

# Aptamerlerin Terapötik Uygulamaları

## Therapeutic Applications of Aptamers

 Ezgi MAN<sup>a</sup>,  
 Serap EVRAN<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi,  
Biyokimya Bölümü,  
İzmir, Türkiye

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Serap EVRAN  
Ege Üniversitesi Fen Fakültesi,  
Biyokimya Bölümü,  
İzmir, Türkiye  
serap.evran@ege.edu.tr

**ÖZET** Nükleik asit aptamerleri hedeflerine yüksek spesifiklik ve afinite ile bağlanabilen tek iplikli DNA veya RNA molekülleridir. Antikorlar ile benzer bağlanma özelliklerine sahip olan aptamerler, sahip oldukları çeşitli avantajlar nedeni ile antikorlara üstünlük sağlamaktadır. Aptamerler, kimyasal antikorlar olarak da isimlendirilmektedir. Aptamerler, antikorlardan farklı olarak non-immünojenik hedeflere karşı geliştirilebilir ve kimyasal sentez ile üretilir. Aptamerler düşük maliyet, kimyasal modifikasyon kolaylığı, transport için soğuk zincir gerektirmeme, lotlar arası farklanma görülmemesi ve düşük immünojenite gibi özellikleri nedeni ile antikorlara alternatif moleküllerdir. Kanser, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar gibi çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisinde, moleküler görüntüleme veya ilaçların hedefli taşınımı için aptamer tabanlı yaklaşımlar ilgi çekmektedir. Bununla birlikte, nükleaz degradasyonu, toksisite ve renal filtrasyon aptamerlerin terapötik olarak kullanımını sınırlayan faktörlerdir. Bu sorunların çözümü için aptamer yapısında kimyasal modifikasyonlar gerçekleştirilmektedir. Aptamerlerin ilaç endüstrisindeki payı antikorlara kıyasla oldukça sınırlı olmakla birlikte, aptamerler gelecekteki terapötik uygulamalar için umut verici moleküllerdir.

**Anahtar Kelimeler:** Tanısal görüntüleme; aptamerler, nükleotid

**ABSTRACT** Nucleic acid aptamers are single-stranded DNA or RNA molecules that can bind their targets with high affinity and specificity. Aptamers show antibody-like binding properties and are superior to antibodies as they confer some advantages. Aptamers are also called chemical antibodies. Unlike antibodies, aptamers can be developed against non-immunogenic targets and produced by chemical synthesis. Aptamers are alternative to antibodies due to their low cost, ease of chemical modification, no need for cold chain to transport, no lot to lot difference, and low immunogenicity. Aptamer-based approaches attract interest in diagnosis and therapy of diseases such as cancer, bacterial and viral infections, as well as in molecular imaging and targeted drug delivery. However, nuclease degradation, toxicity, and renal filtration are factors that limit the therapeutic use of aptamers. Chemical modifications on the aptamer structure are performed to solve those problems. Although the share of aptamers in pharmaceutical industry is limited compared to antibodies, aptamers are promising molecules for future therapeutic applications.

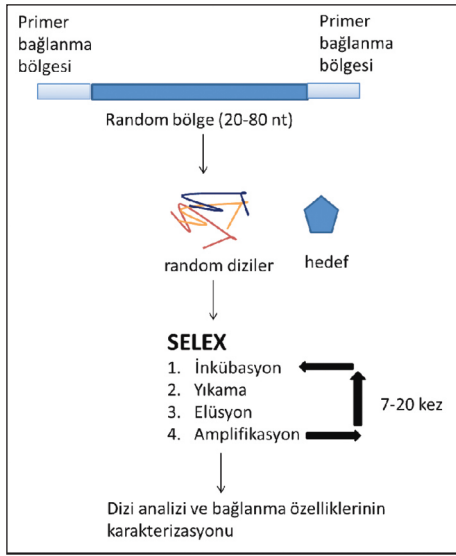
**Keywords:** Diagnostic imaging; aptamers, nucleotide

