خود را حفظ می‌کنند (Silverman et al. 2005; Weidle et al. 2013). با توجه به اندازه کوچک دمین A، اویمرها اغلب شامل چندین دمین بوده و هر یک قابلیت اتصال به مکان متفاوتی را دارند. اویمرهایی با هشت دمین A و با سه پیوند دی‌سولفید در هر دمین به صورت محلول در *E. coli* بیان و تولید شده‌اند (Silverman et al. 2005). با توجه به تمایل و اختصاصیت بالا و همچنین پایداری اتصال به لیگاند، اویمرها می‌توانند در آنالیزها، تشخیص و درمان مورد استفاده قرار گیرند (Kohnehrouz et al. 2018; Silverman et al. 2005; Smith et al. 2013). به‌عنوان مثال، اویمرهایی با توانایی تشخیص اپی‌توپ‌های مختلف آنالیت‌ها می‌توانند در آزمون الایزا استفاده شوند.

فینومرها پروتئین‌های کروی کوچک (با وزن مولکولی تقریبی ۷ kDa) مشتق شده از اسیدهای آمینه ۸۳ تا ۱۵۶ دمین SH3[9] تیروزین کیناز انسانی هستند. داربست اتصالی آن‌ها شامل دو صفحه β غیر موازی و دو حلقه انعطاف‌پذیر به‌عنوان مکان اتصال

[1] β-barrel
[2] Haptens
[3] Human vascular endothelial growth factor
[4] Proprotein convertase subtilisin kexin-9
[5] Dyslipidemia
[6] Hepcidin
[7] Density-related protein
[8] Very low-density lipoprotein receptor
[9] Src-homology domain 3

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

لیگاند می‌باشد، که با تصادفی کردن اسیدهای آمینه موجود در این حلقه‌ها می‌توان کتابخانه فینومر تولید کرد (شکل ۱e) (Grabulovski et al. 2007). از آنجایی‌که فینومرها در باکتری به شکل محلول و در مقادیر بالا قابل تولید هستند و با توجه به ماهیت مونومری و عدم تجمع در محلول در طول ذخیره‌سازی، و همچنین به‌دلیل پایداری دمایی بالا، عدم وجود سیستئین و منشاء انسانی که منجر به کاهش ایمنوژنسیته بالقوه می‌شود توجه بسیاری را به‌عنوان مولکول اتصالی به‌خود جلب کرده‌اند (Weidle et al. 2013). به‌عنوان مثال، فینومرهایی برای اتصال به اهداف مختلف از جمله سرم آلبومین موشی (Bertschinger et al. 2007)، سرین پروتئاز کیماز[1] (Schlatter et al. 2012)، بتا سکرتاز ۲[2] (BACE2) (Banner et al. 2013) و گیرنده ۲ فاکتور رشد اپیدرمال انسانی[3] HER2 (Brack et al. 2014) تولید شده‌اند. اخیراً، فینومرهای متصل شده به آنتی‌بادی‌های دارویی برای تولید فینومب دوکاره[6] با کارایی درمانی بهبود یافته ایجاد شده‌اند. به‌عنوان مثال، فینومب COVA322 یک پروتئین اتصالی آنتی‌بادی عامل ضد نکروز تومور[4] (TNF) آدالیمومب[5] با یک پروتئین مشتق از Fyn SH3 است که به‌طور اختصاصی به IL-17A متصل می‌شود (Silacci et al. 2016). در حال حاضر، COVA322 تحت آزمایشات بالینی فاز I/II می‌باشد (NCT02243787). به‌طور مشابه، فینومب دوکاره COVA208 به‌صورت یک پروتئین اتصالی آنتی‌بادی ضد HER2 پرتوزومب[6] و یک فینومر ضد HER2 طراحی و تولید شد که پروتئین اتصالی حاصل قادر به هدف‌گیری دو اپی‌توپ مختلف بر روی پروتئین HER2 بود و منجر به افزایش تمایل اتصال این پروتئین دارویی به گیرنده HER2 در سطح سلول‌های سرطانی شد (Brack et al. 2014).

اتریمرها[7] با وزن مولکولی تقریبی ۶۰kDa مشتق شده از داربست‌های پروتئین تری‌مر پلاسما تحت عنوان تترانکتین[8] بوده و یک خانواده از لکتین‌های نوع C[9] شامل سه واحد مشابه می‌باشند (Nielsen et al. 1997). ساختار دمین لکتین نوع C[10] (CTLD) در داخل تترانکتین دارای پنج حلقه انعطاف‌پذیر است که در برهمکنش با مولکول‌های هدف درگیر هستند (شکل ۱f) (Zelensky and Gready 2005). توالی این حلقه‌ها را می‌توان تغییر داد، بدون اینکه ساختار CTLD تغییر یابد (Byla et al. 2010). این امر اجازه استفاده از فناوری نمایش فاژی را برای انتخاب مولکول‌های اتصالی می‌دهد (Rohn 2010). چندین اتریمر به‌عنوان داروهای بیولوژیک برای تحریک و یا بلوکه کردن لیگاندهای اختصاصی آن‌ها تولید شده‌اند. ATX 3105، اولین اتریمر مهندسی شده برای مهار انتقال سیگنال التهابی تحریک شده با IL-23 با بلوکه کردن اتصال IL-23 به گیرنده آن است (Allen et al. 2012). علاوه بر این، اتریمرها در انتهای آمینی خود دارای نواحی غیر ساختاری غنی از لیزین هستند که به‌طور بالقوه برای تحویل دارو و عوامل تصویربرداری مناسب هستند. با این حال، اتریمرها با وزن مولکولی ۶۰ تا ۷۰ کیلو دالتون اندازه بزرگ‌تری نسبت به سایر آنتی‌بادی‌نماها دارند که کاربرد آن‌ها را محدود می‌سازد.

