Journal of Police Medicine
Fall 2012; Vol. 1, No. 2: 125-135
Review Article

Potential of Aptamers for Using in Police Missions

Received: 1 August 2012 **Revised:** 12 August 2012 **Accepted:** 1 Septamber 2012

ABSTRACT

Mehdi Saberian[1, 2]
Davoud Asgari[1]
Hossein Hamzeiy[2*]

[1]*Research Center for Pharmaceutical Nanotechnology,*
[2]*Pharmacology and Toxicology Department,*
Faculty of Pharmacy,
Tabriz University of Medical Sciences,
Tabriz-Iran

[*]**Corresponding Author:**
Associate Professor of Toxicology,
Tel: (+98) 411 337 2251;
Fax: (+98) 411 334 4798,
Email: hamzeiy@tbzmed.ac.ir

Aptamers are single stranded RNA or DNA oligonucleotides with noticeable affinity to their specific targets. This characteristic of aptamers is comparable to antibody-antigen interaction. Aptamers are selected by an in vitro process called SELEX. This process lead to selection of high affinity sequences to a special target. Since aptamers are high- affinity selective-acting compounds, they have lots of applications in different fields of science. Drugs sensing, poison and medicine sensing, bioterrorism agent assessment, and tracing the residual of warfare agents in the environment are some of related application of aptamers to police and military services. This paper will review the previously reported papers in the field of aptamers with the potential of using in the police missions.

Keywords: Aptamer, SELEX, Aptasensor

مجله طب انتظامی
پاییز ۱۳۹۱ - شماره ۱ - مسسلسل ۲- صفحات ۱۳۵-۱۲۵
مقاله مروری

قابلیت آپتامرها برای استفاده در ماموریتهای پلیس

تاریخ دریافت: ۱۱ مرداد ۱۳۹۱ **تاریخ اصلاح:** ۲۲ مرداد ۱۳۹۱ **تاریخ پذیرش:** ۱۱ شهریور ۱۳۹۱

چکیده

آپتامرها توالیهای اولیگونوکلئوتیدی تک رشته‌ای RNA یا DNA هستند که با تمایل بالا توانایی اتصال به یک هدف مشخص را دارند. این ویژگی آپتامرها قابل مقایسه با عملکرد آنتی‌بادی در مقابل آنتی‌ژن است. جداسازی آپتامر از طریق یک فرایند برونتنی به نام سیلکس انجام میپذیرد که در انتهای چرخه به ایجاد رشته‌هایی با تمایل بالا به هدف مربوطه منجر میگردد. از آنجا که آپتامرها ترکیباتی هستند با تمایل بالا به یک تارگت و عملکردی اختصاصی به آن، کاربردهای بسیاری برای آنها در زمینههای مختلف علوم متصور میگردند. شناسایی وتشخیص مواد مخدر، شناسایی سموم و داروها، شناسایی عوامل مورد استفاده در بایوتروریسم و همچنین، شناسایی باقیمانده سلاحهای شیمیایی در محیط از جمله کاربردهایی است که در مطالعات مختلف مورد توجه محققان قرار گرفته و با ماموریتهای نیروهای نظامی، به ویژه پلیس مطابق دارد. این مقاله به مرور مستندات گزارش شده پیشین در زمینه آپتامرها که کاربرد پلیسی خاصی نیز میتوان برای آن متصور شد، خواهد پرداخت.

کلید واژه‌ها: آپتامر، سیلکس، آپتاحسگر.

مهدی صابریان[۲,۱]
داوود عسگری[۱]
حسین حمزه ای[۲*]

[۱] مرکز تحقیقات ریزفناوریهای دارویی،
[۲] گروه فارماکولوژی و توکسیکولوژی،
دانشکده داروسازی،
دانشگاه علوم پزشکی تبریز،
تبریز، ایران

***نویسنده مسئول:**
دانشیار سم شناسی
تلفن: ۲۲۵۱ ۳۳۷ ۴۱۱ (۹۸+)
فکس: ۴۷۹۸ ۳۳۴ ۴۱۱ (۹۸+)
پست الکترونیک: hamzeiy@tbzmed.ac.ir

مقدمه

آنالیز و تشخیص سموم، داروها، مواد مخدر و میکروارگانیسمهای بیماریزایی که در تهاجمات بیولوژیک استفاده می‌شوند، بخش مهمی از ماموریتهای پلیس را تشکیل می‌دهد [۱-۳]. این روشها همگام با پیشرفت و معرفی تجهیزاتی نظیر کروماتوگرافی گازی[۱] [۴-۶]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[۲] [۷، ۸] و همچنین روشهای الکتروشیمیایی [۹] پیشرفته‌تر شده و در بسیاری از ماموریتهای پلیس راه‌گشا بوده‌اند. با این حال، روشهای مرسوم به‌رغم دقت و حساسیت بالا محدودیتهایی نیز دارند که استفاده از آنها را تنها محدود به آزمایشگاه‌های مجهز نموده است. اول اینکه، این روشها متکی به تجهیزات گران‌قیمت و پیچیده آزمایشگاهی می‌باشند. ثانیا، برای کار با دستگاهها و تجهیزات مربوطه نیروهای متخصص و کارآزموده نیاز است. لذا، این روشها را نمی‌توان در زمان کم، در مکان دلخواه و توسط هر فردی انجام داد. با ورود آنتی‌بادیها به حیطه آنالیز و تشخیص، پیشرفتهای زیادی در زمینه کیتهای تشخیصی نواری شکل بدست آمد، به طوریکه امروزه کیتهای نواری تشخیص بارداری، مرفین و آمفتامین در دسترس عموم قرار گرفته‌اند [۱۰]. با این حال، این نوع کیتها هم محدودیتهای خاص خود را دارند. از آنجا که اساس تولید این کیتها بر مبنای جداسازی آنتی‌بادی اختصاصی برای یک هدف (تارگت[۳]) ویژه می‌باشد، کاربرد این کیتها در ماموریتهای پلیسی محدود به آزمایشهای تشخیص اعتیاد شده است. این مسئله ریشه در فرایند جداسازی درون‌تنی[۴] آنتی‌بادی دارد. از آنجا که برای تولید آنتی‌بادی ویژه علیه یک تارگت باید آن را به بدن یک موجود زنده تزریق کرد تا فرایند تولید آنتی‌بادی صورت پذیرد، تولید آنتی‌بادی برای سموم و مولکولهای بسیار کوچک و غیر ایمونوژن با روشهای معمول امکان پذیر نیست [۱۱، ۱۲]. به همین دلیل، معرفی

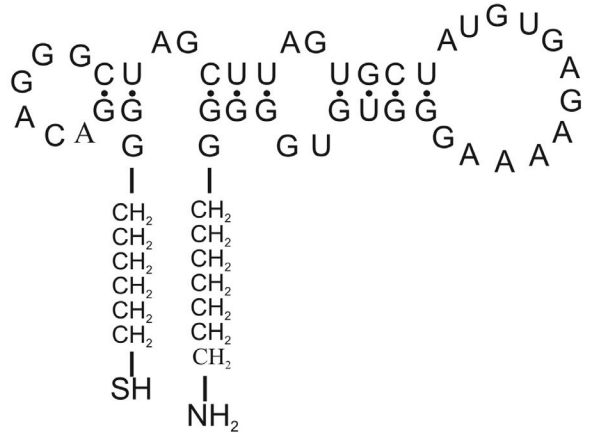
[1]Gas Chromatography, [2]High Performance Liquid Chromatography, [3]Target, [4]In vivo