## APTAMERLER VE SELEX TEKNOLOJİSİ

Aptamerler hedeflerine yüksek spesifiklik ve afinite ile bağlanabilen tek iplikli DNA veya RNA molekülleridir. Aptamerlerin spesifik bir üç boyutlu yapıya sahip olmaları hedeflerine bağlanmalarında kritik öneme sahiptir.<sup>1</sup> Aptamerlerin hedefe bağlanmalarında yapı uyumluluğu, aromatik halkaların istiflenmesi, Van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağı, elektrostatik etkileşimler gibi non-kovalent etkileşimler rol oynamaktadır.<sup>2</sup> Aptamerler SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) adı verilen bir proses ile geliştirilirler.<sup>3,4</sup> İlk aptamer 1990 yılında iki farklı grup tarafından tanımlanmıştır.<sup>5,6</sup> Bu tarihten itibaren pek çok farklı hedef için aptamer geliştirilmiştir. Bu hedefler arasında küçük moleküller, proteinler, canlı hücreler ve dokular yer almaktadır.<sup>7-10</sup> Şekil 1'de şematize edildiği gibi, SELEX yönteminde, 20-

### KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:

Man E, Evran S. Aptamerlerin terapötik uygulamaları. Koçdor H, Pabuçcuoğlu A, Zihnioğlu F, Sağın F, editörler. Sağlık Biyoteknolojisi. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2022. p.45-50.



ŞEKİL 1: SELEX akış şeması.

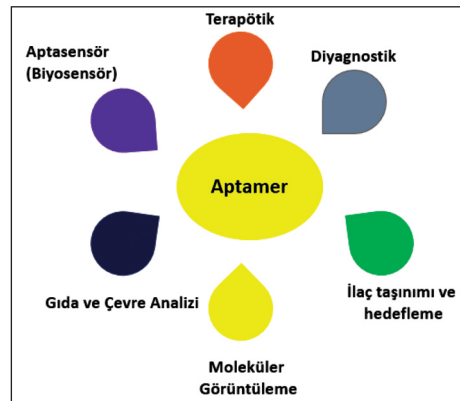
80 nükleotidlik rastgele bir bölge ile bu bölgenin 5' ve 3' uçlarında sabit primer bağlanma bölgeleri içeren tek iplikli DNA (ssDNA) veya RNA kütüphanesi kullanılır. Random dizilerden oluşan başlangıç kütüphanesindeki toplam dizi sayısı  $10^{12}$ - $10^{15}$  arasında değişmektedir. SELEX'in ilk turunda random kütüphane ve hedef uygun koşullarda inkübe edilir. Ardından, hedefe bağlanmayan diziler uzaklaştırılır. Hedefe bağlı diziler elüe edilir ve ssDNA durumunda PCR ile, RNA durumunda RT-PCR ile çoğaltılır. Bu döngü 7-20 kez tekrar edilir. İlerleyen SELEX turlarında hedefe bağlanan nükleotid dizilerinde bir zenginleşme gerçekleşene kadar prosese devam edilir. Sonuçta, hedefe yüksek spesifiklik ve afinite ile bağlanabilen aptamerler elde edilir. Hedefe bağlanan diziler için dizi analizi gerçekleştirilir ve aptamerlerin bağlanma özellikleri karakterize edilir.<sup>11</sup>

Aptamerler, antikorlar ile benzer bağlanma özellikleri gösterirler ve antikorlara kıyasla pek çok avantaja sahiptirler.<sup>12</sup> Nükleik asit yapılı aptamerler antikorlardan farklı olarak kimyasal sentez ile üretilebilir ve hedefe spesifik aptamerlerin seçimi için *in vitro* bir proses kullanılır. Antikor üretiminde ise canlıda bağışıklık tepkisine ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun yanında, hedef molekül hem immünojenik hem de non-toksik olmalıdır.<sup>13</sup> Aptamerlerin geliştirilme sürecinde hayvanlara, hücrelere veya *in vivo* koşullara ihtiyaç duyulmaz. İmmünojenik olmayan küçük moleküllere karşı da spesifik aptamerlerin geliştirilmesi mümkündür. Diğer bir üstünlük, aptamerlerin protein yapılı antikorlar için uygun olmayan koşullarda kararlı olması ve transport için soğuk zincir gerektirmemesidir. Düşük immünojenite ve düşük toksisite özelliklerine sahip aptamer-

ler, canlı sistemler için güvenli moleküllerdir. Antikorlar ise canlıda negatif bir immün yanıtı neden olabilirler. Aptamerler küçük moleküllerdir ve doku bariyerlerine etkili bir şekilde nüfuz edebilirler; hücre içi ve yüzeyinde etkili olarak kullanım potansiyeline sahiptirler.<sup>14</sup> Aptamerler, tüm bu üstün özellikleri ile antikorlara mükemmel alternatiflerdir. Son yıllarda aptamerler ve SELEX teknolojisi çok daha fazla ilgi görmektedir.<sup>15</sup> Aptamerler biyomedikal alanda, özellikle kanser ve bulaşıcı hastalıkların tanı ve tedavisinde giderek daha fazla kullanılmaktadır. Şekil 2'de aptamerlerin bazı kullanım alanları özetlenmiştir.