پروتئین‌های تکرار آرمادیلو[11] (ARM) اولین بار در پروتئین قطبیت قطعه[12] آرمادیلو در *Drosophila*، یک پروتئین همولوگ β-کاتنین[13] پستانداری شناسایی شدند (Reichen Madhurantakam et al. 2014; Tewari et al. 2010). این پروتئین از واحدهای تکراری ۴۲ اسیدآمینه‌ای در سه مارپیچ آلفا تشکیل شده است. پروتئین‌های تکرار آرمادیلو در یوکاریوت‌ها به فراوانی مشاهده شده و در طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی به‌ویژه در فعالیت‌های مرتبط به انتقالات هسته‌ای نقش دارند. این پروتئین‌ها اغلب شامل سه تا پنج تکرار داخلی و دو تکرار انتهایی سرپوش‌دار می‌باشند. همچنین دارای ساختار فوق مارپیچ طولانی متوالی هستند که امکان اتصال آن‌ها به لیگاندهای پروتئینی مربوطه با کنفورماسیون گسترده را فراهم می‌کند (شکل

[1] Chymase
[2] Beta-secretase 2
[3] Human epidermal growth factor receptor 2.
[6] Bispecific FynomAb
[4] Antitumor necrosis factor antibody
[5] Adalimumab
[6] Pertuzumab
[7] Atrimers
[8] Tetranectin

[9] C-type lectins
[10] C-type lectin-like domain
[11] Armadillo Repeat Proteins
[12] Segment polarity protein
[13] β-catenin

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

g۱). این ویژگی‌های ساختاری منحصر به فرد ARMها، آن‌ها را تبدیل به داربست‌های جالب توجه برای تولید پروتئین‌های اتصالی می‌سازد (Reichen Hansen et al. 2014). به‌عنوان مثال، ARMهایی برای اتصال به نوروتنسین[1]، یک لیگاند پپتیدی ۱۳ آمینواسیدی گیرنده متصل به پروتئین G تولید شده است (Varadamsetty et al. 2012). با توجه به اختصاصیت آن‌ها، ARMAها می‌توانند به‌طور بالقوه در کاربردهای مرتبط با تشخیص نشانگرهای زیستی مبتنی بر پپتید و یا خنثی‌سازی پپتیدهای سمی مانند ملیتین[2] و پونریسین[3] مورد استفاده قرار گیرند.

دمین‌های کونیتز[4] پپتیدهای کوچک شامل ۵۰ تا ۶۰ اسید آمینه (وزن مولکولی تقریبی ۷ kDa) مشتق از موتیف فعال مهار کننده‌های پروتئازی نوع کونیتز از جمله آپروتینین[5] (مهار کننده تریپسین پانکراس گاوی)، پروتئین پیش‌ماده آمیلوئید آلزایمر[6] و مهار کننده مسیر فاکتور بافتی[7] می‌باشند (Bode and Huber 1992; Hosse et al. 2006; Weidle et al. 2013). هسته آبدوست دمین کونیتز از دو صفحه β دو رشته‌ای به‌هم پیچیده و دو مارپیچ آلفا تشکیل شده است و پایداری آن به‌دلیل وجود سه جفت پیوند دی‌سولفیدی می‌باشد (شکل ۱i) (Schmidt et al. 2005). با تصادفی کردن بنیان‌های موجود در سه حلقه بدون تغییر در ثبات چارچوب ساختاری آن می‌توان مولکول‌هایی بر علیه اهداف مختلف تولید کرد (Hosse et al. 2006).

مهارکننده‌های دمین کونیتز به‌عنوان عوامل دارویی برای هدف‌گیری انواع پروتئازها تولید شده‌اند. اکالانتید[8] (DX-88)، یک مهار کننده کالکرین پلاسما توسط FDA برای درمان آنژیو ادم ارثی مورد تائید قرار گرفته است (Zoller et al. 2011). دپلستات[9] یا EPI-hNE4 (DX-890)، یک مهار کننده بالقوه و انتخابی برای نوروفیل الاستاز انسانی بوده و منجر به کاهش مهاجرت ترانس اپیتلیال و التهاب *ex vivo* می‌شود (Dunlevy et al. 2012; Roberts et al. 1992). Dx-890 در حال حاضر تحت آزمایشات بالینی فاز ۲ برای درمان فیبروز سیستی می‌باشد (NCT00455767).

ناتین‌ها[10] یا پروتئین‌های کوچک گره سیستین[11]، به‌طور معمول پروتئین‌هایی با طول ۳۰ اسیدآمینه و با ساختار سوم پایدار شامل سه صفحه غیر موازی β می‌باشند که توسط حلقه‌هایی با طول‌های متفاوت و چندین پیوند دی‌سولفیدی به‌هم متصل شده‌اند (شکل ۱j) (Heitz et al. 2008; Kolmar 2009). حلقه‌های سطحی ناتین‌ها برای اتصال به لیگاندهای مختلف مهندسی می‌شوند. حلقه‌های محدود شده با پیوندهای دی‌سولفیدی در ناتین‌های طبیعی دارای توالی‌های بسیار متنوعی هستند. بنابراین، ایجاد تغییر در توالی حلقه از جمله جایگزینی، حذف و اضافه تأثیری بر ساختار کلی ناتین‌ها نداشته و چارچوبی برای مهندسی مولکول‌هایی که قادر به اتصال به اهداف مختلف هستند ایجاد می‌کند (Moore et al. 2012). ویژگی منحصر به فرد ناتین‌ها گره سیستین است که در آن یک پیوند دی‌سولفیدی از ماکروسیکل[12] تشکیل شده از دو پیوند دی‌سولفیدی دیگر عبور می‌کند. سیکلوتیدها[13] یک زیر گروه از ناتین‌ها هستند که انتهای آمینی و کربوکسیلی پروتئین پس از ترجمه به‌هم متصل شده و یک مولکول دایره‌ای را ایجاد می‌کند (Craik et al. 2010). چارچوب گره سیستین و شبکه دی‌سولفیدی، باعث پایداری فوق‌العاده دمایی، پروتئولیتیک و شیمیایی ناتین‌ها می‌شود (Kintzing and Cochran 2016). دمای ذوب برای اغلب ناتین‌ها بیش از ۸۰ درجه سانتی‌گراد است. به‌دلیل پایداری بالای پروتئولیتیک و امکان بقا در شرایط سخت دستگاه گوارش، ناتین‌ها نامزدهای مناسبی برای مصرف خوارکی هستند (Thell et al. 2016). اندازه کوچک و پایداری ناتین‌ها اجازه سنتز شیمیایی و بیان این مولکول‌ها را در میزبان‌های باکتریایی می‌دهد (Avrutina 2016). ناتین‌ها به‌طور طبیعی در طیف وسیعی از گونه‌ها از جمله گیاهان، حیوانات و قارچ‌ها یافت شده و دارای عملکردهای مختلفی از جمله مهار