Journal of Police Medicine
Fall 2012; Vol. 1, No. 2: 125-135

روشی جدید که فارغ از این نقایص باشد، بی‌تردید پیشرفتی شگرف در زمینه تولید کیتهای تشخیصی همگانی ایجاد خواهد کرد. استفاده از زیست‌حسگرهای آپتامری که آپتاحسگر نیز خوانده می‌شوند، از جمله روشهای نوین تشخیصی است که در سالهای اخیر مورد توجه دانشمندان قرار گرفته‌است. این زیست‌حسگرها حساسیت بسیار بالایی داشته و توانایی شناسایی مواد با غلظتهایی به کوچکی چند نانومولار را نیز دارند [۱۳، ۱۴]. معرفی این دسته از حسگرها که به واسطه بخش آپتامری خود به شکل کاملا اختصاصی توانایی شناسایی تارگتهای ویژه را دارند، می‌تواند آغازی برای نیل به تولید ابزارهای سریع و در عین حال دقیق تشخیصی در حیطه آنالیز باشد.

آپتامر چیست؟

آپتامرها لیگاندهایی اولیگونوکلئوتیدی تک رشته‌ای هستند (اعم از DNA یا RNA) که طول آنها بین ۳۰ تا ۷۰ نوکلئوتید است. این لیگاندها در سال ۱۹۹۰ معرفی شده و نام آنها از واژه لاتین آپتوس[1] به معنی "در شکل و اندازه درستی بودن" مشتق شده است [۱۵، ۱۶]. بازهای آلی موجود در توالیهای اسیدنوکلئیکی تک‌رشته‌ای در شرایط معمول طبق نظریه‌های واتسون- کریک[2] و ووبل[3] با هم جفت شده و این آرایش درون زنجیره‌ای ساختار سه بعدی خاص و منحصر به فردی به آپتامر می‌دهد که مشابه به ساختار خوشه انگوری مولکول RNA است (شکل ۱) [۱۹-۱۷]. احتمالا مجاورت آپتامر با ترکیبات خارجی ویژه (تارگت)، تشکیل این ساختار را تسهیل کرده و باعث اتصال موثر آپتامر و تارگت می‌گردد. این اتصال از طریق نیروهای ضعیف واندروالسی، پیونهای هیدروژنی، کنش واکنشهای الکتروستاتیک یا مجموعی از این نیروها که بین بارهای الکتریکی سطحی تارگت و مولکول آپتامر ایجاد شده است، صورت می‌گیرد [۲۰، ۲۱]. هر چه ساختار سه بعدی آپتامر با تارگت تطابق بالاتری داشته باشد، اتصال این دو با تمایل بالاتری صورت خواهد پذیرفت، به طوریکه تمایل آپتامر به تارگت ویژه‌اش گاه تا ده هزار برابر فراتر از تمایل آپتامر و یک مولکول مشابه خواهد بود [۲۲]. این فرایند بسیار شبیه به فرایندی است که طی آن آنتی‌ژن و آنتی‌بادی به یکدیگر متصل می‌شوند، لذا آپتامرها را گاهی آنتی‌بادیهای نوکلئوتیدی نیز می‌نامند. آپتامرها همانند آنتی‌بادیها به صورت اختصاصی تارگت خود را شناسایی می‌کنند و تمایل آنها به تارگت ویژه‌شان کاملا با آنتی‌بادیها قابل قیاس است [۲۳، ۲۴]. اما، آنچه آپتامرها را در کانون توجه قرار داده است مزایای این



شکل۱ - ساختار دو بعدی آپتامر جداسازی شده برای کدئین.

جفت شدن بازهای آلی طبق قوانین واتسون -کریک و ووبل، ساختار خوشه انگوری شکلی در شمای دو بعدی آپتامر ایجاد می‌کند که به ساختار ساقه-حلقه موسوم است. در این ساختار، جفت شدن بازهای آلی بخش ساقه و بازهای آلی آزاد بخش حلقه را تشکیل می‌دهند.
در شکل ارائه شده، یک زنجیره اصلاحی تیولی برای تثبیت آپتامر بر سطح الکترود به انتهای ′۵ آپتامر و یک زنجیره اصلاحی آمینی برای اتصال مولکول الکترواکتیو ردوکس به انتهای ′۳ آن افزوده شده است.

ترکیبات نسبت به آنتی‌بادیهاست. از آنجا که فرایند تولید آپتامر یک فرایند برون‌تنی[4] است، این ترکیبات می‌توانند برای گستره وسیعی از تارگتها از کوچکی یک یون تا بزرگی یک سلول جداسازی شوند، در حالیکه آنتی‌بادیها تنها قابلیت اتصال به ترکیبات ایمونولوژیک را دارا هستند. تغییر در دسته‌های مختلف تولید شده آپتامری بسیار به ندرت مشاهده می‌شود در حالیکه در دسته‌های تولید شده آنتی‌بادیها همواره اختلافات بارزی قابل مشاهده است. آپتامرها به راحتی قابل دستکاری به روشهای شیمیایی هستند و تغییرات ساختاری ناشی از حرارت در آنها برگشت پذیر است. به این مفهوم که در حرارتهایی به بزرگی ۶۰ درجه سانتی‌گراد، آپتامرها بدون اینکه دچار تخریب شوند تغییر ساختاری می‌دهند و با بازگشت دما به دمای اتاق، ساختار سه بعدی اولیه خود را بازخواهند یافت. همچنین، آپتامرها برای نگهداری نیازی به دماهای پایین نداشته و عمر قفسه‌ای طولانی دارند [۱۴، ۲۵، ۲۶]. از نظر تکنیکی آپتامرها را می‌توان برای هر گونه پروتئین [۲۷]، دارو [۲۸]، سم [۲۹]، یون یا ساختار شیمیایی [۳۰] دیگر جدا کرد و این جداسازی طی فرایندی به نام جداسازی لیگاند از طریق غنی‌سازی سیستماتیک که به اختصار سیلکس[5] (SELEX) نامیده می‌شود، صورت می‌گیرد

[1]Aptus, [2]Watson-Crick, [3]Woble, [4]In vitro, [5]Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment

مجله طب انتظامی
شماره ۱ – مسلسل ۲– صفحات ۱۳۵-۱۲۵

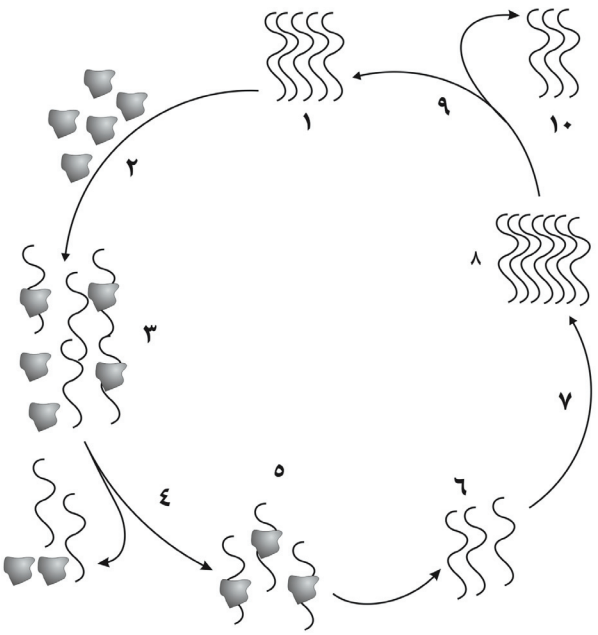
[۱۶]. قابلیتهای ذکر شده برای آپتامرها سبب شده است که این ترکیبات در زمینه‌های مختلفی چون ساخت زیست‌حسگرها، جداسازی مواد، داروسازی و علوم تشخیص پزشکی مورد توجه محققان قرار گیرند [۳۳-۳۱].

