APTAMERS AND THEIR APPLICATIONS IN BIOLOGY AND BIOMEDICINE

Imanbekova M.K. [1], Stybayeva G.S. [1,2], Revzin A. [2], Zholdybaeva E.V. [1]

[1]National Center for Biotechnology,
13/5, Korgalzhyn road, Astana,010000, Kazakhstan
[2]Department of Physiology and Biomedical Engineering, Mayo Clinic,
200 1st Street SW, St-11-14, Rochester, MN, 55905
meruert.iman@gmail.com

ABSTRACT

Aptamers are synthetic nucleic acids developed to bind specific targets, such as amino acids, drugs, proteins, and other molecules. In nature, aptamers exist as riboswitches, which are genetic regulatory elements. Aptamers can be generated using a method called SELEX, an iterative process of adsorption, separation, and amplification, followed by sequencing of a specific oligonucleotide. The entire SELEX process takes between a week to a month to complete and consists of 8–20 rounds. Aptamers are an excellent alternative to monoclonal antibodies, which are expensive and immunogenic. Advantages that aptamers offer over antibodies include stability, low cost, lack of toxicity and immunogenicity, minimized batch-to-batch variation, and the ability to develop them against a variety of targets. The ease in which aptamers can be synthesised and modified allow for the creation and application of aptamers for use in various fields of biology and medicine, including diagnostics, targeted drug delivery, discovery of new biomarkers, biovisualization, and molecular therapy.

Keywords: aptamer, SELEX, aptasensors, diagnostics, targeted delivery, bioimaging.

УДК 577

АПТАМЕРЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В БИОЛОГИИ И БИОМЕДИЦИНЕ

Иманбекова М.К.[1], Стыбаева Г.С.[1,2], Ревзин А.[2], Жолдыбаева Е.В.[1]

[1]Национальный центр биотехнологии,
Кургальжинское шоссе, 13/5, Астана, 010000, Казахстан
[2]Кафедра физиологии и биомедицинской инженерии, Клиника Майо,
Рочестер, Миннесота, 55905
meruert.iman@gmail.com

АБСТРАКТ

Аптамеры– это синтетические молекулы нуклеиновых кислот, разработанные к определенным мишеням, таким как аминокислоты, лекарственные средства, протеины и другие молекулы. В природе они существуют в качестве рибопереключателей, генетических регуляторных элементов. Для создания аптамеров существует метод, названный SELEX, который представляет собой повторяющийся процесс адсорбции, разделения и амплификации, с последующим секвенированием специфичного олигонуклеотида. Весь процесс SELEX занимает от недели до месяца и состоит из 8-20 раундов. Аптамеры являются отличной альтернативой моноклональным антителам, которые обладают высокой иммуногенностью и себестоимостью. По сравнению с антителами аптамеры имеют несколько очевидных преимуществ,таких как стабильность, низкая себестоимость, отсутствие токсичности и иммуногенности, возможность их создания к практически любой целевой молекуле и равномерная активность независимо от серии синтеза. Простота синтеза и модификаций позволяет создавать и применять аптамеры в различных областях биологии и медицины, таких как диагностика, адресная доставка лекарственных средств, поиск новых биомаркеров, биовизуализация и молекулярная терапия.

Ключевые слова: аптамер, SELEX, аптасенсоры, диагностика, целенаправленная доставка, биовизуализация.

ВВЕДЕНИЕ

Аптамеры–это синтетические олигонуклеотиды, такие как одноцепочечная ДНК (ssDNA) и РНК (обычно размером 20-80 нуклеотидов, молекулярной массой 6-30 кДА), которые связываются с антигеном или молекулой-мишенью с высокой чувствительностью и специфичностью путем образования трехмерной структуры [1,2] (рис.1). Слово аптамер образовано из двух латинских слов *aptus,* которое означает «*соответствовать»,* и *meros,* которое переводится как*«часть региона»*. В большинстве случаев разработка аптамеров происходит методом, названным SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment), впервые описанным 27 летназад. Идея о связывании нуклеиновых кислот, будь то ДНК или РНК, со специфичной молекулой-мишенью, возникла в 80-х годах прошлого столетия в результате исследования вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) и аденовирусов. Данные вирусы кодируют небольшие структурированные РНК, которые связываются с вирусными или клеточными протеинами, тем самым способствуют вирусной репликации или смягчают антивирусную активность организма-хозяина. В 1990 году две исследовательские группы – группа Голда и группа Шостака, впервые сообщили об аптамерах независимо друг от друга. В лаборатории Голда были разработаны РНК лиганды к Т4 ДНК-полимеразе. Группа ученых под руководством Шостака разработали РНК лиганды к различным органическим красителям. Обе группы использовали метод SELEX[1,3,4].С того самого времениSELEX является основным методом для создания аптамеров. Также методы, такие как атомно-силовая микроскопия, анализ сдвига электрофоретической активности, и поверхностный плазмонный резонанс, были использованы одновременно с SELEX технологией [5, 6, 7].

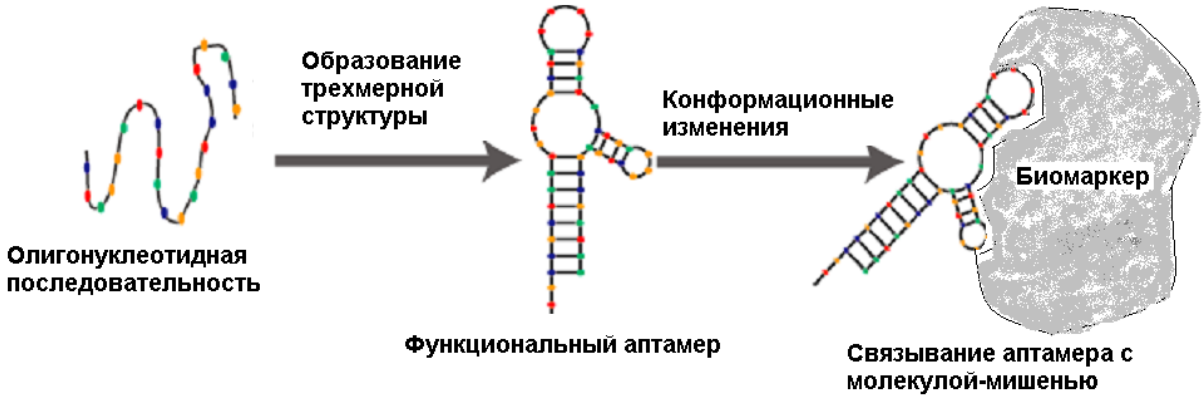

Рис. 1. Схематическая диаграмма формирования комплекса аптамера с молекулой-мишенью

Fig. 1. Schematic diagram of the formation of the aptamer – target complex

На сегодняшний день существуют специфичные аптамеры к различным таргетным молекулам, небольшим неорганическим ионам, лекарствам и наркотикам, органическим пептидам, белкам, клеткам и даже к тканям.

Аптамеры являются отличной альтернативой моноклональным антителам, которые обладают высокой иммуногенностью и себестоимостью. По сравнению с антителами аптамеры имеют несколько очевидных преимуществ ввиду их небольших размеров и характеристик, присущих нуклеиновым кислотам, что может улучшить их клиническое применение и использование в индустриализации (таблица 1). Аптамеры не иммуногены и не токсичны invivo, это объясняется тем, что аптамеры не распознаются иммунной системой напрямую. Также аптамеры, по сравнению с антителами, не имеют Fc фрагмента иммуноглобулина, которые могут присоединиться к Fc рецепторам и привести к непредвиденным побочным эффектам. Аптамеры, благодаря их небольшим размерам, могут проникать через тканевые барьеры и связываться с целевыми клетками. Они термически стабильны и могут легко транспортироваться и храниться. Кроме того, аптамеры могут быть изготовлены и подвержены различным модификациям, с минимальными изменениями активности от серии к серии и в небольшой промежуток времени (часы)[9].