[1] Neurotensin
[2] Melittin
[3] Ponericin
[4] Kunitz
[5] Aprotinin
[6] Alzheimer's amyloid precursor protein
[7] Tissue factor pathway inhibitor
[8] Ecallantide
[9] Depelestat
[10] Knottins
[11] Cysteine knot mini-proteins
[12] Macrocycle
[13] Cyclotides

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

پروتئازی، انسداد کانال یونی و فعالیت ضد میکروبی هستند (Aboye et al. 2015; Gracy et al. 2007; Tam et al. 2015). مجموع این ویژگی‌ها ناتین‌ها را جایگزین مناسبی برای آنتی‌بادی‌ها برای توسعه روش‌های تشخیصی، درمانی و آنالیزهای زیستی غیر مبتنی بر آنتی‌بادی می‌سازد. اخیرا، ناتین ω-کونوتوکسین MVIIa[1] که قادر به انسداد کانال‌های کلسیم در عصب‌ها و انتقال سیگنال‌های درد است، به‌عنوان دارویی برای کنترل دردهای مزمن شدید توسط FDA تائید شده است (Schmidtko et al. 2010). علاوه بر این، می‌توان از ناتین‌ها در تصویربرداری مولکولی نیز استفاده کرد. نمونه‌ای از آن ناتین‌هایی هستند که از کلروتوکسین[2] متصل به رنگ NIR[3] برای تشخیص تومورهای نورواکتودرمال[4] و بافت سالم در مدل‌های موشی استفاده می‌کنند (Lyons et al. 2002; Veiseh et al. 2007).

پروتئین‌های تکرار انکیرین طراحی شده[5] (دارپین‌ها)، داربست‌های داربست‌های ساختگی (با وزن مولکولی کمتر از ۲۰ kDa) بر پایه پروتئین‌های دمین تکراری انکرین انسانی می‌باشند، که از مولکول‌های سازگار فراوان درون سلولی با طیف وسیعی از برهمکنش‌های پروتئینی دخیل در رخدادهای بیولوژیکی مختلف از جمله انتقال سیگنال، تنظیم چرخه سلولی، نقل و انتقال وزیکولی[6]، پاسخ‌های التهابی، یکپارچگی اسکلت سلولی و تنظیم رونویسی هستند (Mosavi et al. 2004). دارپین‌ها از تکرارهای مستحکم انکیرین، اغلب از ۳۳ باقی‌مانده اسید آمینه ساخته شده‌اند که ۲۷ باقی‌مانده چارچوب آن و ٦ باقی‌مانده جایگاه اتصال پروتئین را تشکیل می‌دهند. هر تکرار، یک واحد ساختاری متشکل از یک پیچ β[7] و سپس دو مارپیچ غیر موازی α[8] و یک حلقه بدون ساختار که به پیچ β بعدی متصل می‌شود را تشکیل می‌دهد، و تا ۲۹ تکرار متوالی در یک پروتئین می‌تواند وجود داشته باشد، همچنین تکرارهای سرپوش‌دار انتهای آمینی[9] و انتهای انتهای کربوکسیلی[10] در دو انتهای این مولکول قرار دارند که برای تاخوردگی صحیح و عدم تجمع در هنگام بیان پروتئین ضروری می‌باشند (شکل ۱k) (Kawe et al. 2006; Walker et al. 2000). با این حال، دمین‌های تکرار انکیرین اغلب شامل چهار تا شش تکرار و با وزن مولکولی ١٤ تا ١٨ کیلو دالتون (بسته به تعداد تکرارهای انکرین) هستند، که منجر به ساختار سلنوئیدی راست‌گرد با یک هسته هیدروفوبیک پیوسته و سطحی بزرگ و قابل دسترس برای واکنش با حلال می‌شود (Kobe and Kajava 2000; Sedgwick and Smerdon 1999). به این ترتیب یک شیار در سطح آن ایجاد شده و اسیدهای آمینه متغیر در سطح آن می‌توانند به اهداف مختلف متصل شوند (Merz et al. 2008). عدم وجود پیوندهای دی‌سولفید و سطح اتصال مقعر دارپین‌ها آن‌ها را رابط‌های ایده‌آلی برای کاربردهای درون سلولی و برای اپی‌توپ‌های بزرگ و تطبیقی ساخته است.

دارپین‌ها دارای سطح اتصال بزرگی هستند و اغلب از طریق نمایش فاژی یا نمایش ریبوزومی به منظور اتصال به طیف وسیعی از اهداف با تمایل در حد پیکومولار و یا نانومولار مهندسی می‌شوند (Plückthun 2015). برای تشکیل کتابخانه، بنیان‌های اسیدآمینه‌ای تصادفی در ساختارهای مارپیچ و حلقه تشکیل می‌دهند. بنابراین کتابخانه دارپین شامل موقعیت‌های ثابت و متغیر است، که موقعیت‌های ثابت نشان دهنده جایگاه‌های ساختاری مهم چارچوب است، در حالی‌که ٦ موقعیت متغیر در هر تکرار نشان دهنده بنیان‌های حفاظت نشده سطحی هستند که می‌توانند در واکنش با مولکول‌های هدف درگیر شوند (Boersma 2018; Plückthun 2015). با استفاده از تکنیک نمایش ریبوزومی دارپین‌های با تمایل بالا در برابر اهداف مختلف از جمله کینازها (Kummer et al. 2012; Parizek et al. 2012)، توبولین (Ahmad et al. 2016; Pecqueur et al. 2012)، کاسپازها[11] (Flütsch Ackermann et al. 2014; Flütsch Schroeder et al. 2014; Schroeder et al. 2013)، و پروتئین HIV gp120 (Mann et al. 2013) گزینش شده‌اند.