جداسازی آپتامر به روش سیلکس

فرایند سیلکس با مجموعه‌ای از زنجیره‌های اسیدنوکلئیکی که به صورت صناعی ساخته شده‌اند، آغاز می‌گردد. تعداد زنجیره‌های موجود در هر مجموعه، به طور میانگین 10^{15} زنجیره متفاوت است و آرایش توالی زنجیره‌ها در حین ساخت مجموعه کاملا به صورت تصادفی صورت می‌گیرد. چنین مجموعه‌هایی یک کتابخانه آپتامری[1] را تشکیل می‌دهند و اساس تولید آپتامر به روش سیلکس، بر انتخاب تصادفی یکی از این کتابخانه‌ها برای آغاز جداسازی استوار است. فرایند جداسازی آپتامر با اضافه‌کردن کتابخانه مورد نظر به محیط حاوی تارگتی آغاز می‌شود که معمولا بر روی یک بستر مشخص تثبیت شده‌است [۳۴، ۳۵]. هنگامی که کتابخانه و تارگت مورد نظر در مجاورت یکدیگر قرار گرفتند، زنجیره‌های موجود در کتابخانه آپتامری بسته به نوع ساختار فضایی خود رفتاری متفاوت با تارگت از خود بروز می‌دهند، به این معنا که برخی از زنجیره‌های موجود در کتابخانه به تارگت تمایل نشان داده و به آن متصل می‌شوند و سایر زنجیره‌ها به شکل اولیه در محیط باقی خواهند ماند (شکل ۲). با شستشوی بستر جداسازی، زنجیره‌هایی که به هدف اتصال نیافته‌اند از محیط شسته و خارج می‌شوند. با افزایش دما یا تغییر در بافرهای شستشو دهنده، رشته‌های متصل به تارگت نیز جدا شده و به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) یا RT-PCR (برای زنجیره های RNA) تکثیر می‌یابند تا به عنوان کتابخانه آپتامری برای مرحله بعدی جداسازی مورد استفاده قرار گیرند. مراحل متوالی ذکر شده یک چرخه نامیده می‌شود و محصول نهایی این چرخه وارد چرخه بعدی فرایند جداسازی شده و مراحلی مشابه را طی خواهد کرد. فرایند سیلکس در حقیقت به مجموعه این چرخه‌های متوالی و تکراری که به طور مختصر شامل اتصال، جداسازی و تکثیر رشته‌هاست، اطلاق می‌گردد. تعداد چرخه‌ها معمولا بین ۴ تا ۲۰ چرخه متغیر است و در هر چرخه زنجیره‌هایی که تمایل نسبی بالاتری به تارگت دارند باقی می‌مانند. در چرخه نهایی رشته یا رشته‌های معدودی جدا شده که برای اتصال به هدف، بالاترین تمایل را دارند و در حقیقت همان آپتامر مطلوب برای تارگت مورد نظر می‌باشد [۱۶، ۳۶]. در حال حاضر، آپتامرهای زیادی برای تارگتهای مختلف جداسازی شده‌اند که بسیاری از آنها در حیطه‌هایی از ماموریتهای پلیسی و نظامی کاربرد ویژه دارند.

کاربرد آپتامر در تشخیص مواد مخدر

از آنجا که مشکلات و مخاطرات ایجاد شده توسط مواد مخدر و روان‌گردان تهدیدی جدی برای جوامع است، کشف مواد مخدر و شناسایی افراد معتاد از ماموریتهای مهم نیروهای پلیس هر کشور تلقی می‌گردد. در حال حاضر، اغلب تستهای تشخیص اعتیاد در آزمایشگاههای مواد مخدر با استفاده از کیتهای نواری تشخیصی صورت می‌گیرد و در صورت مشکوک بودن نمونه‌ها، یک آزمون کروماتوگرافی لایه نازک[2] (TLC) برای تایید نتایج انجام می‌شود. این کیتها که با تکیه بر تکنولوژی آنتی‌بادی ساخته شده‌اند، با دقت نسبتا قابل قبولی حضور تارگت اختصاصی خود را نشان می‌دهند، به طوریکه محدوده شناسایی



شکل۲ – تصویری شماتیک از فرایند سیلکس.
(۱) برای آغاز فرایند سیلکس، یک کتابخانه آپتامری به صورت تصادفی انتخاب می‌شود. (۲) کتابخانه انتخاب شده به محیط حاوی تارگت مورد نظر اضافه می‌شود. (۳) توالیهایی که تمایل بالاتری به تارگت تثبیت شده دارند، به تارگت متصل شده و بقیه توالیها در محلول اولیه باقی می‌مانند. (۴) پس از شستشوی توالیهای غیر متصل، (۵) توالیهای متصل شده به تارگت با (۶) تغییر دما یا شرایط شستشو جدا شده (۷) و پس از تکثیر (۸) به عنوان کتابخانه آپتامری جدید (۹) وارد چرخه بعدی فرایند می‌شوند. (۱۰) پس از طی تعداد چرخه‌های مورد نظر، آپتامر نهایی جداسازی و تعیین توالی می‌شود.

[1]Library, [2]Thin layer chromatography

Journal of Police Medicine
Fall 2012; Vol. 1, No. 2: 125-135

تعریف شده برای آنها ۳۰۰ نانوگرم در لیتر تعیین شده‌است [۱۰]. اگر چه این محدوده سنجش از نظر قانون در کاربردهای پلیسی و آزمایشات قبل از ازدواج به عنوان محدوده قابل قبول سنجش پذیرفته شده‌است، تداخلات بسیار جزئی خارجی مانند تغییرات pH ادرار یا رقیق شدن ادرار به دلیل استفاده زیاد از مایعات، امکان بروز پاسخ غلط را افزایش می‌دهند. به همین دلیل آپتامرها که توانایی تشخیص در محدوده‌هایی به مراتب پایین‌تر را دارند، می‌توانند در پیشرفت این حیطه بسیار موثر باشد. آپتاحسگر ساخته شده توسط بیکر[1] نمونه‌ای اولیه از این دسته حسگرهاست [۳۷]. این حسگر الکتروشیمیایی که برای شناسایی کوکائین طراحی و ساخته شده به حضور کوکائین بسیار حساس بوده به طوریکه توانایی تشخیص غلظتهای جزئی (تا حد ۱۰ میکرو مولار) کوکائین را از خود نشان داده‌است. در مطالعاتی دیگر، استوجانویک[2] آپتاحسگرهای نوری برای تشخیص کوکائین طراحی کرده‌است که علاوه بر حساسیت مناسب برای سنجش کوکائین، شناسایی این ماده را به شکل کاملا اختصاصی انجام می‌دهند [۳۸، ۳۹]. ساخت آپتاحسگرهای اختصاصی برای سایر داروهای روان‌گردان و مخدر با پیشرفتهای قابل قبولی همراه بوده است [۴۰، ۴۱]، به‌طوریکه حسگر آپتامری ساخته شده برای کدئین توانسته است به کمک روش الکتروشیمیایی در سنجش این ماده مورد استفاده قرار گیرد و حساسیتی کمتر از ۱۰ نانومولار در حضور کدئین از خود نشان دهد [۴۲، ۴۳]. محدوده سنجش بدست آمده در این مطالعه نقطه مثبتی در طراحی حسگر مربوطه است، درحالیکه بسیاری از روشهای پیچیده و وقت‌گیر پیشین فاقد آن بوده‌اند.