Таблица 1. Сравнение свойств аптамеров и антител [3]

Table 1. Comparison of the properties of aptamers and antibodies [3]

Аптамеры	Антитела
Высокая аффинность в диапазоне от наномолей до пикомолей	Высокая аффинность в диапазоне от наномолей до пикомолей
Процесс селекции – химический процесс, происходящий *invitro*,и следовательно, молекулой-мишенью может быть любое вещество	Селекция происходит в биологической системе, поэтому к таким целевым молекулам как токсины или неимуногенные мишени получить антитела невозможно
Могут быть подобраны для лигандов в различных условиях для диагностики *in vitro*	Лимитированы до физиологических условий при оптимизации антител для диагностики
Итерационные раунды в присутствии молекулы-мишени лимитируют процесс скрининга	Использование скрининг-антител– трудоемкий и дорогостоящий процесс
Равномерная активность независимо от серии синтеза	Активность антител варьируется от серии к серии
Фармакокинетические свойства могут быть изменены по требованию	Сложно модифицировать существующие фармакокинетические параметры
Исследователь определяет целевой сайт белка	Иммунная система определяет целевой сайт белка
Возможны различные химические модификации молекул аптамера для разнообразия его функций	Ограниченная модификация молекул антител
Возвращается к первоначальной конформации после температурных изменений	Чувствительны к температурным изменениям и подвергаются необратимой денатурации
Неограниченный срок годности	Ограниченный срок годности
Нет данных по иммуногенности	Значительная иммуногенность

Благодаря данным химическим, физическим и биологическим свойствам, аптамеры нашли широкое применение. По состоянию на июнь 2017 года в базе данных PubMedболее 6800 статей, содержащих термин «аптамер». В 2004 году Управление по санитарному надзору за качеством продуктов и медикаментов (FDA) одобрило использование Макугена, препарата, в состав которого входит аптамер, специфичный к фактору роста эндотелия сосудов, для лечения неоваскулярной (влажной) формы возрастной макулодегенерации.

В основном аптамеры используют в качестве биосенсоров (аптасенсоров), где они функционируюкак зонд молекулярного распознавания для детекции молекул-мишеней, в качестве зондов для биоимиджинга, при таргетной диагностике, генной терапии. Кроме того, такие наноматериалы как золотые наночастицы, ДНК гидрогели, карбоновые нанотрубки и квантовые точки были использованы в комбинации с аптамерами для создания новых биодиагностических инструментов.

В данном обзоре будут освещены последние достижения и применение аптамеров в биологии и биомедицине.

SELEX

Метод SELEX (systemicevolutionofligandsbyexponentialenrichment) – это золотой стандарт в создании специфичных аптамеров. Традиционный процесс SELEX включает в себя несколько раундов экспоненциальной амплификации и обогащения, которые позволяют получать высокоспецифичные к целевым молекулам аптамеры из случайного олигонуклеотидного пула. SELEX обычно состоит из нескольких повторяющихся шагов (рис.2): а) подготовка олигонуклеотидного пула: дизайн и химический синтез 10^{14}-10^{15} случайных последовательностей одноцепочечной ДНК или РНК. Каждая уникальная последовательность включает в себя случайные олигонуклеотиды (30-50 п.н.), заключенные между известной парой праймеров; б) инкубация: случайные последовательности ДНК или РНК претерпевают конформационные изменения и инкубируются при оптимальных условиях с молекулой-мишенью с образованием комплекса аптамер-молекула-мишень; в) разделение: несвязавшиеся последовательности отделяются от тех, что связались с целевой молекулой различными методами, такими как капиллярный электрофорез, магнитные шарики, аффинная хроматография, мембранная фильтрация; г) амплификация: специфичныек целевой молекуле аптамерыамплифицируются ПЦР (ДНК аптамеры) и методом ПЦР в режиме реального времени (РНК аптамеры), продукты реакции затем используются как суб-пул олигонуклеотидов для следующего раунда селекции; д)

секвенирование: обогащенные последовательности аптамера идентифицируют методом классического секвенирования по Сенгеру или методом высокопроизводительного секвенирования. Специфичные аптамеры могут быть получены после 8-20 раундов селекции. Весь процесс SELEX занимает от недели до месяца [2,9,10].

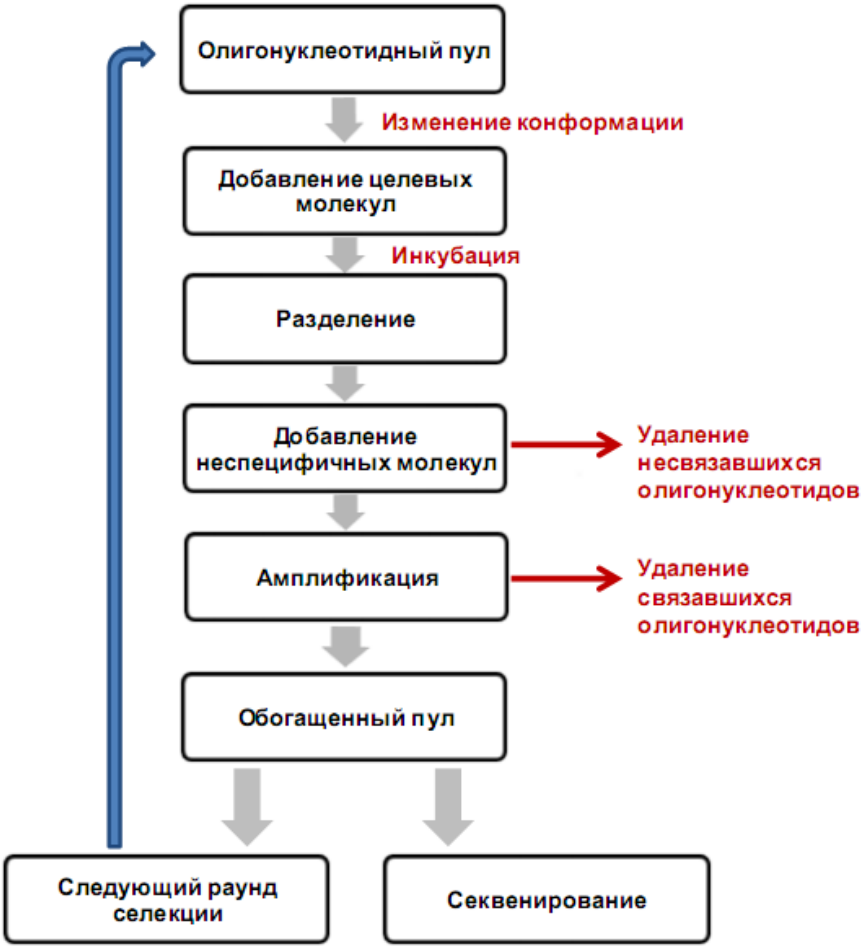

Рис. 2. Схематическое описание SELEXпроцесса

Fig. 2. SchematicdescriptionofSELEXprocess

Различные виды процесса SELEX представлены в таблице 2.

Таблица 2.Виды SELEX [11]

Table 2. Types of SELEX [11]

№	Метод SELEXи год открытия	Описание SELEX	Ссылка
1	НегативныйSELEX – начало (1990)	Наиболее простой вид селекции, в которой специфичность к нужной мишени достигается за счет инкубации библиотеки аптамеров с матрицей для отбора (мембраной). Данный вид SELEX используется для получения аптамеров к белковым мишеням	Ellington and Szoctak, 1990, 1992; Tuerk and Gold, 1990
2	Субстрактивный – SELEX (1994)	Аптамеры инкубируют с близкородственными целевыми молекулами. Это приводит к устранению	Jenisonetal., 1994