## MOLEKÜLER GÖRÜNTÜLEMEDE APTAMERLER

Moleküler görüntüleme gen ekspresyonu, moleküler trafik, lokalizasyon ve moleküler etkileşimler gibi farklı moleküler olayları incelemek amacı ile yaygın olarak uygulanmaktadır.<sup>16</sup> Moleküler görüntülemede belirli bir hedefin veya biyolojik sürecin izlenmesi için spesifik problemlardan yararlanılır. Bu görüntüleme problemleri, bir fizyolojik süreci veya hücre biyobelirteçleri hedefleyerek işlev görür. Görüntüleme probu, hücre biyobelirteçlere yüksek hassasiyet, spesifiklik ve afinite ile bağlanabilmeli ve biyolojik hedefleme özelliğine sahip olmalıdır. Aptamerler sahip oldukları özellikler nedeni ile moleküler görüntülemede kullanım potansiyeli yüksek moleküllerdir.<sup>17</sup> Moleküler görüntülemede genellikle spesifik antijenleri hedefleyen antikorlar veya bunların türevleri kullanılır. Bununla birlikte, hedef spesifikliği ve kararlılık açısından, aptamerler prob olarak kullanım için ideal özelliklere sahiptirler.<sup>18</sup> Aptamer tabanlı problemler kullanılarak çeşitli hastalık belirteçlerinin non-invazif görüntülenmesi, lezyon tespiti, hasta sınıflandırması, yeni ilaç geliştirme/doğrulama, tedavi izleme, doz optimizasyonu gibi birçok potansiyel klinik uygulama gerçekleştirilebilir. Aptamer tabanlı moleküler görüntüleme, giderek gelişen bir araştırma ala-



ŞEKİL 2: Aptamerlerin bazı kullanım alanları.

nıdır.<sup>19</sup> Moleküler görüntülemeye ilişkin temel akış şeması Şekil 3'te şematize edilmiştir.

Optik görüntüleme (floresans ve biyoluminesans), manyetik rezonans görüntüleme (MRI), pozitron emisyon tomografisi (PET), tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi (SPECT), bilgisayarlı tomografi (CT) ve ultrason (US), kanserin tespiti, karakterizasyonu ve terapötik müdahale sonrası yanıtların değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. *In vivo* görüntüleme amacı ile, DNA aptamerleri (anti-nükleolin, anti-MUC1, anti EGFRvIII, kanser hücrelerine spesifik aptamerler) ve RNA aptamerleri (anti-PSMA aptamer), prob olarak prelinik aşamada başarı ile kullanılmıştır.<sup>20</sup> Bu nedenle, aptamerler hastalığa özgü hedefleri ayırt etmek için hedefli görüntüleme ajanları olarak klinikte büyük bir potansiyele sahiptir. Örneğin, HER2'yi ifade eden hücrelere spesifik olarak bağlanan <sup>18</sup>F etiketli aptamerler, BT474 farelerinin *in vivo* PET taramasında başarı ile kullanılmıştır.<sup>21</sup>

SPECT-CT ve PET-CT birçok klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında, aptamerleri de kapsayacak şekilde PET-MRI, SPECT-MRI, floresan PET ve US-PET gibi yeni görüntüleme yaklaşımlarının oluşturulması mümkündür. Yapılan çalışmalar, aptamerlerin hedef bölgelerde hızlı birikim göstererek uygun ve doğru hedef-arka plan sinyalleri verdiğini göstermektedir. Aptamer temelli moleküler görüntüleme, doğru tanı için umut verici bir yaklaşımdır.<sup>22</sup> Aptamerler, kanserli ve normal dokuların ayırt edilmesinde başarı ile kullanılmıştır.<sup>23</sup>