یافته‌های فوق موید این موضوع است که کاربرد آپتامرها در کیتهای تشخیص مواد مخدر می‌تواند در آینده‌ای نه‌چندان دور مشکلات مربوط به پاسخهای کاذب کیتهای فعلی را اصلاح کرده و واکنشهای متقاطع بین حسگر و مواد ناخواسته را به حداقل برساند.

کاربرد آپتامر در علوم جنایی

مسمومیتهای عمدی و سهوی ایجاد شده در اثر استفاده از سموم و داروها، بخشی از ماموریتهای جنایی پلیس را تشکیل می‌دهند. در گذشته، انجام جرائم جنایی به دلیل محدودیت نسبی سموم و داروها، پیچیدگی کمتری نسبت به امروز داشته است. همزمان با کشف، ساخت و معرفی سموم، داروها و ترکیبات شیمیایی جدیدی که بسیاری از آنها پتانسیل ایجاد مسمومیت را دارا هستند، باعث افزایش سوء استفاده از این ترکیبات نوظهور در موارد خودکشی یا قتل شده است [۴۴–۴۷]، لذا معرفی روشهای نوین شناسایی در این زمینه‌ها کاملا ضروری به نظر می‌رسد. این مسئله در مورد سموم قوی که غلظتهای بسیار کم آنها نیز پتانسیل بالای کشندگی دارند، بسیار با اهمیت‌تر است. زیرا، بسیاری از روشهای عمومی موجود فاقد دقت لازم برای شناسایی اینگونه مواد می‌باشند یا نیاز به تجهیزات پیشرفته‌ای برای شناسایی دارند [۵۰–۴۸]. جداسازی آپتامرها و ساخت آپتاحسگر برای داروهایی که پنجره درمانی محدود و پتانسیل سمیت‌زایی بالایی دارند (مانند دیگوکسین و تئوفیلین) از جمله این موارد است [۵۳–۵۱]. نمونه دیگر معرفی آپتامر اختصاصی آرسنیک است که به عنوان یکی از سموم کلاسیک در گذشته در برخی از جرایم جنایی جایگاه خاصی داشته است [۵۴، ۵۵]. این آپتامر در تحقیقات زیست محیطی برای شناسایی و جداسازی آرسنیک در آبهای زیر زمینی در ویتنام به طور موثری مورد استفاده قرار گرفته است [۵۶]. این آپتامر با قابلیت اتصال بالا به آرسنیک می‌تواند در موارد جنایی که مشکوک به ایجاد سمیت با آرسنیک است نیز مورد استفاده قرار گیرد و با توجه به دقت عملکرد توصیف شده برای آن در چنین مواردی راه‌گشا باشد.

کاربرد تشخیصی آپتامر در بیوتروریسم

مسئله بیوتروریسم و استفاده از سلاحهای بیولوژیک همواره یکی از دغدغه‌های نیروهای امنیتی کشورها بوده‌است. از آنجا که معمولا تهاجمات بیولوژیک از طریق آب، هوا یا غذا صورت می‌گیرد، گستره وسیعی از جمعیت در کانون آسیب با این عوامل قرار خواهند داشت. معمولا، عوامل بیولوژیک از دسته باکترها یا ویروسهایی انتخاب می‌شوند که به آسانی قابلیت تکثیر و همه‌گیری در بین جمعیت را داشته باشند [۵۷–۵۹]. با این توصیف، ساخت حسگرهایی با توانایی شناسایی این عوامل یکی از ملزومات دفاعی نیروهای نظامی و انتظامی خواهد بود. در این حیطه از دانش نیز کاربرد آپتامرها به سرعت رو به افزایش است، به‌طوریکه هم‌اکنون آپتامر اختصاصی برای عواملی چون باکتری ایجاد کننده سیاه‌زخم[3] [۶۰، ۶۱]، سالمونلا[4] [۶۲]، شیگلا[5] [۶۳] و اشرشیاکولی[6] جداسازی و در مواردی آپتاحسگر اختصاصی آنها نیز ساخته و معرفی شده است [۶۴، ۶۵]. دسته دیگری از عوامل بیولوژیک، توکسینهایی هستند که به دلیل ظرفیت بالای ایجاد سمیت و همچنین توزیع آسان از طریق آب، هوا و غذا در سلاحهای بیولوژیک

[1]Baker, [2]Stojanovic, [3]anthrax, [4]Salmonella, [5]Shigella, [6]Escherichia coli

مورد استفاده قرار می‌گیرند. ریسین[1] مشتق شده از دانه های کرچک، یکی از مهمترین این عوامل می‌باشد که می‌تواند از طریق سیستم تنفسی وارد بدن انسان شده و مسمومیت کشنده‌ای ایجاد نماید [۶۶، ۶۷]. آپتامر جداسازی شده برای این سم کشنده به عنوان یک آنتی‌دوت موثر برای جلوگیری از اثرات مهلک این سم در بدن معرفی شده است و نتایج مطالعات تاثیر قابل قبول و موثر این آنتی‌دوت را در کنترل مسمومیت با ریسین به اثبات رسانده است.

سم بوتولینیوم[2] یکی دیگر از سموم مهلک باکتریایی است که به دلیل تولید ساده و سمیت بسیار بالا، پتانسیل استفاده در سلاحهای بیولوژیک را دارد. این سم از طریق آلودگیهای آب و غذا منتقل می‌گردد و با داشتن قابلیت بالای کشندگی به یکی از عوامل مخرب بیولوژیک بدل شده است، به‌طوریکه به راحتی می تواند شمار زیادی را قربانی کند. به همین دلیل، استفاده از آپتامرها در مورد این سم نیز مورد توجه برخی از محققان بوده است. آپتامر اختصاصی این سم با اشغال موضع فعال توکسین، توانایی خنثی‌سازی موثر آن را از خود بروز می‌دهد. به علاوه، این آپتامر در ساخت آپتاحسگر الکتروشیمیایی اختصاصی برای شناسایی این نوروتوکسین استفاده شده و به شکل موفق مورد استفاده قرار گرفته است، به‌طوریکه در محیط آزمایشگاه این آپتاحسگر توانسته است مقادیری به کوچکی ۴۰ پیکومولار در میلی‌لیتر از سم بوتولینیوم را شناسایی کند [۶۸، ۶۹].