در حال حاضر، استفاده از داربست‌های پروتئینی جایگزین تحت عنوان آنتی‌بادی‌نماها با ویژگی‌های بهبود یافته نسبت به

[1] ω-conotoxin MVIIa
[2] Chlorotoxin
[3] Near Infrared
[4] Neuroectodermal
[5] Designed ankyrin repeat proteins
[6] Vesicular trafficking
[7] β-turn
[8] Anti-parallel α-helices
[9] N-Cap
[10] C-Cap
[11] Caspases

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

آنتی‌بادی‌ها در مراحل تائید بالینی می‌باشد. آنتی‌بادی‌نماها را می‌توان در برابر طیف وسیعی از نشانگرهای زیستی مرتبط با بیماری‌های خاص برای توسعه تشخیص الکترونیکی و سایر قالب‌های حسگرهای زیستی مولتی پلکس، معرف‌ها برای تشخیص در آنالیزهای ایمونولوژیک معمول مانند الایزا و لکه‌گذاری وسترن طراحی و تولید کرد. کارآیی درمانی و پیشرفت مداوم در تولید مولکول‌های مشتق شده از انسان، آینده امیدوار کننده‌ای را برای آنتی‌بادی‌نماها متصور ساخته است. با این حال، برخی مشکلات مربوط استفاده درمانی و تشخیصی، عمدتاً با توجه به نیمه عمر کوتاه آن‌ها باقی‌مانده است. آنتی‌بادی‌نماها نیمه عمر کوتاه‌تری دارند زیرا فاقد ناحیه Fc بوده و دارای وزن مولکولی بسیار کمتری هستند. با این حال، از طریق مهندسی آنتی‌بادی‌نماها با با برخی از قسمت‌های عملکردی آنتی‌بادی‌ها مانند Fc می‌توان از مزایای آنتی‌بادی‌های طبیعی و آنتی‌بادی‌نماها به‌طور هم‌زمان بهره برد. با توجه به پیشرفت‌های اخیر در مهندسی زیستی، فعالیت بیولوژیکی آنتی‌بادی‌نماها را می‌توان چندین برابر افزایش داد. علی‌رغم کاهش اندازه و افزایش تمایل، اثرات آنتی‌بادی‌نماها در درمان بیماری‌های دیگر به‌غیر از تومورهای جامد و بیماری‌های خود ایمن هنوز نیاز به ارزیابی بیشتر دارد.

منابع

Aboye TL, Strömstedt AA, Gunasekera S, Bruhn JG, El-Seedi H, Rosengren KJ, Göransson U (2015) A Cactus-Derived Toxin-Like Cystine Knot Peptide with Selective Antimicrobial Activity. Chembiochem 16:1068-1077.

Ahmad S, Pecqueur L, Dreier B, Hamdane D, Aumont-Nicaise M, Plückthun A, Knossow M, Gigant B (2016) Destabilizing an interacting motif strengthens the association of a designed ankyrin repeat protein with tubulin. Scientific Reports 6:1-14.

Allen JE, Ferrini R, Dicker DT, Batzer G, Chen E, Oltean DI, Lin B, Renshaw MW, Kretz-Rommel A, El-Deiry WS (2012) Targeting TRAIL death receptor 4 with trivalent DR4 Atrimer complexes. Molecular Cancer Therapeutics 11:2087-2095.

Arezoumand shendi M (2016) the designing and biologic synthesis of multipurpose affitin mimetic in *Escherichia coli*. Higher Education of Rab-Rashid, Tabriz, Iran. (In Farsi).

Avrutina O (2016) Synthetic Cystine-Knot Miniproteins–Valuable Scaffolds for Polypeptide Engineering. In Protein targeting compounds, Springer Press, New York, USA 121-144.

Baloch AR, Baloch AW, Sutton BJ, Zhang X (2016) Antibody mimetics: promising complementary agents to animal-sourced antibodies. Critical Reviews in Biotechnology 36:268-275.

Banner DW, Gsell B, Benz J, Bertschinger J, Burger D, Brack S, Cuppuleri S, Debulpaep M, Gast A, Grabulovski D (2013) Mapping the conformational space accessible to BACE2 using surface mutants and cocrystals with Fab fragments, Fynomers and Xaperones. Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography 69:1124-1137.

Bertschinger J, Grabulovski D, Neri D (2007) Selection of single domain binding proteins by covalent DNA display. Protein Engineering, Design Selection 20:57-68.

Bloom L, Calabro V (2009) FN3: a new protein scaffold reaches the clinic. Drug discovery today 14:949-955.

Bode W, Huber R (1992) Natural protein proteinase inhibitors and their interaction with proteinases. European Journal of Biochemistry 204:433-451.

Boder ET, Midelfort KS, Wittrup KD (2000) Directed evolution of antibody fragments with monovalent femtomolar antigen-binding affinity. Proceedings of the National Academy of Sciences 97:10701-10705.

Boersma YL (2018) Advances in the Application of Designed Ankyrin Repeat Proteins (DARPins) as Research Tools and Protein Therapeutics. In Protein Scaffolds, Springer Press, New York, USA 307-327.

Brack S, Attinger-Toller I, Schade B, Mourlane F, Klupsch K, Woods R, Hachemi H, von der Bey U, Koenig-Friedrich S, Bertschinger J (2014) A bispecific HER2-targeting FynomAb with superior antitumor activity and novel mode of action. Molecular Cancer Therapeutics 13:2030-2039.

Byla P, Andersen MH, Holtet TL, Jacobsen H, Munch M, Gad HH, Thøgersen HC, Hartmann R (2010) selection of a novel and highly specific tumor necrosis factor α (TNFα) antagonist insight from the crystal structure of the antaginist-TNFα complex. Journal of Biological Chemistry 285:12096-12100.

Campochiaro PA, Channa R, Berger BB, Heier JS, Brown DM, Fiedler U, Hepp J, Stumpp MT (2013) Treatment of diabetic macular edema with a designed ankyrin repeat protein that binds vascular endothelial growth factor: a phase I/II study. American Journal of Ophthalmology 155:697-704.