## ANTİ-BAKTERİYEL VE ANTİ-VİRAL TEDAVİDE APTAMERLER

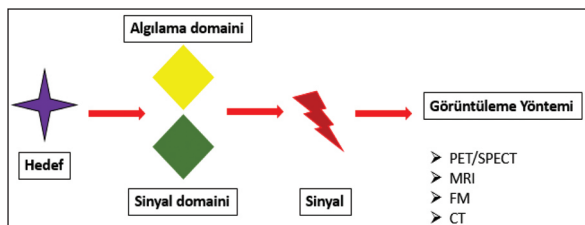
Bulaşıcı hastalıkların tedavisindeki ilerlemelere rağmen, kullanılan ilaçların yan etki göstermesi ve ilaç direnci gibi sorunlar mevcuttur.<sup>24</sup> Patojenlere veya virülans faktörlerine karşı geliştirilen aptamerler, yeni terapötik yaklaşımlar için önemli bir potansiyele sahiptir. Bunun yanında, aptamerler geleneksel antibiyotiklere kıyasla daha az yan etkiye sahip basit ve ucuz terapötik ajanlardır.<sup>25</sup> Pandemiye neden olabilecek enfeksiyonlar büyük küresel riskleri beraberinde ge-

tirmektedir ve bu gibi durumlarda yeni farmakolojik ajanların hızlı bir şekilde geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.<sup>26</sup> Patojenlere veya enfeksiyondan sorumlu faktörlere spesifik yeni moleküler tanıyıcı moleküllerin araştırılması, anti-enfektif ajanların geliştirilmesi için anahtar stratejidir. Bu amaçla aptamerler yaygın kullanım alanlarına sahiptirler. Yüksek afinite ve spesifliğe sahip aptamerler, klinik tanı, çevre koruma ve gıda güvenliğinde geleneksel antikoların yerini alma potansiyeline sahip ideal tanı ajanlarıdır. Aptamerler, patojenlerin tayini ve çevresel kontaminasyonun izlenmesi amacıyla başarıyla kullanılmaktadırlar.<sup>27</sup>

Bakterileri hedefleyen aptamerler, iki grupta sınıflandırılmaktadır: (i) önceden tanımlanmış bakteri hücre yüzey antijenlerini veya bakteriyel virülans faktörlerini hedefleyen aptamerler. (ii) bilinen veya bilinmeyen moleküler hedefleri kapsayacak şekilde hücreyi hedefleyen aptamerler. Antibakteriyel aptamerler ile ilgili çalışmalarda çoğunlukla *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* hedeflenmiştir.<sup>28</sup>

*Salmonella* enfeksiyonu, tüm dünyada her yıl milyonlarca kişiyi etkilemektedir. Bu nedenle, kontamine gıdaların tüketilmeden önce tespit edilmesi halk sağlığı için büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla, *S. typhimurium* dış zar proteinlerini hedefleyen aptamerler geliştirmiş ve manyetik boncuklara konjuge edilen aptamerler kullanılarak yeni bir tayin yöntemi geliştirilmiştir.<sup>29</sup> Benzer bir çalışmada elektrokimyasal biyosensör tasarlanmış ve dedeksiyon limiti 3 CFU/mL olarak belirlenmiştir.<sup>30</sup> Literatürde bakteri kaynaklı enfeksiyonların tanı ve tedavisi amacıyla kullanılan pek çok aptamer temelli yaklaşım mevcuttur.

Spesifik aptamerler kullanılarak, viral enfeksiyon döngüsü sırasında adsorpsiyon, penetrasyon, replikasyon, olgunlaşma ve hatta olgun virüslerin salınım aşamalarında yer alan viral proteinler ve mekanizmalar hedeflenebilir. İnsan immün yetmezlik virüsü-1 (HIV-1), hepatit C virüsü (HCV) ve grip virüsünün tanı ve tedavisine yönelik olarak aptamer temelli çalışmalar yapılmıştır.<sup>31</sup> HIV viral RNA'nın transkripsiyonu için önemli olan ve viral RNA'ya bağlanarak protein üretimini artıran Tat proteini, HIV taraması için en umut verici adaylardan birisidir. HIV-1 Tat proteini için spesifik bir RNA aptameri geliştirilmiştir.<sup>32</sup> Tat proteini dedeksiyonu için tasarlanan aptasensör kullanılarak 1 nM dedeksiyon düzeyine ulaşılmıştır.<sup>33</sup> Aptamerlerin virüslere karşı terapötik amaçlı kullanımı da mümkündür. Aptamerler, kimyasal yapılı antiviral ajanlara bir alternatif veya adjuvan olarak kabul edilmektedir. HIV-1 proteinlerinin farklı bölgelerini spesifik olarak hedefleyen aptamerlerin, hedef hücre ile viral füzyonu etkili bir



ŞEKİL 3: Moleküler görüntülemeye ilişkin temel akış şeması.