کاربرد آپتامر در ماموریتهای نظامی

کاربرد آپتامرها در علوم نظامی محدود به حیطه بیوتروریسم نمی‌شود. استفاده از آپتامرها در شناسایی عوامل و جنگ افزارهای نظامی حیطه‌ای دیگر از کاربرد آپتامرهاست. اهمیت و قابلیت آپتامرها در این زمینه به حدی چشم‌گیر است که مرکز پروژه‌های پیشرفته نظامی آمریکا برای طراحی و ساخت یک اسپری شناسایی کننده سلاحهای شیمیایی که با تکنولوژی آپتامر طراحی شده است جایزه نقدی تعیین کرده است [۷۰]. بنابر اطلاعات منتشر شده، این اسپری باید با اتصال آپتامر به یک عامل فلورسنس تهیه شود. هدف از تعریف این پروژه، توانایی شناسی هم زمان چند عامل شیمیایی بر روی سطوح یا سلاحهای سربازان ذکر شده است. در تحقیقی مشابه، برای شناسایی آلودگیهای محیطی ماده منفجره تری‌نیتروتولوئن (TNT) موجود در محیطهای نظامی یا محلهایی که در معرض انفجارات آن قرار دارند، یک آپتاحسگر الکتروشیمیایی حساس ساخته شده‌است. این حسگر به راحتی TNT موجود در محیط را شناسایی کرده و برخلاف روشهایی چون HPLC، نیازی به تغلیظ نمونه‌های مورد آزمایش ندارد. این دست‌آورد دو مزیت عمده دارد: اول اینکه با حذف مرحله تغلیظ نمونه‌ها، مدت زمان لازم برای شناسایی نمونه‌ها به حداقل خواهد رسید. ثانیا، استفاده از روش سنجش الکتروشیمیایی امکان تعمیم و توسعه حسگر ساخته شده به تجهیزات قابل حمل را فراهم خواهد نمود [۷۱].

کاربردهای پزشکی آپتامر

در حیطه علوم پزشکی نیز آپتامرها به عنوان ترکیباتی کارآمد مورد توجه دانشمندان قرار گرفته‌اند. ماکوجین[3] و مهارکننده E2F اولین داروهایی هستند که با تکنولوژی بر پایه آپتامر تهیه شده‌اند [۷۲، ۷۳]. مهارکننده E2F در کاهش پرولیفراسیون قلبی- عروقی و ماکوجین در درمان استحاله وابسته به سن ماکولا[4] موثر است. این دو دارو هم‌اکنون در حال طی کردن مرحله سوم آزمونهای بالینی هستند. اگر چه تعداد داروهای ساخته شده با تکنولوژی آپتامر از نظر عددی آنچنان قابل ملاحظه نیستند، با این حال، آپتامرها در زمینه‌های تشخیصی در علوم پزشکی بسیار نوید بخش بوده‌اند. از آنجا که آپتامرها تارگتهای پروتئینی را در محدوده‌های زیر نانومولار نیز شناسایی می‌کنند، شناسایی بیومارکرهای بیماریهای مختلف به کمک آپتاحسگرها، امیدهای زیادی را در راستای تشخیص بیماریهای صعب‌العلاج در مراحل بسیار اولیه که هنوز بیماری گسترش نیافته و به راحتی قابل درمان است، پدید آورده است. این موضوع به ویژه در مورد سرطان که نسبت به سایر بیماریها پیچیدگی و مخاطرات به مراتب بیشتری دارد، مشهود است [۷۶-۷۴]. آپتاحسگر ساخته شده برای شناسایی هم‌زمان ترومبین[5] و لیزوزیم[6] بهترین مثال در این مورد است [۷۷]. این حسگر با مکانیسمی تقریبا شبیه به الایزا[7] عمل می‌کند. استفاده از نقاط کوانتومی[8]، به عنوان ذراتی که توانایی ایجاد یک پیک الکتروشیمیایی را از خود بروز می‌دهند، به عنوان نکته قوت دیگر در ساخت این آپتاحسگر بیان می‌شود، به‌طوریکه این حسگر بسیار حساس عمل کرده و توانایی تشخیص تارگتها را با دقت و حساسیتی قابل تامل و در محدوده ۰/۵ پیکومولار، داراست. این ویژگی در نمونه‌های مخلوط نیز به خوبی مشهود بوده است. توانایی سنجش در محدوده غلظتهایی به این کوچکی، در آینده می تواند در تشخیص بیومارکرهای اولیه بیماریها که معمولا با غلظت بسیار کم در دستگاه گردش خون وجود دارند، مثمر ثمر بوده و روند تشخیص بیماری در مراحل

[1]Ricin, [2]Butulinum, [3]Macugen, [4]age-ralated maculardegenaration, [5]Thrombin, [6]Lysozyme, [7]ELIZA, [8]Quantum-dot

Journal of Police Medicine
Fall 2012; Vol. 1, No. 2: 125-135

بسیار اولیه را مقدور سازد.

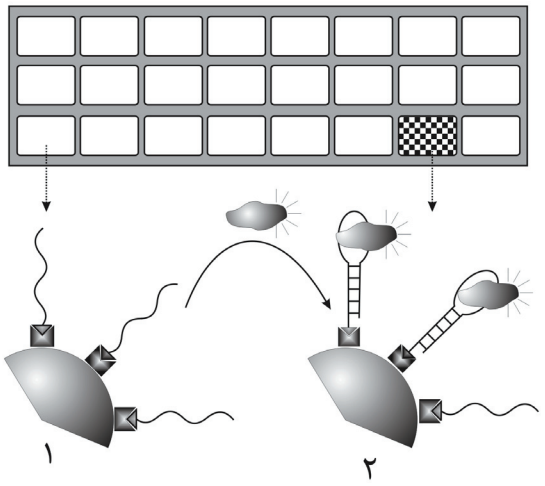
دورنمای کاربرد آپتامر در ماموریتهای پلیس

اگر چه دانش آپتامر تقریبا در ابتدای راه است و جز معدودی، سایر مطالعات تنها در محیط آزمایشگاه انجام پذیرفته‌اند، پتانسیل بالای آپتامرها در حیطه علوم مختلف نوید آینده‌ای پر بار برای این رشته را متصور می‌شود. در حال حاضر، تحقیقاتی که بر روی آپتاحسگرها صورت می‌پذیرد مانند سایر روشهای تشخیصی به ابزار تشخیصی خاص نظیر روشهای سنجش نوری، الکتروشیمیایی یا سایر موارد وابسته است [۸۱-۷۸]، اما باید در نظر داشت که این حیطه در آغاز راه است. کاربردهای آپتامر به ویژه در نیروی پلیس می‌تواند بسیار موثر و چشمگیر باشد. ساخت کیتهای نواری آپتامری که به اختصار آپتااستریپ[1] نیز خوانده می‌شوند، می‌تواند جایگزین کیتهای نواری آنتی‌بادیایی فعلی شوند. از آنجا که اندازه آپتامرها از آنتی‌بادیها بسیار کوچکتر است، این ترکیبات به صورت فشرده تر بر سطح الکترود یا کیت تثبیت خواهند شد و حساسیت کیت را بالاتر خواهند برد [۸۲، ۸۳]. تاکنون نمونه‌هایی از آپتااستریپها برای تشخیص موادی چون سرب و آدنوزین طراحی و ساخته شده‌اند [۸۶-۸۴]. اصول کلی عملکرد این کیتها تقریبا شبیه به عملکرد کیتهای نواری آنتی‌بادیایی است. به این شکل که تغییر رنگ ایجاد شده در حضور تارگت، شاخصی برای حضور آن شمرده می‌شود. مهمترین نکته بارز و قابل توجه آپتااستریپها این است که برای مشاهده پاسخ این نوع کیتها دیگر نیازی به مبدل نخواهد بود و پاسخ حسگر به صورت بصری و بدون واسطه جزء اضافی قابل رویت است. این نوع کیتها در حیطه مواد مخدر بسیار کاربرد خواهند داشت. همانگونه که در مورد حسگر الکتروشیمیایی ساخته شده برای کدئین گزارش شده‌است، حسگر مقادیر بسیار پایینی از تارگت خود را سنجش خواهد نمود، به‌طوریکه این مقادیر بسیار پایینتر از محدوده سنجش شده توسط کیتهای آنتی‌بادیایی است (کمتر از ۱۰ نانومولار در مقابل ۳۰۰ نانومولار) [۱۰، ۴۲، ۴۳]. به علاوه واکنش متقاطع در مورد این کیتها با مولکولهای مشابه به حداقل خواهد رسید، زیرا آپتامرها قابلیت افتراق بین مولکولی فوق‌العاده‌ای از خود نشان داده‌اند [۸۷].