		перекрестно-активных видов и тем самым повышает специфичность аптамеров	
3	Photoselexгеномный SELEX	Олигонуклеотидная библиотека модифицирована добавлением светочувствительными нуклеотидами 5-бромо-2'-деоксиуридином и при возбуждении УФ модифицированные аптамеры формируют ковалентные связи с серосодержащими и ароматическими аминокислотами целевого протеина, что повышает силу взаимодействия аптамера и молекулы мишени	Jensen et al., 1995
4	Геномный SELEX (1997)	SELEX библиотека создается из геномной ДНК организма и позволяет идентифицировать в геномной ДНК лиганды, к которым присоединяются факторы транскрипции	Singer et al., 1997
5	*In vivo* SELEX (1997)	Метод *invivo* эволюции аптамера	Coulteretal., 1997
6	Химерный SELEX	Полученные данным методом аптамеры обладают двойной функцией и присоединяются к двум различным молекулам мишеням независимо друг от друга	Burke and Willis, 1998
7	Сдвиг электрофоретической подвижности (EMSA)-Selex (1998)	В EMSA-SELEXаптамеры отбираются на основе их способности формировать комплекс с протеинами с последующим замедлением электрофоретической подвижности. Данный метод SELEXиспользуется для селекции аптамеров только для протеиновых молекул-мишеней	TsaiandReed, 1998
8	Многоступенчатый SELEX (1999)	Этот вариант SELEX является модифицированной версией Химерного SELEX и позволяет создать аптамеры с аллостерической активностью	WuandCurran, 1999
9	Cell-SELEX(1999)	В Cell-SELEX целые живые клетки (эукариотические/прокариотические) могут быть использованы для создания аптамеров к различным протеинам клеточной мембраны и другим макромолекулам. Данный подход применяется в поиске новых биомаркеров	HomanandGoringer, 1999
10	Непрямой SELEX (2000)	Данный вид SELEX позволяет создать высокоспецифичныеаптамеры к целевой молекуле в присутствии определенных ионов металла	Kawakami et al., 2000
11	Toggle SELEX (2001)	Аптамеры обладают перекрестной реактивностью по отношению к целевой молекуле (тромбин) двух разных видов, отобранные аптамеры имеют широкую специфичность и чувствительность	Whiteatal., 2001
12	Expression casset SELEX(2002)	Аптамеры, полученные традиционным методом, вставляют в подходящий вектор для специфичной ингибиторной активности	Martel et al., 2002
13	Sage SELEX (2002)	Для идентификации специфичных аптамеров из больших олигогуклеотидных библиотек	Roulet at al., 2002
14	Tailored-SELEX (2002)	Селекция аптамеров проводится без использования последовательностей праймеров. Этот подход используется для отбора аптамеров с короткой	Vater at al., 2002

		нуклеотидной последовательностью до 10 нуклеотидов	
15	SPR (поверхностный плазмонный резонанс) SELEX (2003)	Молекулу-мишень иммобилизуют на SPR чипе, после чего вводится олигонуклеотидная последовательность. SPRметод позволяет проводить мониторинг кинетики связывания и в результате получить высокоаффинныеаптамеры	Khatietal., 2003
16	Capillary elechtrophoresis SELEX (2004)	Данный подход позволяет проводить селекцию аптамеров, основанную на связывании в растворе. Аптамеры могут быть получены за несколько раундов селекции, обычно 3-4 раунда с получением высокоспецифичных аптамеров	MendonsaandBowser, 2004
17	Primer-free Genomic SELEX (2004)	Селекцию аптамеров проводят без использования праймеров в ДНК библиотеке, для устранения интерференции мишени с доменом связывания праймера	Wen and Gray, 2004
18	FluMag-SELEX (2005)	Одноцепочечная ДНК в библиотеке олигонуклеотидной последовательности помечена флуоресцеином для мониторинга таргет-специфичной селекции. Данный подход используется для получения аптамеров к небольшим молекулам	Stoltenburgetal., 2005
19	Target Expressed on Cell Surface-SELEX (TECS-SELEX) (2006)	В TECS-SELEX в качестве позитивной селекции используется молекула-мишень, которая экспрессируется на клеточной поверхности	Ohuchietal., 2006
20	Non-Selex/Non-Equilibrium Capillary Electrophoresis of Equilibrium Mixtures (NECEEM) (NECEEM, 2006)	Один из быстрых путей идентификации специфичных аптамеров. Аптамер может быть получен за один день благодаря неравновесному связыванию и отсутствию этапа амплификации	(Berezovskietal., 2006)
21	NanoSelection (2007)	Данный подход является комбинацией двух разных технологий флуоресцентной микроскопии и атомно-силовой микроскопии для специфичной селекции аптамеров из небольшого пула олигонуклеотидов	Pengetal., 2007
22	MonoLex (2007)	MonoLex – это одноступенчатая селекция аптамеров на основе фракционирования в колонне и пиросеквенирования	Nitscheetal., 2007
23	Massive parallel SELEX (2009)	Данный подход основан на технологии массивного параллельного секвенирования, с помощью которого определяются сайты связывания молекулы-мишени с аптамером	Zykovich et al., 2009
24	Microfluidic SELEX (2010)	MicrofluidicSELEXпроисходит в автоматизированном микрофлюидном девайсе, работа которого основана на комбинации магнитных шариков и микрофлюидной транспортной системы. Обычно специфичный аптамер получают за несколько раундов селекции (3-5 раундов)	Huangetal., 2010
25	SOMAmer SELEX (Slow Off rate modified Aptamer) (2010)	В данном виде SELEX к нуклеотидам присоединяют протеиноподобные боковые цепи, которые позволяют превалировать гидрофобным связям в присутствии	Gold et al., 2010

		полианионной молекулы-конкурента, в результате чего получаются аптамеры с низкой скоростью реакции	
26	High-throughput SELEX (2011)	Основан на объединении метода высокопроизводительного ДНК секвенирования и биоинформатического анализа для поиска высокоспецифичных аптамеров	Hoonetal., 2011
27	MAISELEX (Multivalent aptamer isolation) (2012)	MAISELEXэффективен при идентификации неконкурирующей пары аптамеров специфичной к двум отдельным сайтам на молекуле-мишени	Gongetal., 2012
28	Quantitative Parallel aptamer Selection (2013)	Данный подход объединяетмикрофлюидные технологии, секвенирование следующего поколения и in-situсинтезированныеаптамеры, позволяя тем самым одновременно измерять чувствительность и специфичность тысячи молекул аптамеров	Choetal., 2013
29	Particle Display SELEX (2014)	SELEXтехнология с использованием эмульсии типа «вода в масле». Каждая эмульсионная капля содержит молекулу аптамера. Разделение аптамеров, специфично связавшихся с целевой молекулой, происходит посредством проточной цитометрии	WangJ. etal., 2014
30	Ligand-Guided SELEX (2016)	Этот вид отбора аптамеров используется для идентификации аптамеров, специфичных к мембранным протеинам клетки, и основан на применении таргет-специфичных антител для отбора аптамеров	Zumrutetal., 2016

АПТАСЕНСОРЫ

Биосенсор – это аналитическое устройство для детекции аналита. Биосенсор состоит из двух частей: рецептора, функционирующего в качестве элемента молекулярного распознавания, который подаёт сигнал после присоединения к таргетной молекуле; и преобразователя или биотрансдьюсера, который конвертирует сигнал,полученный от рецетора и пребразует его в детектируемую форму. Биосенсоры на основе аптамеров называют аптасенсорами. На сегодняшний день разработаны различные виды аптасеносоров: оптические, электрохимические и масс-слективные аптасенсоры. Существуют аптасенсоры для детекции различных протеинов, небольших молекул, внутриклеточных аналитов, бактериальных и вирусных патогенов, клеток и тканей. Оптические аптасенсоры получили наибольшое распространение ввиду их сравнительно высокой чувствительности, быстроты ответа и простоты использования. Оптические аптасенсоры основываются на различных принципах анализа – колориметрии, флуоресценции, хемилюменисценции, поверхностно-плазмонного резонанса (SPR), комбинационного рассеяния света, динамического рассеяния света, элипсометрии.

В настоящее время существуют аптасенсоры для детекции небольших молекул (<900 г/моль), таких как, АТФ, аденозин, кокаин, дофамин, НАДФ, охратоксин А, теофиллин, флавинмононуклеотид, тирозинамид, канамицин, окситетрациклин, глюкоза, бисфенол А, афлатоксин В1,бензилпенициллини др.[12-18].Следует отметить, что детекция данных небольших молекул (<900 г/моль) является актуальной проблемой в ряде отраслей промышленности, таких как фармацевтическая или медицинская отрасль, требующая быстрые и чувствительные сенсоры для детекции небольших молекул, таких как молекулярные маркеры заболеваний, лекарства, или ионы металлов, для мониторинга здоровья людей и животных. В сельском хозяйстве, для обеспечения безопасности продуктов питания, необходимы биосенсоры, определяющие уровень микотоксинов и тяжелых металлов.