Chames P, Van Regenmortel M, Weiss E, Baty D (2009) Therapeutic antibodies: successes, limitations and hopes for the future. British Journal of Pharmacology 157:220-233.

Chauhan VP, Stylianopoulos T, Boucher Y, Jain RK (2011) Delivery of molecular and nanoscale medicine to

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

tumors: transport barriers and strategies. Annual review of chemical and biomolecular engineering 2:281-298.
Craik DJ, Mylne JS, Daly NL (2010) Cyclotides: macrocyclic peptides with applications in drug design and agriculture. Cellular and Molecular Life Sciences 67:9-16.
De A, Kuppusamy G, Karri VVSR (2018) Affibody molecules for molecular imaging and targeted drug delivery in the management of breast cancer. International Journal of Biological Macromolecules 107:906-919.
Dejnirattisai W, Supasa P, Wongwiwat W, Rouvinski A, Barba-Spaeth G, Duangchinda T, Sakuntabhai A, Cao-Lormeau V-M, Malasit P, Rey FA (2016) Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with zika virus. Nature Immunology 17:1102-1108.
Dickinson CD, Veerapandian B, Dai X-P, Hamlin RC, Xuong N-h, Ruoslahti E, Ely KR (1994) Crystal structure of the tenth type III cell adhesion module of human fibronectin. Journal of Molecular Biology 236:1079-1092.
Dineen SP, Sullivan LA, Beck AW, Miller AF, Carbon JG, Mamluk R, Wong H, Brekken RA (2008) The Adnectin CT-322 is a novel VEGF receptor 2 inhibitor that decreases tumor burden in an orthotopic mouse model of pancreatic cancer. BMC Cancer 8:1-10.
Dreier B, Plückthun A (2011) Ribosome display:a technology for selecting and evolving proteins from large libraries. In PCR protocols. Springer Press, New York, USA, 283-306.
Dunlevy FK, Martin SL, de Courcey F, Elborn JS, Ennis M (2012) Anti-inflammatory effects of DX-890, a human neutrophil elastase inhibitor. Journal of Cystic Fibrosis 11:300-304.
Ecker DM, Jones SD, Levine HL (2015) The therapeutic monoclonal antibody market. MAbs 7:9-14.
Emanuel SL, Engle LJ, Chao G, Zhu R-R, Cao C, Lin Z, Yamniuk A P, Hosbach J, Brown J, Fitzpatrick E (2011) A fibronectin scaffold approach to bispecific inhibitors of epidermal growth factor receptor and insulin-like growth factor-I receptor. MAbs 3:38-48.
Farahi H (2015) Design and construction of plastidial coding sequence of DARPin. Higher Education of Rab-Rashid, Tabriz, Iran. (In Farsi).
Feldwisch J, Tolmachev V (2012) Engineering of affibody molecules for therapy and diagnostics. In Therapeutic Proteins. Springer Press, New York, USA, 103-126.
Flütsch A, Ackermann R, Schroeder T, Lukarska M, Hausammann GJ, Weinert C, Briand C, Grütter MG (2014) Combined inhibition of caspase 3 and caspase 7 by two highly selective DARPins slows down cellular demise. Biochemical Journal 461:279-290.
Flütsch A, Schroeder T, Barandun J, Ackermann R, Bühlmann M, Grütter MG (2014) Specific targeting of human caspases using designed ankyrin repeat proteins. Biological Chemistry 395:1243-1252.
Gaffari S (2016) Designing and prokaryotic expression of a semianticalin (N-terminal) in *E. coli*. Higher Education of Rab-Rashid, Tabriz, Iran. (In Farsi).
Gai SA, Wittrup KD (2007) Yeast surface display for protein engineering and characterization. Current Opinion in Structural Biology 17:467-473.
Gebauer M, Skerra A (2012) Anticalins: small engineered binding proteins based on the lipocalin scaffold. In Methods in enzymology. Elsevier Press, Masachusetts, USA 157-188.
Grabulovski D, Kaspar M, Neri D (2007) A novel, non-immunogenic Fyn SH3-derived binding protein with tumor vascular targeting properties. Journal of Biological Chemistry 282:3196-3204.
Gracy J, Le-Nguyen D, Gelly J-C, Kaas Q, Heitz A, Chiche L (2007) KNOTTIN: the knottin or inhibitor cystine knot scaffold in 2007. Nucleic Acids Research 36:314-319.
Heitz A, Avrutina O, Le-Nguyen D, Diederichsen U, Hernandez J-F, Gracy J, Kolmar H, Chiche L (2008) Knottin cyclization: impact on structure and dynamics. BMC Structural Biology 8:54.
Hey T, Fiedler E, Rudolph R, Fiedler M (2005) Artificial, non-antibody binding proteins for pharmaceutical and industrial applications. Trends in Biotechnology 23:514-522.
Hosse RJ, Rothe A, Power BE (2006) A new generation of protein display scaffolds for molecular recognition. Protein Science 15:14-27.
Huang W, Dolmer K, Gettins PG (1999) NMR solution structure of complement-like repeat CR8 from the low density lipoprotein receptor-related protein. Journal of Biological Chemistry 274:14130-14136.
Jefferis R (2009) Glycosylation as a strategy to improve antibody-based therapeutics. Nature Reviews Drug Discovery 8:226-234.
Kawe M, Forrer P, Amstutz P, Plückthun A (2006) Isolation of intracellular proteinase inhibitors derived from designed ankyrin repeat proteins by genetic screening. Journal of Biological Chemistry 281:40252-40263.
Kintzing JR, Cochran JR (2016) Engineered knottin peptides as diagnostics, therapeutics, and drug delivery vehicles. Current Opinion in Chemical Biology 34:143-150.
Klont F (2018) Mass spectrometry-based methods for protein biomarker quantification. Talanta 182:414-421.
Kobe B, Kajava A V (2000) When protein folding is simplified to protein coiling: the continuum of solenoid protein structures. Trends in Biochemical Sciences 25:509-515.
Köhler G, Milstein C (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256:495-497.
Kohnehrouz BB, Talischian A, Dehnad A, Nayeri S (2018) Novel Recombinant Traceable c-Met Antagonist-Avimer Antibody Mimetic Obtained by Bacterial Expression Analysis. Avicenna Journal of Medical Biotechnology 10:9-14.
Kolmar H (2009) Biological diversity and therapeutic potential of natural and engineered cystine knot miniproteins. Current Opinion in Pharmacology 9:608-614.
Kummer L, Parizek P, Rube P, Millgramm B, Prinz A, Mittl PR, Kaufholz M, Zimmermann B, Herberg FW, Plückthun A (2012) Structural and functional analysis of phosphorylation-specific binders of the kinase ERK from