نقطه مثبت دیگر در خصوص آپتاسنسورها، قابلیت تولید آرایه‌های آپتامری[2] است. به این معنا که به صورت هم‌زمان می‌توان آپتامرهای متفاوتی که هر یک برای یک تارگت خاص اختصاصی هستند را بر روی یک بستر تثبیت کرد (شکل ۳) [۸۸]. این بستر از نظر ظاهری به شکل یک جدول است و محدوده هر خانه از آن با مختصات خاصی که شامل یک شماره ردیف و یک شماره ستون است، مشخص می‌شود. در هر یک از خانه‌های این جدول، آپتامر اختصاصی برای تارگت مشخصی تثبیت می‌شود. به این ترتیب حسگری به شکل ماتریس ساخته خواهد شد که هر مختصات از آن می‌تواند حضور یک تارگت خاص را شناسایی کند. استفاده از ترکیبات فلورسانت امکان ردیابی تارگت متصل شده به آپتامر را مقدور می‌سازد [۳۸، ۸۹].

از آنجا که در دنیای واقعی نمونه‌های موجود همواره به شکل مخلوط و نامشخص هستند، آرایه‌های آپتامری می‌توانند به عنوان نقطه عطفی در ماموریتهای تشخیصی پلیس مطرح شوند. با تثبیت همزمان آپتامرهای اختصاصی مواد مخدر و روان‌گردن مختلف بر روی یک سطح و تهیه یک آرایه آپتامری، می‌توان تنها در یک مرحله، از کیفیت نمونه مورد آزمایش مطلع شد. با روشی مشابه، حضور سموم یا عوامل مورد استفاده در بیوتروریسم به سرعت مورد تجزیه و تحلیل قرار خواهند گرفت و تعمیم این روش به سایر ماموریتهای پلیس نیز بسیار راه‌گشا خواهد بود.

اما در این راستا محدودیتهایی نیز وجود دارد. مهمترین مشکل در کار با آپتامرها، حساست بسیار بالای این ترکیبات به آنزیمهای تخریب کننده زنجیره‌های نوکلئوتیدی موسوم به نوکلئازهای می‌باشد. از آنجا که نوکلئازها تقریبا در همه جا حضور دارند، رشته‌های آپتامری به راحتی در محیط حاوی نوکلئاز تخریب



شکل ۳. تصویر شماتیک از یک آرایه آپتامری.
در هر یک از خانه‌های آرایه، یک آپتامر مشخص تثبیت شده است. (۱) در غیاب تارگت، مختصات مربوط به آپتامر خاص از خود هیچ سیگنالی متصاعد نمی‌کند. (۲) به محض اضافه کردن تارگت نشاندار به محیط، سیگنال فلورسانت در مختصات مربوطه قابل مشاهده خواهد بود.

[1]Aptastrip, [2]Aptamer array

می‌شوند. برای رفع این مشکل از بازهای آلی اصلاح شده که در آنها از شاخه‌های ۲–فلورو یا ۲–اکسی‌متیل استفاده شده، کمک گرفته می‌شود [۹۰، ۹۱] اما این تغییرات، قیمت آپتامرها ساخته شده را به مقدار قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهند. مشکل دیگر، تثبیت آپتامرهای متفاوت بر روی یک سطح واحد است. از آنجا که معمولا آپتامرها از کتابخانه‌های آپتامری متفاوتی جدا می‌شوند و هر یک طول زنجیره‌ای متفاوت دارد، تثبیت همزمان آنها بر روی یک سطح واحد می‌تواند از کارایی موثر حسگر ساخته شده بکاهد [۸۳]. با این وجود، حرکت در زمینه آپتامرها به سرعت در حال پیشرفت است و بی‌تردید آپتامرها در سالهای آینده در زمینه تشخیصی جایگاه ویژه و منحصر به فردی خواهند داشت.

منابع

1. Meririnne E, Myken S, Lillsunde P, Kuoppasalmi K, Lerssi R, Laaksonen I, et al. Workplace drug testing in a military organization: Results and experiences from the testing program in the Finnish Defence Forces. Forensic Sci Int 2007; 170: 171-174.

2. Tagliaro F, Smith FP, De-Battisti Z, Manetto G, Marigo M. Hair analysis, a novel tool in forensic and biomedical sciences: new chromatographic and electrophoretic/electrokinetic analytical strategies. J Chromatogr B 1997; 689: 261-271.

3. Bogan J, Smith H. Analytical investigations of barbiturate poisoning: Description of methods and a survey of results. J Forensic Sci Soc 1967; 7: 37-45.

4. Ishii A, Hattori H, Seno H, Kumazawa T, Suzuki O. Sensitive detection of strychnine in biological samples by gas chromatography with surface ionization detection. J Forensic Sci 1995; 40: 483-485.

5. Hattori H, Yamada T, Suzukib O. Gas chromatography with surface ionization detection in forensic analysis. J Chromatogr A 1994; 674: 15-23.

6. Watanabe K, Hattori H, Nishikawa M, Ishii A, Kumazawa T, Seno H, et al. Simultaneous determination of cocaethylene and cocaine in blood by gas chromatography with surface ionization detection. Chromatographia 1997; 44: 55-58.

7. Menezes ML, Sanchez A, Martins PR, Garcia MAZ, Cardoso AA, Lessi P, et al. Determinacion by direct injection into HPLC of cocaine, in urine samples, cocaine and crack unit samples. Salusvita 2000; 19: 81-88.

8. Wilhelm M, Battista HJ, Obendorf D. HPLC with simultaneous UV and reductive electrochemical detection at the hanging mercury drop electrode: a highly sensitive and selective tool for the determination of benzodiazepines in forensic samples. J Anal Toxicol 2001; 25: 250-257.

9. Ding XD, Krull IS. Trace analysis for organothiophosphate agricultural chemicals by high-performance liquid chromatography-photolysis-electrochemical detection. J Agr Food Chem 1984; 32: 622-628.

10. Hajhashemi V, Minaiyan M, Saberian M. In vitro and in vivo interaction of oral contraceptive high dose (HD) with urine morphine diagnostic test. Physiol Pharmacol 2007; 11: 68-75. (Persian)

11. Palchetti I, Mascini M. Electroanalytical biosensors and their potential for food pathogen and toxin detection. Anal Bioanal Chem 2008; 391: 455-471.