ParkJ.H. и коллеги разработали высокочувствительный аптасенсор для детекции небольших молекул, в частности охратоксина А, афлатоксина В1, аденозин трифосфата и ионов калия, на основе метода локализованного плазмонного резонанса (LSPR, нужно раскрыть аббревиатуру на английском) с использованием G-квадруплексов (тиазола, малахитовый зеленый, кристаллический фиолетовый, цинк-протопорфирин IX, тиофлавин T и берберин) для усиления сигнала LSPR [19].

Электрохимические аптасенсоры в свою очередь обладают большей степенью чувствительности и стабильности сигнала, а также простотой калибровки по сравнению с оптическими аптасенсорами [20,21]. Сегодня существуют электрохимические биосенсоры на основе аптамеров для обнаружения рецептора эпидермального фактора роста 2 человека (HER2), С-реактивного белка, фактора некроза опухоли-α (ФНО-α), пероксида водорода (H_2O_2), трансформирующего ростового фактора бета(TGF-β), экзосом и других биомаркеров социально-значимых заболеваний[22-27].

MalvanoF. и коллеги разработали электрохимический аптасенсор для детекции глютена в пищевых продуктах, с целью обеспечения безопасности пищевых продуктов для пациентов с целиакией. Полученный аптасенор показал высокую чувствительность и специфичность к глиадину, сопоставимую с результатами официально рекомендованного метода R5 ELISA [28].

Масс-слективные высокочувствительные (лимит детекции до 50 пМ) и специфичные биосенсоры с использованием аптамеров в качестве молекулы распознавания получены для детекции иммуноглобулина Е, хорионического гонадотропина и белка в моче [29, 30, 31]. Работа вышеперечисленных аптасенсоров основана на методе кварцевого кристаллического микробаланса (QCM),где при обнаружении аналита наблюдался сдвиг частот QCM.

АПТАМЕРЫ КАК ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ

В 80-х годах прошлого столетия было обнаружено, что ВИЧ и аденовирусы содержат несколько небольших молекул РНК, которые могут специфично присоединяться к вирусным или клеточным протеинам с высокой чувствительностью, и ингибировать вирусную репликацию. Впоследствиибыло показано, что такое взаимодействие вирусной РНК и протеинов может быть использовано в качестве антивирусной терапии [32-35]. С развитием технологии SELEXбыли разработаны аптамеры для определения важных в клинике целевых молекул, таких как Фактор фон Виллебранда (VWF), фатор роста тромбоцитов(PDGF), тенасцин-С, простат-специфический антиген (PSMA) и другие [36-38]. Разработаны аптамеры для терапевтического применения при диагностике и лечении сердечно-сосудистых ионкозаболеваний, диабета, инфекционных заболеваний.

Аптамеры и инфекционные заболевания

Инфекционные заболевания, возникающие в результате вирусной, бактериальной инвазии или проникновения в организм человека протозойных агентов, являются главной причиной патогенеза и смертности, превосходя сердечно-сосудистые заболевания и рак как в развитых странах, так и в развивающихся. Данный факт приводит к необходимости искать новые методы быстрой и надежной диагностики и лечения.

Противовирусные аптамеры

Проникновение ВИЧ-1 инфекции в организм хозяина происходит в несколько этапов: мембранный гликопротеин gp120 присоединяется к CD4 рецептору на поверхности клетки-хозяина, что в свою очередь блокирует взаимодействие с альтернативными корецепторами CCR5 и CXCR4. Далее вирусная и клеточная мембраны сливаются и вирусная РНК проникает в клетку. Поэтому протеин gp120 является перспективной мишенью для разработки вирус-ингибирующих аптамеров. B40– это РНК аптамер, который специфично связывается с вирусным штаммомBaL[39]. B40 эффективно ингибирует различные виды ВИЧ-1 инфекции в культуре мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) путем блокирования консервативных аминокислот в месте присоединения gp120 к N-концу CCR5 корецептора. Кроме того, исследования показали, что при максимальной концентрации 2μM B40 не оказывает цитотоксического эффекта на кардиомиоциты и PBMC[40].

Геммаглютенин (HA) играет ключевую роль при инициации инфекции вирусом гриппа, присоединяясь к рецептору, содержащему сиаловую кислоту и опосредуя проникновение вируса в клетку. Jeonи коллеги разработали ДНК аптамер, который успешно ингибирует проникновение HA в клетку и блокирует вирусную инфекцию как в клеточных культурах, так и на животных моделях [41]. Кроме того, разработаны аптамеры, существенно ингибирующие вирусную инфекцию птичьего гриппа – ДНК аптамеры, специфичные к H9 HA домену (подтип H9N2), ДНК и РНК аптамеры к региону HA1 гемоглютенина (подтип H5N1).

В настоящее время разработаны аптамеры, которые в перспективе могут быть использованы при лечении таких вирусных инфекций как цитомегаловирусная инфекция, вирус простого герпеса, SARSкороновирус, вирусная геморрагическая септицемия, а также вирус Эбола.

Антибактериальные аптамеры

Salmonellaenterica– опасный патоген, источником заражения которого может стать контаминированная вода или пища.Panи коллеги разработали аптамер S-$PS_{8.4}$, который

специфично присоединяется к пили *S. enteric* серовар Typhi, с K_D= 8,56нМ. Результаты исследований показали, что 2,0 μг аптамера приводит к 71% ингибированию проникновения *S. typhi*в моноциты человека. S-$PS_{8.4}$ аптамер, иммобилизованный на карбоновых нанотрубках, в дальнейшем был включен в состав электрохимического аптасенсора, для определения бактерии в растворах.

Staphylococcusaureus – патогенная бактерия, вызывающая такие опасные для жизни заболевания как эндокардит, сепсис, пневмония и синдром токсического шока. Chang и коллеги использовали целую бактерию как целевую молекулу для SELEX процесса. В результате селекции были получены 62 нуклеотидные аптамерыSA17 и SA61, обладающие высокой чувствительностью и специфичностью к *S. aureus* [42]. X.Cao и коллеги разработали панель ДНК-аптамеров, специфичных к *Staphylococcus aureus* методом cell-SELEX. Полученные 5 специфичных аптамеров показали большую эффективность при их комбинации во время детекции различных штаммов *S. aureus* в отличие от индивидуального использования [43].

Escherichia coli –это одна из наиболее распространенных и обычно безвредных бактерий, населяющих кишечный тракт теплокровных животных Однако некоторые вирулентные штаммы *E. coli*, например, O157:H7, могут вызвать широкий спектр заболеваний, таких как геморрагический и негеморрагический колит, почечная недостаточность и гемолитико-уремический синдром. На сегодняшний день существуют аптамеры для определения следующих штаммов *E. coli*: 0111:B4, K88, O157:H7. Однако нет данных о включении аптамеров в сенсорные структуры для их практического использования и детекции бактерии в пищевых продуктах [42].

Аптамеры и сердечно-сосудистые заболевания

REG1 –это антикоагуляционная система, разработанная компанией RegadoBiosciences. REG1 включает в себя аптамер RB007, специфичный к фактору свёртывания крови IX, и его олигонуклеотидный антидот RB006.RB006 состоит из 34 нуклеотидов, конъюгированных с полиэтиленгликолем (PEG) массой 40кДА, для того, чтобы уменьшить скорость его выведения из сыворотки почечной фильтрацией. RB006 присоединяется к фактору свёртывания крови IX с константой диссоциации (K_D) равной 2,8 нМ. RB007 состоит из 17 нуклеотидов и комплементарно присоединяется к 5'-концу RB006, тем самым разрушая его структуры и ингибируя его антикоагуляционную функцию.REG1 система успешно прошла вторую фазу клинических исследований, показав достаточно высокую антикоагуляционную активность. Однако при проведении третьей фазы клинических исследований у 10 из 1600 пациентов развилась острая аллергическая реакция в течение нескольких минут после введения аптамера. Дальнейшие исследования показали, что причиной возникновения аллергических реакций у пациентов были частицы PEG, а не нуклеиновая кислота. Несмотря на аллергическую реакцию на PEG, аптамер предотвращает развитие ишемии так же как и бивалирудин [3].