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

designed ankyrin repeat protein libraries. Proceedings of the National Academy of Sciences 109:2248-2257.
Kyle S (2018) Affimer proteins: theranostics of the future? Trends in Biochemical Sciences 43:230-232.
Lipovšek D (2010) Adnectins: engineered target-binding protein therapeutics. Protein Engineering, Design Selection 24:3-9.
Löfblom J, Feldwisch J, Tolmachev V, Carlsson J, Ståhl S, Frejd FY (2010) Affibody molecules: engineered proteins for therapeutic, diagnostic and biotechnological applications. FEBS letters 584:2670-2680.
Löfblom J, Frejd FY, Ståhl S (2011) Non-immunoglobulin based protein scaffolds. Current opinion in biotechnology 22:843-848.
Lyons SA, O'Neal J, Sontheimer H (2002) Chlorotoxin, a scorpion-derived peptide, specifically binds to gliomas and tumors of neuroectodermal origin. Glia 39:162-173.
Mann A, Friedrich N, Krarup A, Weber J, Stiegeler E, Dreier B, Pugach P, Robbiani M, Riedel T, Moehle K (2013) Conformation-dependent recognition of HIV gp120 by designed ankyrin repeat proteins provides access to novel HIV entry inhibitors. Journal of Virology 87:5868-5881.
Masuda Y, Yamaguchi S, Suzuki C, Aburatani T, Nagano Y, Miyauchi R, Suzuki E, Yamamura N, Nagatomo K, Ishihara H (2018) Generation and characterization of a novel small biologic alternative to proprotein convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) Antibodies, DS-9001a, albumin binding domain–fused anticalin protein. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 365:368-378.
Merz T, Wetzel SK, Firbank S, Plückthun A, Grütter MG, Mittl PR (2008) Stabilizing ionic interactions in a full-consensus ankyrin repeat protein. Journal of Molecular Biology 376:232-240.
Mitchell T, Chao G, Sitkoff D, Lo F, Monshizadegan H, Meyers D, Low S, Russo K, DiBella R, Denhez F (2014) Pharmacologic profile of the Adnectin BMS-962476, a small protein biologic alternative to PCSK9 antibodies for low-density lipoprotein lowering. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 350:412-424.
Moebius U, Feuerer W, Fenzl E, van Swelm R, Swinkels DW, Hohlbaum A (2015) A Phase I Study Investigating the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Activity of the Hepcidin Antagonist PRS-080# 022. Results from a Randomized, Placebo Controlled, Double-Blind Study Following Single Administration to Healthy Subjectsa. Blood 126:536-536.
Moore SJ, Leung CL, Cochran JR (2012) Knottins: Disulfide-bonded therapeutic and diagnostic peptides. Drug Discovery Today: Technologies 9:3-11.
Mosavi LK, Cammett TJ, Desrosiers DC, Peng Zy (2004) The ankyrin repeat as molecular architecture for protein recognition. Protein Science 13:1435-1448.
Mross K, Richly H, Fischer R, Scharr D, Büchert M, Stern A, Gille H, Audoly LP, Scheulen ME (2013) First-in-human phase I study of PRS-050 (Angiocal), an Anticalin targeting and antagonizing VEGF-A, in patients with advanced solid tumors. PLoS One 8:83232.
Murali R, Greene MI (2012) Structure based antibody-like peptidomimetics. Pharmaceuticals 5:209-235.
Myers JK, Oas TG (2001) Preorganized secondary structure as an important determinant of fast protein folding. Nature Structural Molecular Biology 8:552-558.
Nelson AL (2010) Antibody fragments: hope and hype. MAbs 2:77-83.
Nielsen BB, Kastrup JS, Rasmussen H, Holtet TL, Graversen JH, Etzerodt M, Thøgersen HC, Larsen IK (1997) Crystal structure of tetranectin, a trimeric plasminogen-binding protein with an α-helical coiled coil. FEBS Letters 412:388-396.
Nilsson B, Moks T, Jansson B, Abrahmsen L, Elmblad A, Holmgren E, Henrichson C, Jones TA, Uhlen M (1987) A synthetic IgG-binding domain based on staphylococcal protein A. Protein Engineering, Design and Selection 1:107-113.
Nord K, Gunneriusson E, Uhlén M, Nygren P-Å (2000) Ligands selected from combinatorial libraries of protein A for use in affinity capture of apolipoprotein A-1M and taq DNA polymerase. Journal of Biotechnology 80:45-54.
North C L, Blacklow S C (1999) Structural independence of ligand-binding modules five and six of the LDL receptor. Biochemistry 38:3926-3935.
Nygren PÅ (2008) Alternative binding proteins: Affibody binding proteins developed from a small three-helix bundle scaffold. The FEBS Journal 275:2668-2676.
Parizek P, Kummer L, Rube P, Prinz A, Herberg FW, Plückthun A (2012) Designed ankyrin repeat proteins (DARPins) as novel isoform-specific intracellular inhibitors of c-Jun N-terminal kinases. ACS Chemical Biology 7:1356-1366.
Paul LM, Carlin ER, Jenkins MM, Tan AL, Barcellona CM, Nicholson CO, Michael SF, Isern S (2016) Dengue virus antibodies enhance Zika virus infection. Clinical Translational Immunology 5:117.
Pecqueur L, Duellberg C, Dreier B, Jiang Q, Wang C, Plückthun A, Surrey T, Gigant B, Knossow M (2012) A designed ankyrin repeat protein selected to bind to tubulin caps the microtubule plus end. Proceedings of the National Academy of Sciences 109:12011-12016.
Phelan ML, Nock S (2003) Generation of bioreagents for protein chips. Proteomics 3:2123-2134.
Plückthun A (2015) Designed ankyrin repeat proteins (DARPins): binding proteins for research, diagnostics, and therapy. Annual Review of Pharmacology and Toxicology 55:489-511.
Qi H, Lu H, Qiu H-J, Petrenko V, Liu A (2012) Phagemid vectors for phage display: properties, characteristics and construction. Journal of Molecular Biology 417:129-143.
Rakonjac J, Bennett N J, Spagnuolo J, Gagic D, Russel M (2011) Filamentous bacteriophage: biology, phage display and nanotechnology applications. Current Issues in Molecular Biology 13:51.
Reichen C, Hansen S, Plückthun A (2014) Modular peptide binding: from a comparison of natural binders to designed armadillo repeat proteins. Journal of Structural Biology 185:147-162.
Reichen C, Madhurantakam C, Plückthun A, Mittl P R (2014) Crystal structures of designed armadillo repeat