şekilde inhibe ettiği ve viral replikasyonu baskıladığı gösterilmiştir. Virüslere karşı geliştirilen çok sayıda RNA veya DNA aptamerinin tanıyıcı ve terapötik uygulamaları üzerine çalışmalar devam etmektedir.<sup>34</sup>

## KANSER TEDAVİSİNDE APTAMERLER

Hücre yüzey proteinlerini tanıyıcı moleküler problemlerin kullanılmasında, tanı ve tedavi çalışmaları için büyük öneme sahiptir.<sup>35</sup> Küçük ve çok işlevli oligonükleotid ligandları olarak aptamerler, biyomedikal alanda monoklonal antikorlara mükemmel alternatiflerdir. Spesifik aptamerler, hedef proteinlerin işlevini doğrudan inhibe edebilirler. Aptamerler diğer terapötik amaçlarla veya görüntüleme için kargo-taşıyıcı ajanlar olarak da tasarlanabilirler.<sup>36</sup>

Erken dönemde güvenilir kanser tanısı ve prognoz değerlendirmesi kanser ile mücadelede oldukça kritik aşamalarıdır. Bu amaçla literatürde MUC1 (mucin 1), HER2 (insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2) ve östrojen reseptörü gibi tümör ile ilişkili birçok proteine spesifik aptamerler geliştirilmiştir. MCF-7 meme kanseri hücrelerinin ve CCRF-CEM lösemi hücrelerinin tespiti için aptamerler geliştirilmiştir.<sup>37</sup> Aptamerler, karsinoembriyonik antijen (CEA) ve prostat spesifik antijen (PSA) gibi kanser biyobelirteçlerinin saptanması için başarıyla kullanılmıştır. Lenfoma, adenokarsinom, lösemi, glioblastoma ve diğer kanser türlerinin *in vivo* görüntülenmesi için aptamerlerden yararlanılmıştır. Aptamerler, çeşitli terapötik moleküllerin hedef hücrelere ve dokulara hedeflenmesi amacıyla hedefleyici moleküller olarak kullanılmıştır.<sup>38</sup>

Aptamerler, kanser gelişimi, iltihaplı hastalıklar, viral enfeksiyon, kardiyovasküler hastalık ve maküler dejenerasyon ile ilişkili hücresel süreçleri modüle etmek için kullanılmıştır. Bu uygulamalar arasındaki en başarılı örnek Macugen (pegaptanib) olarak isimlendirilmiş aptamerdir. Macugen, yaşa bağlı makula dejenerasyonunun tedavisi için 2004 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından

onaylanan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) antagonisti aptamerdir ve aptamer bazlı terapötiklerin klinikte uygulanabilirliğini gösteren ilk ticari üründür. Farklı terapötik aptamerlerin renal hücre karsinomu, koroner arter hastalığı, hemofili, kronik iltihaplanma, tip 2 diyabet ve lenfositik lösemi gibi diğer hastalıkların tedavisindeki etkinlikleri incelenmektedir.<sup>39,40</sup> Tablo 1’de özetlendiği gibi, çeşitli aptamerlere ilişkin klinik faz çalışmaları devam etmektedir.<sup>41</sup>

## APTAMERLERİN TERAPÖTİK POTANSİYELİNİN ARTTIRILMASINA YÖNELİK KİMYASAL MODİFİKASYONLAR

Aptamerlerin terapötik olarak kullanımlarını sınırlandıran en önemli faktörler, yüksek nükleaz duyarlılığı ve hızlı renal filtrasyondur. Aptamerlerin nükleaz kararlılıklarının artırılması amacı ile, ana omurga ya da yan zincirlerinin kimyasal modifikasyonu, doğal olmayan nükleotitlerin yapıya eklenmesi ve 5’ 3’ capping gibi stratejiler geliştirilmiştir.<sup>42,43</sup> Diğer bir yenilikçi strateji ise Amerika merkezli SomaLogic firması tarafından geliştirilen SOMAmer teknolojisidir.<sup>44</sup> SOMAmerler geleneksel aptamerler ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde hidrofobik karaktere sahiptir ve bu özellik bağlanma için mevcut olan epitoplardan çeşitliliğini arttırmaktadır.<sup>45</sup> Hızlı renal filtrasyon sorunu için etkili strateji ise, aptamerlerin polietilen glikol (PEG) gibi polimerler ile konjugasyonudur. Altın nanopartiküller, lipozomlar ve kopolimerler gibi diğer nanomateryaller de bu amaçla kullanılabilirler.<sup>46</sup>