Тромбин – это сериновая протеаза, важнейший компонент системы свертывания крови. Nu172 – это ДНК-аптамер, разработанный группой ученых под руководством E.K. Waters, который селективно присоединяется и ингибирует тромбин [44]. Данный аптамер вводят внутривенно при проведении операций на органах сердечно-сосудистой системы, для предотвращения образования тромбов. Nu172 проходит вторую фазу клинических исследований, как антикоагулянт при лечении болезней сердца.

Фактор фон Виллебранда (VWF) играет важную роль в гемостазе, обеспечивая прикрепление тромбоцитов к поврежденному участку сосуда. ARC1779 – это ДНК аптамер, который присоединяется к VWF и блокирует его присоединение к мембранному гликопротеину тромбоцитов, тем самым оказывая антитромботический эффект [45]. Данныйаптамер обладает потенциальным терапевтическим эффектом при лечении острого коронарного синдрома и болезни Виллебранда. В настоящее время ARC1779 проходит 2 фазу клинических исследований при лечении тромботической микроангиопатии среди пациентов, страдающих болезнью сонных артерий и перенесших каротидную эндартерэктомию.

Аптамер для диагностики рака

AS1411 – это первый противораковый аптамер, G– богатый, размером 26 нуклеотидов. Целевой молекулой AS1411 является нуклеолин, белок ядерного матрикса, который может быть обнаружен на поверхности раковых клеток. Данный аптамер показал высокую эффективность при преклинических исследованиях рака молочной железы, рака легкого, панкреатического рака, и острой миелоидной лейкемии. В данный момент проходит 2-я фаза клинических испытаний AS1411аптамера при острой миелоидной лейкемии.

NOX-A12 – 45-нуклеотидный L-РНК аптамер к хемокину SDF-1. SDF-1 вовлечен в процесс метастазирования, ангиогенеза и тканевой регенерации. Подавление SDF-1 NOX-A12 может открыть новые пути лечения нескольких видов рака. Данный аптамер разработан компанией NOXXONPharmaAG (Берлин, Германия) и в настоящий момент находится на первой фазе

клинических исследований для лечения лимфомы, множественной миеломы и при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [1].

Аптамеры и аутоиммунные заболевания

IL-17 – это цитокин, секретируемый CD4+T клеточной популяцией и участвующий в воспалительных и аутоиммунных процессах. Ishiguro и коллеги получили аптамер Apt21-2 к человеческому Интерлейкину-17 (IL-17), который блокирует взаимодействие между IL-17A и его рецептором, ингибирует активность IL-17, а именно: продукцию Интерлейкина-6 в клетках человеческих и мышиных фибробластов[46].

Эскорт-аптамеры

Безопасная адресная доставка лекарственных средств к клетке или ткани, определенным к данной конкретной болезни,представляет собой важную и мощную технологию при лечении раковых и инфекционных заболеваний. В настоящее время существует ряд эскорт-аптамеров, конъюгированных с полимерами, такими как PEG, наноматериалами, включая золотые наночастицы, наночастицы хитозана, углеродные нанотрубки, способных специфично связываться с клетками определенного типа и доставлять терапевтические средства в клетки. Доксорубицин – это синтетический антибиотик, обладающий противоопухолевой эффективностью. MUC 1 аптамер-доксорубицин комплекс и аптамер к простат-специфическому мембранному антигену-доксорубицин комплекс могут быть использованы при лечении направленной терапии рака легкого и рака простатысоответственно [2].Subramanianu коллеги разработали антинуклеолиновую аптамер-сурвивин ДНК-зим химеру путем гибридизации аптамера с ДНК-зимом посредством poly-A:polyT линкера. В результате аптамер-ДНК-зим химера специфично присоединилась к нуклеолин-положительным раковым клеткам и вызвала значительную клеточную гибель [47]. Липосомы используют для повышения уровня проницаемости клеточной мембраны аптамерами, тем самым повышая эффективность доставки лекарственных средств. Кроме того, липосомы могут повысить время жизни аптамеров в плазме от нескольких минут до 23 часов. Cao и коллеги конъюгировали NCL-аптамер, специфичный к нуклеолину, с липосомой для инкапсуляции и доставки цисплатина – химиотерапевтического препарата, используемого для лечения широкого спектра опухолей, к клеткам РМЖ (MCF-7). Результаты исследования показали, что комбинации аптамеров и наноструктур могут быть успешно применяться в терапии для селективной доставки лекарств в раковые клетки, с высокой эффективностью и специфичностью[48].

Аптамеры как биоимиджинг агенты

Молекулярная визуализация, по определению Д.А.Манкофф – «это визуализация, характеристика и измерение биологических процессов на их молекулярном и клеточном уровне у человека и в других живых системах»[49]. Широко используемыми методами визуализации являются магнитно-резонансная томография (MRI–magneticresonanceimaging), биолюминесценция, флуоресценция, контрастно-усиленное ультразвуковое исследование, однофотонная эмиссионная компьютерная томография (SPECT–single-photonemissioncomputedtomography), и позитронно-эмиссионная томография (PET–positronemissiontomography). Неинвазивная молекулярная визуализация молекулярных маркеров различных заболеваний сможет обеспечить раннюю диагностику и лечение, и улучшить прогнозирование, что в конечном итоге приведет к персонализированной медицине. Аптамеры имеют ряд преимуществ по сравнению с антителами, обычно используемыми как целевые лиганды, и обладают огромным потенциалом в использовании их в молекулярной визуализации [50]. Первое упоминание использования аптамеров в визуализации датируется 1997 годом, когда группой ученых под руководством J.Charlton был использован ДНК аптамерNX21909, меченный технецием-99 для визуализации участков воспалительного процесса [51]. NX21909 аптамерспецифичен к эластазе, и способен специфично накапливаться в месте воспаления. K. Varmira и коллеги разработали технологию для диагностической визуализации клеток рака яичников (SKOV-3), высокоэкспрессирующих HER2, рецептор человеческого эпидермального фактора роста 2. Наблюдается повышение экспрессии HER2 примерно на 30%, у пациентов с различными онкологическими заболеваниями, в том числе с РМЖ, раком головного мозга и шеи, а также раком яичников и раком простаты. РНК аптамер, меченный технецием-99, специфично связывался с HER2в клетках SKOV-3 и у мыши, несущей SKOV-3 опухоль [52].

В работе D.Kim и коллег, опубликованной в 2010 году, описана мультифункциональная система, основанная на аптамерах и наночастицах для контрастной компьютерной томографии (КТ) и терапии рака простаты. Ими был использован A10 РНК аптамер, специфичный к простатическому специфическому мембранному антигену (ПСМА) и конъюгированный с золотыми наночастицами (GNP). В результате проведенных исследований было обнаружено, что интенсивность КТ была в 4 раза выше в андроген чувствительных клетках LNCaP с использованием аптамер-GNP системы, чем в клетках аденокарциномы простаты человека PC3 без

мечения их аптамер-GNP комплексом. Более того, разработанная система показала высокую эффективность при адресной доставке доксорубицина в LNCaP клетки аденокарциномы простаты человека [53].