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

proteins: implications of construct design and crystallization conditions on overall structure. Protein Science 23:1572-1583.
Reichert JM (2017) Antibodies to watch in 2017. MAbs 9:167-181.
Reichert J M, Beck A, Lugovskoy A A, Wurch T, Coats S, Brezski R J (2014) 9th Annual European Antibody Congress. Geneva, Switzerland 309-326.
Renberg B, Nordin J, Merca A, Uhlén M, Feldwisch J, Nygren P-Å, Eriksson Karlström A (2007) Affibody molecules in protein capture microarrays: evaluation of multidomain ligands and different detection formats. Journal of Proteome Research 6:171-179.
Renders L, Budde K, Rosenberger C, van Swelm R, Swinkels D, Dellanna F, Feuerer W, Wen M, Erley C, Bader B (2019) First-in-human Phase I studies of PRS-080# 22, a hepcidin antagonist, in healthy volunteers and patients with chronic kidney disease undergoing hemodialysis. PLoS One 14:0212023.
Roberts B L, Markland W, Ley A C, Kent R B, White D W, Guterman S K, Ladner R C (1992) Directed evolution of a protein: selection of potent neutrophil elastase inhibitors displayed on M13 fusion phage. Proceedings of the National Academy of Sciences 89:2429-2433.
Rodon J, Omlin A, Herbschleb K H, Garcia-Corbacho J, Steiner J, Dolado I, Zitt C, Feurstein D, Turner D, Dawson K M (2015) Abstract B25: First-in-human Phase I study to evaluate MP0250, a DARPin blocking HGF and VEGF, in patients with advanced solid tumors. In: Proceedings of the AACR-NCI-EORTC International Conference: Molecular Targets and Cancer Therapeutics. USA, Boston, MA. Philadelphia.
Rohn J, (2010) Anaphore: this protein engineering firm claims its therapies, modeled on the naturally secreted human serum protein tetranectin, could compete with antibodies. Nature Biotechnology 28:1143-1144.
Romero P A, Arnold F H (2009) Exploring protein fitness landscapes by directed evolution. Nature Reviews Molecular Cell Biology 10:866-876.
Rothe C, Skerra A (2018) Anticalin® proteins as therapeutic agents in human diseases. BioDrugs 32:233-243.
Salmanian T N, Gholizadeh A, Baghban K B (2018) Designing, docking and heterologous expression of an anti-HER2 affibody molecule. The Ukrainian Biochemical Journal 90:68-76.
Schiff D, Kesari S, de Groot J, Mikkelsen T, Drappatz J, Coyle T, Fichtel L, Silver B, Walters I, Reardon D (2015) Phase 2 study of CT-322, a targeted biologic inhibitor of VEGFR-2 based on a domain of human fibronectin, in recurrent glioblastoma. Investigational New Drugs 33:247-253.
Schlatter D, Brack S, Banner D W, Batey S, Benz J, Bertschinger J, Huber W, Joseph C, Rufer A C, van der Klooster A (2012) Generation, characterization and structural data of chymase binding proteins based on the human Fyn kinase SH3 domain. MAbs 4:497-508.
Schmidt A E, Chand H S, Cascio D, Kisiel W, Bajaj S P (2005) Crystal structure of kunitz domain 1 (KD1) of tissue factor pathway inhibitor-2 in complex with trypsin implications for KD1 specificity of inhibition. Journal of Biological Chemistry 280:27832-27838.
Schmidtko A, Lötsch J, Freynhagen R, Geisslinger G (2010) Ziconotide for treatment of severe chronic pain. The Lancet 375:1569-1577.
Schönfeld D, Matschiner G, Chatwell L, Trentmann S, Gille H, Hülsmeyer M, Brown N, Kaye P, Schlehuber S, Hohlbaum A (2009) An engineered lipocalin specific for CTLA-4 reveals a combining site with structural and conformational features similar to antibodies. Proceedings of the National Academy of Sciences 106:8198-8203.
Schroeder T, Barandun J, Flütsch A, Briand C, Mittl PR, Grütter MG (2013) Specific inhibition of caspase-3 by a competitive DARPin: molecular mimicry between native and designed inhibitors. Structure 21:277-289.
Screaton G, Mongkolsapaya J, Yacoub S, Roberts C (2015) New insights into the immunopathology and control of dengue virus infection. Nature Reviews Immunology 15:745.
Sedgwick SG, Smerdon SJ (1999) The ankyrin repeat: a diversity of interactions on a common structural framework. Trends in Biochemical Sciences 24:311-316.
Sehnal D, Rose A, Koča J, Burley S, Velankar S (2018) Mol*: towards a common library and tools for web molecular graphics. Paper presented at the MolVa: Workshop on Molecular Graphics and Visual Analysis of Molecular Data, Brno, Czech Republic. Eurographics Proceedings 29-33.
Shah DK, Betts AM (2013) Antibody biodistribution coefficients: inferring tissue concentrations of monoclonal antibodies based on the plasma concentrations in several preclinical species and human. MAbs 5:297-305.
Silacci M, Lembke W, Woods R, Attinger-Toller I, Baenziger-Tobler N, Batey S, Santimaria R, von der Bey U, Koenig-Friedrich S, Zha W (2016) Discovery and characterization of COVA322, a clinical-stage bispecific TNF/IL-17A inhibitor for the treatment of inflammatory diseases. MAbs 8:141-149.
Silverman J, Lu Q, Bakker A, To W, Duguay A, Alba BM, Smith R, Rivas A, Li P, Le H (2005) Multivalent avimer proteins evolved by exon shuffling of a family of human receptor domains. Nature Biotechnology 23:1556-1561.
Simeon R, Chen Z (2018) In vitro-engineered non-antibody protein therapeutics. Protein Cell 9:3-14.
Skerra A (2000) Engineered protein scaffolds for molecular recognition. Journal of Molecular Recognition 13:167-187.
Skerra A (2001) 'Anticalins': a new class of engineered ligand-binding proteins with antibody-like properties. Reviews in Molecular Biotechnology 74:257-275.
Skerra A (2007) Alternative non-antibody scaffolds for molecular recognition. Current Opinion in Biotechnology 18:295-304.
Škrlec K, Štrukelj B, Berlec A (2015) Non-immunoglobulin scaffolds: a focus on their targets. Trends in Biotechnology 33:408-418.
Smith R, Duguay A, Bakker A, Li P, Weiszmann J, Thomas M R, Alba B M, Wu X, Gupte J, Yang L (2013) FGF21 can be mimicked in vitro and in vivo by a novel