12. Jayasena SD. Aptamers: An emerging class of molecules that rival antibodies in diagnostics. Clin Chem 1999; 45: 1628-1650.

13. Lee JO, So HM, Jeon EK, Chang H, Won K, Kim YH. Aptamers as molecular recognition elements for electrical nanobiosensors. Anal Bioanal Chem 2008; 390: 1023-1032.

14. Mairal T, Cengizuzalp V, Lozano S, Enchez P, Mir M, Katakis I, et al. Aptamers: Molecular tools for analytical applications. Anal Bioanal Chem 2008; 390: 989-1007.

15. Iqbal SS, Mayo MW, Bruno JG, Bronk BV, Batt CA, Chambers JP. A review of molecular recognition technologies for detection of biological threat agents. Biosens Bioelectron 2000; 15: 549-578.

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

17. Peter HK, Leo JF, Hans A.H. Is there a special function for U.G basepairs in ribosomal RNA. Biochim Biophys Acta 1990; 1050: 14-17.

18. Jeremy MB, Joun LT, Lubert St: Biochemistry. 5th ed. New York. W.H. Freeman and Company 2002.

19. Gabriele V, William HM. The G.U wobble base pair: A fundamental bulding block of RNA structure crucial to RNA function in diverse biological systems. EMBO reports 2000; 1: 18-23.

20. Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. Nature 1990; 346: 818-822.

21. Ellington AD, Szostak JW. Selection in vitro of single-stranded DNA molecules that fold into specific ligand-binding structures. Nature 1992; 355: 850-852.

22. Jenison RD, Gill SC, Pardi A, Polisky B. High-resolution molecular discrimination by RNA. Science 1994; 263: 1425-1429.

23. Rye PD, Nustad K. Immunomagnetic DNA aptamer assay. Biotechniques 2001; 30: 290-295.

24. Hicke BJ, Stephens AW. Escort aptamers: a delivery service for diagnosis and therapy. J Clin Invest 2000; 106: 923-928.

25. Crawford M, Woodman R, Ferrigno PK. Peptide ap-

using a direct coupling surface plasmon resonance assay. Nucleic Acids Res 2006; 34: 5670-5682.

42. Saberian M, Hamzeiy H, Aghanejad A, Asgari D. Aptamer-based nanosensors: Juglone as an attached-redox molecule for detection of small molecules. BioImpacts 2011; 1: 31-36.

43. Saberian M, Asgari D, Omidi Y, Hamzeiy H. Study of aptamer-attached Juglone in different pH ranges and ionic concentrations of buffers. Iranian J Pharmaceutic Sci 2012; 8: 119-126.

44. Stevenson B. Drug Policy, Criminal justice and mass imprisonment. Geneva: Global Commission on Drug Policy 2011.

45. Kanchan T, Menezes RG. Suicidal poisoning in Southern India, Gender differences. J Forensic Leg Med 2008; 15: 7-14.

46. Cruickshank J, Ragg M, Eddey D. Warfarin toxicity in the emergency department: recommendations for management. Emergen Med 2001; 13: 91-97.

47. Weakley-Jones B, Gerber JE, Biggs G. Colchicine poisoning: case report of two homicides. Ame J Foren Med Path 2001; 22: 203-206.

48. Sapsford KE, Granek J, Deschamps JR, Boeneman K, Blanco-Canosa JB, Dawson PE, et al. Monitoring botulinum neurotoxin a activity with peptide-functionalized quantum dot resonance energy transfer sensors. Acs Nano 2011; 5: 2687-2699.

49. Grate JW, Ozanich RM, Warner MG, Bruckner-Lea CJ, Marks JD. Advances in assays and analytical approaches for botulinum-toxin detection. TrAC-Trend Anal Chem 2010; 29: 1137-1156.

50. McGrath SC, Schieltz DM, McWilliams LG, Pirkle JL, Barr JR. Detection and quantification of ricin in beverages using isotope dilution tandem mass spectrometry. Anal Chem 2011; 83: 2897-2905.

51. Kiani Z, Shafiei M, Rahimi-Moghaddam P, Karkhane AA, Ebrahimi SA. In vitro selection and characterization of deoxyribonucleic acid aptamers for digoxin. Anal Chim Acta 2012; 748: 67-72.

52. Ferapontova EE, Olsen EM, Gothelf KV. An RNA aptamer-based electrochemical biosensor for detection of theophylline in serum. J Am Chem Soc 2008; 130: 4256-4258.

53. Rankin CJ, Fuller EN, Hamor KH, Gabarra SA, Shields TP. A simple fluorescent biosensor for theophylline based on its RNA aptamer. Nucleos Nucleot Nucl 2006; 25: 1407-1424.

54. Weider B, Fournier JH. Activation analyses of authenticated hairs of Napoleon Bonaparte confirm arsenic poisoning. Am J Foren Med Path 1999; 20: 378-382.

55. Olsen V, Morland J. Arsenic poisoning. Tidsskr Nor Laegeforen 2004; 124: 2750-2753.

tamers: tools for biology and drug discovery. Brief Funct Genomic Proteomic 2003; 2: 72-79.

26. Tombelli S, Minunni M, Mascini M. Aptamers-based assays for diagnostics, environmental and food analysis. Biomol Eng 2007; 24: 191-200.

27. Ogawa A, Tomita N, Kikuchi N, Sando S, Aoyama Y. Aptamer selection for the inhibition of cell adhesion with fibronectin as target. Bioorg Med Chem Lett 2004; 14: 4001-4004.

28. Berens C, Thain A, Schroeder R. A tetracycline-binding RNA aptamer. Bioorgan Med Chem 2001; 9: 2549-2556.

29. Chang TW, Blank M, Janardhanan P, Singh BR, Mello C, Blind M, et al. In vitro selection of RNA aptamers that inhibit the activity of type A botulinum neurotoxin. Biochem Biophys Res Commun 2010; 396: 854-860.

30. Cho EJ, Lee JW, Ellington AD. Applications of aptamers as sensors. Annu Rev Anal Chem 2009; 2: 241-264.

31. Proske D, Blank M, Buhmann R, Resch A. Aptamers-Basic research, drug development, and clinical applications. Appl Microbiol Biot 2005; 69: 367-374.

32. Deng Q, Watson CJ, Kennedy RT. Aptamer affinity chromatography for rapid assay of adenosine in microdialysis samples collected in vivo. J Chromatogra A 2003; 1005: 123-130.

33. Clark SL, Remcho VT. Aptamers as analytical reagents. Electrophoresis 2002; 23: 1335-1340.

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

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

36. Strehlitz B, Stoltenburg G. SELEX and its recent optimisations. In: Aptamers in bioanalysis. Edited by Mascini M. New Jersey, John Wiley & Sons, INC, 2009, 31-61.

37. Baker BR, Lai RY, Wood MS, Doctor EH, Heeger AJ, Plaxco KW. An electronic, aptamer-based small-molecule sensor for the rapid, label-free detection of cocaine in adulterated samples and biological fluids. J Am Chem Soc 2006; 128: 3138-3139.

38. Stojanovic MN, De-Prada P, Landry DW. Aptamer-based folding fluorescent sensor for cocaine. J Am Chem Soc 2001; 123: 4928-4931.