Биоимиджинг с использованием аптамеров открывает новые направления для визуализации биомолекул. Данный подход обеспечивает быстрое определение целевых молекул и удаление остаточных аптамеров, а также визуализацию опухоли высокого качества. Кроме того, не наблюдается токсичность по отношению к здоровой ткани, которая часто обнаруживается, когда используются радиоактивно-меченные антитела.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аптамеры и SELEXтехнология произвели революцию в области биомедицины с момента их открытия в 1990 году. Моноклональные антитела все еще доминируют на рынке таргетной диагностики и терапии, однако высокая иммуногенность и себестоимость антител являются основными факторами, лимитирующими их клиническое применение. Аптамеры как небольшие, мультифункциональные, олигонуклеотидные лиганды обладают огромным потенциалом стать отличной альтернативой или дополнением к моноклональным антителам. Более того, в некоторых областях науки, таких как *in vitro* и *in vivo* диагностика, открытие новых биомаркеров и таргетная терапия, аптамеры продемонстрировали значительное превосходство надмоноклональными антителами. Коммерческий отчет, опубликованный MarketReseach.com, прогнозирует, что мировой рынок аптамеров, включая терапевтические средства, диагностику, биосенсоры, открытие новых лекарств и биомаркеров, и исследовательское применение, достигнет 5,4 млрд. долларов США к 2019 году[54]. Однако существуют некоторые ограничивающие факторы, препятствующие их разработке и применению, такие как быстрое выведение из кровотока путем почечной фильтрации, деградация нуклеазами в биологических растворах, таких как кровь, и недостатки SELEX технологии. Проблема лимитированной биодоступности аптамеров была успешно решена использованием различных химических и структурных модификаций, поэтому повышение эффективности SELEXпроцесса и сокращение по времени периода отбора остаются важнейшими задачами, требующими скорого разрешения. К счастью, разработка таких стратегий как SOMAmer, Cell-SELEXи микрофлюидные технологии может привести к желаемым результатам в решении проблем селекции аптамеров.

Аптамеры, в течение последних десятилетий, получили широкое применение во многих отраслях науки и заявили о себе как о новом компоненте в биологии, для решения важных задач, стоящих перед учеными мира сегодня.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chopra A., Shukla R., Sharma T. K. Aptamers as an emerging player in biology //Aptamers Syn Antibodies. – 2014. – Т. 1, №1. – С. 1-11.

2. Sun H., Zu Y. A highlight of recent advances in aptamer technology and its application //Molecules. – 2015. – Т. 20, №7. – С. 11959-11980.

3. Nimjee S.M. et al. Aptamers as therapeutics //Annual review of pharmacology and toxicology. – 2017. – Т. 57. – С. 61-79.

4. Mairal T. et al. Aptamers: molecular tools for analytical applications //Analytical and bioanalytical chemistry. – 2008. – Т. 390, №4.– С. 989-1007.

5. Ellington A.D., Szostak J.W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands // Nature. – 1990. – Т. 346, №6287.– С. 818.

6.Tuerk C. et al. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase //Science. – 1990. – Т. 249, №4968. – С. 505-510.

7. Riley K.R. et al. Combining capillary electrophoresis and next-generation sequencing for aptamer selection //Analytical and bioanalytical chemistry. – 2015. – Т. 407, №6.– С. 1527.

6. Stoltenburg R., Reinemann C., Strehlitz B. SELEX–a (r) evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands //Biomolecular engineering. – 2007. – Т. 24, №4. – С. 381-403.

8. Khati M. et al. Neutralization of infectivity of diverse R5 clinical isolates of human immunodeficiency virus type 1 by gp120-binding 2′ F-RNA aptamers //Journal of virology. – 2003. – Т. 77, №23. – С. 12692-12698.

9. Kedzierski S., Khoshnejad M., Caltagirone G.T. Synthetic antibodies: the emerging field of aptamers //Bioprocessing J. – 2012. – Т. 11. – С. 46-49.

10. Keefe A.D., Pai S., Ellington A. Aptamers as therapeutics //Nature reviews Drug discovery. – 2010. – Т. 9, №7. – С. 537-550.

11. Sharma T.K., Bruno J.G., Dhiman A. ABCs of DNA aptamer and related assay development //Biotechnology advances. – 2017.

12. Morris K.N. et al. High affinity ligands from in vitro selection: complex targets //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1998. – T. 95, №6.– C. 2902-2907.

13. Feng C., Dai S., Wang L. Optical aptasensors for quantitative detection of small biomolecules: A review //Biosensors and Bioelectronics. – 2014. – T. 59. – C. 64-74.

14. Abnous K. et al. A new amplified π-shape electrochemical aptasensor for ultrasensitive detection of aflatoxin B 1 //Biosensors and Bioelectronics. – 2017. – T. 94. – C. 374-379.

15. Smolinska-Kempisty K. et al. New potentiometric sensor based on molecularly imprinted nanoparticles for cocaine detection //Biosensors and Bioelectronics. – 2017. – T. 96. – C. 49-54.

16. Li Q. et al. Ultrasensitive detection of aflatoxin B 1 by SERS aptasensor based on exonuclease-assisted recycling amplification //Biosensors and Bioelectronics. – 2017. – T. 97. – C. 59-64.

17. Lee A.Y. et al. Development of a ssDNA aptamer for detection of residual benzylpenicillin //Analytical biochemistry. – 2017. – T. 531.– C. 1.

18. Ruscito A., DeRosa M.C. Small-molecule binding aptamers: Selection strategies, characterization, and applications //Frontiers in chemistry. – 2016. – T. 4.

19. Park J.H. et al. A highly sensitive and widely adaptable plasmonicaptasensor using berberine for small-molecule detection //Biosensors and Bioelectronics. – 2017.

20. Hianik T., Wang J. Electrochemical aptasensors–recent achievements and perspectives //Electroanalysis. – 2009. – T. 21, №11. – C. 1223-1235.

21. Sassolas A., Blum L.J., Leca-Bouvier B.D. Electrochemical aptasensors //Electroanalysis. – 2009. – T. 21, №11. – C. 1237-1250.

22. Tabasi A., Noorbakhsh A., Sharifi E. Reduced graphene oxide-chitosan-aptamer interface as new platform for ultrasensitive detection of human epidermal growth factor receptor 2 //Biosensors and Bioelectronics. – 2017. – T. 95. – C. 117-123.

23. Wang J. et al. RNA aptamer-based electrochemical aptasensor for C-reactive protein detection using functionalized silica microspheres as immunoprobes //Biosensors and Bioelectronics. – 2017. – T. 95. – C. 100-105.

24. Zhou Q. et al. Development of an aptasensor for electrochemical detection of exosomes //Methods. – 2016. – T. 97. – C. 88-93.

25. Matharu Z. et al. Detecting transforming growth factor-β release from liver cells using an aptasensor integrated with microfluidics //Analytical chemistry. – 2014. – T. 86, №17.– C. 8865-8872.

26. Enomoto J., Matharu Z., Revzin A. Electrochemical biosensors for on-chip detection of oxidative stress from cells //Method Enzymol. – 2013. – T. 526. – C. 107-121.

27. Liu Y., Zhou Q., Revzin A. An aptasensor for electrochemical detection of tumor necrosis factor in human blood //Analyst. – 2013. – T. 138, №15.– C. 4321-4326.

28. Malvano F. et al. A new label-free impedimetricaptasensor for gluten detection //Food Control. – 2017. – T. 79. – C. 200-206.

29. Luo Y. et al. Rapid and simultaneous quantification of 4 urinary proteins by piezoelectric quartz crystal microbalance immunosensor array //Clinical Chemistry. – 2006. – T. 52, №12.– C. 2273-2280.

30. Zhang B. et al. A novel piezoelectric quartz micro-array immunosensor based on self-assembled monolayer for determination of human chorionic gonadotropin //Biosensors and Bioelectronics. – 2004. – T. 19, №7. – C. 711-720.

31. Yao C. et al. Development of a quartz crystal microbalance biosensor with aptamers as bio-recognition element //Sensors. – 2010. – T. 10, №6.– C. 5859-5871.

32. Dollins C.M., Nair S., Sullenger B.A. Aptamers in immunotherapy //Human gene therapy. – 2008. – T. 19, №5. – C. 443-450.

33. Sullenger B.A. et al. Overexpression of TAR sequences renders cells resistant to human immunodeficiency virus replication //Cell. – 1990. – T. 63, №3. – C. 601-608.

34. O'Malley R.P. et al. A mechanism for the control of protein synthesis by adenovirus VA RNAI //Cell. – 1986. – T. 44, №3. – C. 391-400.

35. Burgert H.G. et al. Subversion of host defense mechanisms by adenoviruses //Viral Proteins Counteracting Host Defenses. – Springer Berlin Heidelberg, 2002. – C. 273-318.

36. Knöbl P. et al. Anti–von Willebrand factor aptamer ARC1779 for refractory thrombotic thrombocytopenic purpura //Transfusion. – 2009. – T. 49, №10.– C. 2181-2185.