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]

anti-FGFR1c/β-Klotho bispecific protein. PLOS One 8:1-11.
Souied EH, Devin F, Mauget-Faÿsse M, Kolář P, Wolf-Schnurrbusch U, Framme C, Gaucher D, Querques G, Stumpp MT, Wolf S (2014) Treatment of exudative age-related macular degeneration with a designed ankyrin repeat protein that binds vascular endothelial growth factor: a phase I/II study. American Journal of Ophthalmology 158:724-732.
Stadler LKJ, Hoffmann T, Tomlinson DC, Song Q, Lee T, Busby M, Nyathi Y, Gendra E, Tiede C, Flanagan K (2011) Structure− function studies of an engineered scaffold protein derived from Stefin A. II: Development and applications of the SQT variant. Protein Engineering, Design Selection 24:751-763.
Stein EA, Kasichayanula S, Turner T, Kranz T, Arumugam U, Biernat L, Lee J (2014) LDL cholesterol reduction with BMS-962476, an adnectin inhibitor of PCSK9: results of a single ascending dose study. Journal of the American College of Cardiology 63:172.
Strebhardt K, Ullrich A (2008) Paul Ehrlich's magic bullet concept: 100 years of progress. Nature Reviews Cancer 8:473-480.
Tam JP, Wang S, Wong KH, Tan WL (2015) Antimicrobial peptides from plants. Pharmaceuticals 8:711-757.
Tans R, van Rijswijck DM, Davidson A, Hannam R, Ricketts B, Tack CJ, Wessels HJ, Gloerich J, van Gool AJ (2020) Affimers as an alternative to antibodies for protein biomarker enrichment. Protein Expression and Purification 174:1-9.
Tewari R, Bailes E, Bunting KA, Coates JC (2010) Armadillo-repeat protein functions: questions for little creatures. Trends in Cell Biology 20:470-481.
Thell K, Hellinger R, Sahin E, Michenthaler P, Gold-Binder M, Haider T, Kuttke M, Liutkevičiūtė Z, Göransson U, Gründemann C (2016) Oral activity of a nature-derived cyclic peptide for the treatment of multiple sclerosis. Proceedings of the National Academy of Sciences 113:3960-3965.
Tiede C, Bedford R, Heseltine SJ, Smith G, Wijetunga I, Ross R, AlQallaf D, Roberts AP, Balls A, Curd A (2017) Affimer proteins are versatile and renewable affinity reagents. Elife 6:1-35.
Tiede C, Tang AA, Deacon SE, Mandal U, Nettleship JE, Owen RL, George SE, Harrison DJ, Owens RJ, Tomlinson D C (2014) Adhiron: a stable and versatile peptide display scaffold for molecular recognition applications. Protein Engineering, Design and Selection 27:145-155.
Tolcher AW, Sweeney CJ, Papadopoulos K, Patnaik A, Chiorean EG, Mita AC, Sankhala K, Furfine E, Gokemeijer J, Iacono L (2011) Phase I and pharmacokinetic study of CT-322 (BMS-844203), a targeted Adnectin inhibitor of VEGFR-2 based on a domain of human fibronectin. Clinical Cancer Research 17:363-371.
Varadamsetty G, Tremmel D, Hansen S, Parmeggiani F, Plückthun A (2012) Designed Armadillo repeat proteins: library generation, characterization and selection of peptide binders with high specificity. Journal of Molecular Biology 424:68-87.
Vazquez-Lombardi R, Phan TG, Zimmermann C, Lowe D, Jermutus L, Christ D (2015) Challenges and opportunities for non-antibody scaffold drugs. Drug Discovery Today 20:1271-1283.
Veiseh M, Gabikian P, Bahrami S-B, Veiseh O, Zhang M, Hackman R C, Ravanpay A C, Stroud M R, Kusuma Y, Hansen SJ (2007) Tumor paint: a chlorotoxin: Cy5. 5 bioconjugate for intraoperative visualization of cancer foci. Cancer Research 67:6882-6888.
Walker RG, Willingham AT, Zuker CS (2000) A Drosophila mechanosensory transduction channel. Science 287:2229-2234.
Weidle UH, Auer J, Brinkmann U, Georges G, Tiefenthaler G (2013) The emerging role of new protein scaffold-based agents for treatment of cancer. Cancer Genomics-Proteomics 10:155-168.
Yu X, Yang Y-P, Dikici E, Deo SK, Daunert S (2017) Beyond antibodies as binding partners: the role of antibody mimetics in bioanalysis. Annual Review of Analytical Chemistry 10:293-320.
Zelensky AN, Gready JE (2005) The C-type lectin-like domain superfamily. The FEBS Journal 272(24):6179-6217.
Zoller F, Haberkorn U, Mier W (2011) Miniproteins as phage display-scaffolds for clinical applications. Molecules 16:2467-2485.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-20]