39. Stojanovic MN, Landry DW. Aptamer-based colorimetric probe for cocaine. J Am Chem Soc 2002; 124: 9678-9679.

40. Ebrahimi M, Johari-Ahar M, Hamzeiy H, Barar J, Mashinchian O, Omidi Y. Electrochemical impedance spectroscopic sensing of methamphetamine by a specific aptamer. Bioimpacts 2012; 2: 91-95.

41. Win MN, Klein JS, Smolke CD. Codeine-binding RNA aptamers and rapid determination of their binding constants

56. Kim M, Um HJ, Bang SB, Lee SH, Oh SJ, Han JH, at al. Arsenic removal from Vietnamese groundwater using the arsenic-binding DNA aptamer. Environ Sci Technol 2009; 43: 9335-9340.

57. McDade JE, Franz D. Bioterrorism as a public health threat. Emerg Infect Dis 1998; 4: 488-492.

58. Cohen HW, Gould RM, Sidel VW. Bioterrorism initiatives: public health in reverse. Am J Public Health 1999; 89: 1629-1631.

59. Noah DL, Noah DL, Crowder HR. Biological terrorism against animals and humans: a brief review and primer for action. J Am Vet Med Assoc 2002; 221: 40-43.

60. Bruno JG, Kiel JL. In vitro selection of DNA aptamers to anthrax spores with electrochemiluminescence detection. Biosens Bioelectron 1999; 14: 457-464.

61. Choi JS, Kim SG, Lahousse M, Park HY, Park HC, Jeong B, et al. Screening and characterization of high-affinity ssDNA aptamers against anthrax protective antigen. J Biomol Screen 2011; 16: 266-271.

62. Joshi R, Janagama H, Dwivedi HP, Senthil-Kumar TMA, Jaykus LA, Schefers J, et al. Selection, characterization, and application of DNA aptamers for the capture and detection of Salmonella enterica serovars. Mol Cell Probe 2009; 23: 20-28.

63. Mousavi SL, Masoodi E. Aptamers from whole bacterium SELEX detect Shigella Sonnei from different species by enzyme-linked aptamer sorbent assay. International Congress on Biological Invasions 2009.

64. So HM, Park DW, Jeon EK, Kim YH, Kim BS, Lee CK, et al. Detection and titer estimation of Escherichia coli using aptamer functionalized single walled carbon nanotube field effect transistors. Small 2008; 4: 197-201.

65. Lee HJ, Kim BC, Kim KW, Kim YK, Kim J, Oh MK. A sensitive method to detect Escherichia coli based on immunomagnetic separation and real-time PCR amplification of aptamers. Biosens Bioelectron 2009; 24: 3550-3555.

66. Fan S, Wu F, Martiniuk F, Hale ML, Ellington AD, Tchou-Wong KM. Protective effects of anti-ricin A-chain RNA aptamer against ricin toxicity. World J Gastroentero 2008; 14: 6360-6365.

67. Tang J, Xie J, Shao N, Guo L, Yan Y. Capillary electrophoresis as a tool for screening aptamer with high affinity and high specificity to ricin. Chem J Chinese U 2006; 27: 431-435.

68. Cai S, Singh BR. Strategies to design inhibitors of clostridium botulinum neurotoxins. Infec Disor Drug Target 2007; 7: 47-57.

69. Wei F, Ho CM. Aptamer-based electrochemical biosensor for Botulinum neurotoxin. Anal Bioanal Chem 2009; 393: 1943-1948.

70. CW agent FRET-aptamer spray and compact scanner. Available online in 20 Novemer 2012 at: http://www.sbir.gov/ sbirsearch/ detail/ 256591.

71. Ehrentreich-Ferster E, Orgel D, Krause-Griep A, Cech B, Erdmann VA, Bier F, et al. Biosensor-based on-site explosives detection using aptamers as recognition elements. Anal Bioanal Chem 2008; 391: 1793-1800.

72. Vavvas D, D'Amico DJ. Pegaptanib (Macugen): treating neovascular age-related macular degeneration and current role in clinical practice. Ophthalmol Clinic North Am 2006; 19: 353-360.

73. Nimjee SM, Rusconi CP, Sullenger BA. Aptamers: An emerging class of therapeutics. Annu Rev Med 2005; 56: 555-583.

74. Li Y, Lee HJ, Robert M. Detection of protein biomarkers using RNA aptamer microarrays and enzymatically amplified surface plasmon resonance imaging. Anal Chem 2007; 79: 1082-1088.

75. Phillips JA, Lopez-Colon D, Zhu Z, Xu Y, Tan W. Applications of aptamers in cancer cell biology. Anal Chim Acta 2008; 621: 101-108.

76. Tang Z, Shangguan D, Wang K, Shi H, Sefah K, Mallikratchy P, et al. Selection of aptamers for molecular recognition and characterization of cancer cells. Anal Chem 2007; 79: 4900-4907.

77. Hansen JA, Wang J, Kawde AN, Xiang Y, Gothelf KV, Collins G. Quantum-dot/aptamer-based ultrasensitive multi-analyte electrochemical biosensor. J Am Chem Soc 2006; 128: 2228-2229.

78. Willner I, Zayats M. Electronic aptamer-based sensors. Angew Chem Int Edit 2007; 46: 6408-6418.

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

80. Tombelli S, Minunni M, Mascini M. Analytical applications of aptamers. Biosens Bioelectron 2005; 20: 2424-2434.

81. Xu Y, Cheng G, He P, Fang Y. A review: Electrochemical aptasensors with various detection strategies. Electroanalysis 2009; 21: 1251-1259.

82. Strehlitz B, Nikolaus N, Stoltenburg R. Protein detection with aptamer biosensors. Sensors 2008; 8: 4296-4307.

83. Rowe W, Platt M, Day PJR. Advances and perspectives in aptamer arrays. Integrative Biol 2009; 1: 53-58.

84. Liu J, Mazumdar D, Lu Y. A simple and sensitive "dipstick" test in serum based on lateral flow separation of aptamer-linked nanostructures. Angew Chem Int Edit 2006; 45: 7955-7959.

85. Mazumdar D, Liu J, Lu G, Zhou J, Lu Y. Easy-to-use dipstick tests for detection of lead in paints using non-cross-linked gold nanoparticle-DNAzyme conjugates. Chemi Commun 2010; 46: 1416-1418.

86. Xu H, Mao X, Zeng Q, Wang S, Kawde AN, Liu G. Aptamer-functionalized gold nanoparticles as probes in a dry-reagent strip biosensor for protein analysis. Anal Chem 2008; 81: 669-675.

87. Jenison RD, Gill SC, Pardi A, Polisky B. High-resolution molecular discrimination by RNA. Science 1994; 263: 1425-1429.

88. McCauley TG, Hamaguchi N, Stanton M. Aptamer-based biosensor arrays for detection and quantification of biological macromolecules. Anal Biochem 2003; 319: 244-250.

89. Babendure JR, Adams SR, Tsien RY. Aptamers switch on fluorescence of triphenylmethane dyes. J Am Chem Soc 2003; 125: 14716-14717.

90. Kawasaki AM. Uniformly modified 2'-deoxy-2'-fluoro phosphorothioate oligonucleotides as nuclease resistant antisense compounds with high affinity and specificity for RNA targets. J Med Chem 1993; 36: 831-841.

91. Goringer HU, Adler A, Forster N, Homann M. Post-SELEX chemical optimization of a trypanosome-specific RNA aptamer. Com Chem High T Scr 2008 ;11: 16-23.