37. Pietras K. et al. Inhibition of PDGF receptor signaling in tumor stroma enhances antitumor effect of chemotherapy //Cancer research. – 2002. – T. 62, №19.– C. 5476-5484.

38. Ni X. et al. Nucleic acid aptamers: clinical applications and promising new horizons //Current medicinal chemistry. – 2011. – T. 18, №27.– C. 4206-4214.

39.Khati M. et al. Neutralization of infectivity of diverse R5 clinical isolates of human immunodeficiency virus type 1 by gp120-binding 2′ F-RNA aptamers //Journal of virology. – 2003. – T. 77, №23. – C. 12692-12698.

40. de Campos W.R.L. et al. Cytotoxicological analysis of a gp120 binding aptamer with cross-clade human immunodeficiency virus type 1 entry inhibition properties: comparison to conventional antiretrovirals //Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2009. – T. 53, №7.– C. 3056-3064.

41. Jeon S.H. et al. A DNA aptamer prevents influenza infection by blocking the receptor binding region of the viral hemagglutinin //Journal of Biological Chemistry. – 2004. – T. 279, №46. – C. 48410-48419.

42. Davydova A. et al. Aptamers against pathogenic microorganisms //Critical reviews in microbiology. – 2016. – T. 42, №6. – C. 847-865.

43. Cao X. et al. Combining use of a panel of ssDNA aptamers in the detection of Staphylococcus aureus //Nucleic acids research. – 2009. – T. 37, №14.– C. 4621-4628.

44.Waters E.K. et al. Effect of NU172 and bivalirudin on ecarin clotting time in human plasma and whole blood //Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2009. – T. 7.– C. 683.

45. Oney S. et al. Antidote-controlled platelet inhibition targeting von Willebrand factor with aptamers //Oligonucleotides. – 2007. – T. 17, №3. – C. 265-274.

46. Ishiguro A. et al. Therapeutic potential of anti–interleukin17A aptamer: Suppression of interleukin17A signaling and attenuation of autoimmunity in two mouse models //Arthritis & Rheumatology. – 2011. – T. 63, №2. – C. 455-466.

47. Subramanian N. et al. Chimeric nucleolin aptamer with survivinDNAzyme for cancer cell targeted delivery //Chemical Communications. – 2015. – T. 51, №32.– C. 6940-6943.

48. Cao Z. et al. Reversible cell-specific drug delivery with aptamer-functionalized liposomes //AngewandteChemie International Edition. – 2009. – T. 48, №35.– C. 6494-6498.

49. Mankoff D. A. A definition of molecular imaging //Journal of Nuclear Medicine. – 2007. – T. 48, №6.– C. 18N-21N.

50. Hong H. et al. Molecular imaging with nucleic acid aptamers //Current medicinal chemistry. – 2011. – T. 18, №27.– C. 4195-4205.

51. Charlton J., Sennello J., Smith D. In vivo imaging of inflammation using an aptamer inhibitor of human neutrophil elastase //Chemistry & biology. – 1997. – T. 4, №11. – C. 809-816.

52. Varmira K. et al. A HER2-targeted RNA aptamer molecule labeled with 99m Tc for single-photon imaging in malignant tumors //Nuclear medicine and biology. – 2013. – T. 40, №8. – C. 980-986.

53. Kim D., Jeong Y.Y., Jon S. A drug-loaded aptamer− gold nanoparticle bioconjugate for combined CT imaging and therapy of prostate cancer //ACS nano. – 2010. – T. 4, №7.– C. 3689-3696.

54.Nucleic acid aptamers for diagnostics and therapeutics. Global Markets.https://www.marketresearch.com/BCC-Research-v374/Nucleic-Acid-Aptamers Diagnostics-Therapeutics-8412378.

REFERENCES

1. Chopra A., Shukla R., Sharma T. K. Aptamers as an emerging player in biology. *Aptamers Syn Antibodies*, 2014, vol. 1, no. 1, pp. 1-11.

2. Sun H., Zu Y. A highlight of recent advances in aptamer technology and its application, *Molecules*, 2015, vol. 20, no. 7, pp. 11959-11980.

3. Nimjee S.M. et al. Aptamers as therapeutics. *Annual review of pharmacology and toxicology*,2017, vol. 57, pp. 61-79.

4. Mairal T. et al. Aptamers: molecular tools for analytical applications. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2008, vol. 390, no. 4, pp. 989-1007.

5. Ellington A.D., Szostak J.W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands.*Nature*, 1990, vol. 346, no. 6287, pp. 818.

6. Tuerk C. et al. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science*, 1990, vol. 249, no. 4968, pp. 505-510.

7. Riley K.R. et al. Combining capillary electrophoresis and next-generation sequencing for aptamer selection. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2015, vol. 407, no. 6, pp. 1527.

6. Stoltenburg R., Reinemann C., Strehlitz B. SELEX - a (r) evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. *Biomolecular engineering*, 2007, vol. 24, no. 4, pp. 381-403.

8. Khati M. et al. Neutralization of infectivity of diverse R5 clinical isolates of human immunodeficiency virus type 1 by gp120-binding 2′ F-RNA aptamers. *Journal of virology*, 2003, vol. 77, no. 23, pp. 12692-12698.

9. Kedzierski S., Khoshnejad M., Caltagirone G.T. Synthetic antibodies: the emerging field of aptamers. *Bioprocessing J*, 2012, vol. 11, pp. 46-49.

10. Keefe A.D., Pai S., Ellington A. Aptamers as therapeutics. *Nature reviews Drug discovery*, 2010, vol. 9, vol. 7, pp. 537-550.

11. Sharma T.K., Bruno J.G., Dhiman A. ABCs of DNA aptamer and related assay development. *Biotechnology advances*, 2017.

12. Morris K.N. et al. High affinity ligands from in vitro selection: complex targets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1998, vol. 95, no. 6, pp. 2902-2907.

13. Feng C., Dai S., Wang L. Optical aptasensors for quantitative detection of small biomolecules: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, vol. 59, pp. 64-74.

14. Abnous K. et al. A new amplified π-shape electrochemical aptasensor for ultrasensitive detection of aflatoxin B 1.*Biosensors and Bioelectronics*, 2017, vol. 94.pp. 374-379.

15. Smolinska-Kempisty K. et al. New potentiometric sensor based on molecularly imprinted nanoparticles for cocaine detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, vol. 96, pp. 49-54.

16. Li Q. et al. Ultrasensitive detection of aflatoxin B 1 by SERS aptasensor based on exonuclease-assisted recycling amplification. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, vol. 97, pp. 59-64.

17. Lee A.Y. et al. Development of a ssDNA aptamer for detection of residual benzylpenicillin. *Analytical biochemistry*, 2017, vol. 531, pp. 1.

18. Ruscito A., DeRosa M.C. Small-molecule binding aptamers: Selection strategies, characterization, and applications. *Frontiers in chemistry*, 2016, vol. 4.

19. Park J.H. et al. A highly sensitive and widely adaptable plasmonicaptasensor using berberine for small-molecule detection.*Biosensors and Bioelectronics*, 2017.

20. Hianik T., Wang J. Electrochemical aptasensors–recent achievements and perspectives. *Electroanalysis*, 2009, vol. 21, no. 11, pp. 1223-1235.

21. Sassolas A., Blum L.J., Leca-Bouvier B.D. Electrochemical aptasensors. *Electroanalysis*, 2009, vol. 21, no. 11, pp. 1237-1250.

22. Tabasi A., Noorbakhsh A., Sharifi E. Reduced graphene oxide-chitosan-aptamer interface as new platform for ultrasensitive detection of human epidermal growth factor receptor 2. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, vol. 95, pp. 117-123.

23. Wang J. et al. RNA aptamer-based electrochemical aptasensor for C-reactive protein detection using functionalized silica microspheres as immunoprobes.*Biosensors and Bioelectronics*, 2017, vol. 95, pp. 100-105.

24. Zhou Q. et al. Development of an aptasensor for electrochemical detection of exosomes. *Methods*, 2016, vol. 97, pp. 88-93.

25. Matharu Z. et al. Detecting transforming growth factor-β release from liver cells using an aptasensor integrated with microfluidics. *Analytical chemistry*, 2014, vol. 86, no. 17, pp. 8865-8872.

26. Enomoto J., Matharu Z., Revzin A. Electrochemical biosensors for on-chip detection of oxidative stress from cells. *Method Enzymol*, 2013, vol. 526, pp. 107-121.

27. Liu Y., Zhou Q., Revzin A. An aptasensor for electrochemical detection of tumor necrosis factor in human blood.*Analyst*, 2013, vol. 138, no. 15, pp. 4321-4326.

28. Malvano F. et al. A new label-free impedimetricaptasensor for gluten detection.*Food Control*, 2017, vol. 79, pp. 200-206.

29. Luo Y. et al. Rapid and simultaneous quantification of 4 urinary proteins by piezoelectric quartz crystal microbalance immunosensor array.*Clinical Chemistry*, 2006, vol. 52, no. 12, pp. 2273-2280.

30. Zhang B. et al. A novel piezoelectric quartz micro-array immunosensor based on self-assembled monolayer for determination of human chorionic gonadotropin. *Biosensors and Bioelectronics*, 2004, vol. 19, no. 7, pp. 711-720.

31. Yao C. et al. Development of a quartz crystal microbalance biosensor with aptamers as bio-recognition element. *Sensors*, 2010, vol. 10, no. 6, pp. 5859-5871.

32. Dollins C.M., Nair S., Sullenger B.A. Aptamers in immunotherapy. *Human gene therapy*, 2008, vol. 19, no.5, pp. 443-450.

33. Sullenger B.A. et al. Overexpression of TAR sequences renders cells resistant to human immunodeficiency virus replication. *Cell*, 1990, vol. 63, no. 3, pp. 601-608.

34. O'Malley R.P. et al. A mechanism for the control of protein synthesis by adenovirus VA RNAI.*Cell*, 1986, vol.44, no. 3, pp. 391-400.

35. Burgert H.G. et al. Subversion of host defense mechanisms by adenoviruses.*Viral Proteins Counteracting Host Defenses. – Springer Berlin Heidelberg*, 2002, pp. 273-318.

36. Knöbl P. et al. Anti–von Willebrand factor aptamer ARC1779 for refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion*, 2009, vol. 49, no. 10, pp. 2181-2185.

37. Pietras K. et al. Inhibition of PDGF receptor signaling in tumor stroma enhances antitumor effect of chemotherapy. *Cancer research*, 2002, vol. 62, no. 19, pp. 5476-5484.

38. Ni X. et al. Nucleic acid aptamers: clinical applications and promising new horizons. *Current medicinal chemistry*, 2011, vol. 18, no. 27, pp. 4206-4214.

39.Khati M. et al. Neutralization of infectivity of diverse R5 clinical isolates of human immunodeficiency virus type 1 by gp120-binding 2′ F-RNA aptamers. *Journal of virology*, 2003, vol. 77, vol. 23, pp. 12692-12698.

40. de Campos W.R.L. et al. Cytotoxicological analysis of a gp120 binding aptamer with cross-clade human immunodeficiency virus type 1 entry inhibition properties: comparison to conventional antiretrovirals. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2009, vol. 53, no. 7, pp. 3056-3064.

41. Jeon S. H. et al. A DNA aptamer prevents influenza infection by blocking the receptor binding region of the viral hemagglutinin. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, vol. 279, no. 46, pp. 48410-48419.

42. Davydova A. et al. Aptamers against pathogenic microorganisms.*Critical reviews in microbiology*, 2016, vol. 42, no. 6, pp. 847-865.

43. Cao X. et al. Combining use of a panel of ssDNA aptamers in the detection of Staphylococcus aureus.*Nucleic acids research*, 2009, vol. 37, no. 14, pp. 4621-4628.

44.Waters E.K. et al. Effect of NU172 and bivalirudin on ecarin clotting time in human plasma and whole blood. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2009, vol. 7, pp. 683.

45. Oney S. et al. Antidote-controlled platelet inhibition targeting von Willebrand factor with aptamers. *Oligonucleotides*, 2007, vol. 17, no. 3, pp. 265-274.

46. Ishiguro A. et al. Therapeutic potential of anti–interleukin17A aptamer: Suppression of interleukin17A signaling and attenuation of autoimmunity in two mouse models. *Arthritis & Rheumatology*, 2011, vol. 63, no. 2, pp. 455-466.

47. Subramanian N. et al. Chimeric nucleolin aptamer with survivinDNAzyme for cancer cell targeted delivery. *Chemical Communications*, 2015, vol. 51, no. 32, pp. 6940-6943.

48. Cao Z. et al. Reversible cell-specific drug delivery with aptamer-functionalized liposomes.*AngewandteChemie International Edition*, 2009, vol. 48, no. 35, pp. 6494-6498.

49. Mankoff D.A. A definition of molecular imaging.*Journal of Nuclear Medicine*, 2007, vol. 48, no. 6, pp. 18N-21N.

50. Hong H. et al. Molecular imaging with nucleic acid aptamers.*Current medicinal chemistry*, 2011, vol. 18, no. 27, pp. 4195-4205.

51. Charlton J., Sennello J., Smith D. In vivo imaging of inflammation using an aptamer inhibitor of human neutrophil elastase.*Chemistry & biology*, 1997, vol. 4, no. 11, pp. 809-816.

52. Varmira K. et al. A HER2-targeted RNA aptamer molecule labeled with 99m Tc for single-photon imaging in malignant tumors. *Nuclear medicine and biology*, 2013, vol. 40, no, 8, pp. 980-986.

53. Kim D., Jeong Y.Y., Jon S. A drug-loaded aptamer–gold nanoparticle bioconjugate for combined CT imaging and therapy of prostate cancer.*ACS nano*, 2010, vol. 4, no. 7, pp. 3689-3696.

54. Nucleic acid aptamers for diagnostics and therapeutics. Global Markets.Available at:https://www.marketresearch.com/BCC-Research-v374/Nucleic-Acid-Aptamers-Diagnostics-Therapeutics-8412378.

АПТАМЕРЛЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ БИОЛОГИЯ МЕН БИОМЕДИЦИНАДА ҚОЛДАНУ

Иманбекова М.К.[1], Стыбаева Г.С.[1,2], Ревзин А.[2], Жолдыбаева Е.В.[1]

[1] Ұлттық биотехнология орталығы
Қорғалжын тас жолы, 13/5, Астана, 010000, Қазақстан
[2]Физиология және биомедициналық инженерия кафедрасы
Майо клиникасы, Рочестер, Миннесота, 55905
meruert.iman@gmail.com

ТҮЙІН

Аптамер дегеніміз белгілі мақсат – амин қышқылдары, есірткі, протеиндер мен басқа да молекулар үшін арнайы әзірленетін нуклеин қышқылдарының синтетикалық молекуласы. Табиғатта олар рибосвичиттер, генетикалық реттегіш элементтер ретінде өмір сүреді. Аптамерлерді генерациялау үшін SELEX деп аталатын әдіс бар, бұл адсорбция, бөліну және амплификация интерактивті процестерінен тұрады, содан кейін белгілі бір олигонуклеотид реттеленеді.Бүкіл SELEX процесі бір аптадан бір айға дейін созылады және 8-20 айналымнан тұрады. Аптамерлер құны жоғары және иммуногенді моноклоналды антиденелерге жақсы балама. Аптамерлердің антиденелерден қарағанда артықшылықтарының ішінде тұрақтылық, құны арзан, уыттылық пен иммуногендіктің болмауы, синтез серияларына қарамастан кез-келген мақсатты молекулаға біркелкі қызмет жасау мүмкіндігін береді.

Синтездеу мен модификация жасау жеңілдік диагностика, мақсатты дәрі-дәрмектерді жеткізу, жаңа биомаркерлерді табу, биовизуализация және молекулярлық терапия сияқты биология мен биомедицинаны әртүрлі салаларында аптемерлерді құруға және қолдануға мүмкіндік береді.

Негізгі сөздер: аптамер, SELEX, аптасенсорлар, диагностика, мақсатты жеткізу, биовизуализация.