## GENEL DEĞERLENDİRME

Aptamerler, terapötik olarak kullanım potansiyeli yüksek moleküllerdir.<sup>47</sup> Farklı uygulamalarda antikorlara alternatif olarak aptamerlerin kullanımına yönelik çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Bununla birlikte, aptamerler için belirli sınırlayıcı faktörler de bulunmaktadır. Tüm sınırla-

**TABLO 1:** Faz çalışması devam eden bazı terapötik aptamerler.

Aptamer	Türü	Kullanım alanı	İlaç klinik fazı
Pegaptanib	RNA	Yaş bağımlı maküler dejenerasyon	Onaylandı
Pegnivacogen	RNA	Koroner arter hastalığı	Faz III
E10030	DNA	Yaş bağımlı maküler dejenerasyon	Faz III
AS1411	DNA	Renal hücreli karsinom	Faz II
NOX-E36	L-RNA	Tip 2 diabetes mellitus ve albüminüri	Faz II
Zimura	RNA	Yaş bağımlı maküler dejenerasyon	Faz II/III
ARC19499	DNA	Hemofili	Faz I

malara rağmen, aptamerler birçok avantaja sahiptir. Kimyasal sentez, yüksek hedef spesifikliğı, uzun süreli raf ömrü, *in vivo* tolere edilebilirlik ve non-immünojenite gibi özellikler aptamerlerin terapötik olarak kullanımına olan ilgiyi arttırmaktadır.<sup>48</sup> Aptamerlerin ilk kez tanımlandığı 1990 yılından günümüze kadar yeni aptamer seçim yöntemleri ve aptamer tabanlı uygulamalar bildirilmiştir. Geleneksel kimyasal yapıli inhibitörlere alternatif olarak, ligand bağlama ceplerine veya protein-protein etkileşim bölgelerine bağlanan aptamerler geliştirilebilir. Bunun yanında, terapötik ilaçların, nanopartiküllerin ve nükleik asitlerin hedefli taşınımı amacı ile de aptamerlerden yararlanılabilir. Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada, aptamer-ilaç konjugatlarının serbest ilaca kıyasla tedavi etkinliğini artırdığı ve toksisiteyi azalttığı gösterilmiştir.<sup>49</sup>

Aptamerler nanopartiküller, siRNA/miRNA, terapötik ilaçlar ve PDT ajanları ile konjuge edilebilir.<sup>50</sup> Aptamerler mikrobiyal enfeksiyonların kontrolü için de kullanılabilir. Örneğın biyofilm oluşumunu veya virülans faktörlerinin biyolojik fonksiyonunu inhibe eden aptamerler potansiyel anti-bakteriyel/anti-viral araçlardır.

Küçük moleküllerin ve antikorların en iyi özelliklerinin bir kombinasyonunu temsil eden nükleik asit aptamerleri, gelecekteki birçok uygulama için büyük bir potansiyele sahiptir. Aptamerlerin ilaç endüstrisindeki payı antikorlara kıyasla oldukça sınırlı olmakla birlikte, SELEX teknolojisindeki gelişmeler ve aptamerlerin nükleaz kararlılıklarının artırılmasına yönelik kimyasal modifikasyonlar gelecekteki uygulamalar için umut vericidir.<sup>51,52</sup>

## KAYNAKLAR

- Gelinas A, Davies D, Janjic N. Embracing proteins: structural themes in aptamer-protein complexes. *Curr Opin Struct Biol.* 2016;36:122-32. doi: 10.1016/j.sbi.2016.01.009.
- Cai S, Yan J, Xiong H, Liu Y, Peng D, Liu Z. Investigations on the interface of nucleic acid aptamers and binding targets. *The Analyst.* 2018;143(22):5317-38. doi: 10.1039/c8an01467a.
- Komarova N, Kuznetsov A. Inside the Black Box: What Makes SELEX Better? *Molecules.* 2019;24(19):3598. doi: 10.3390/molecules24193598.
- Yan J, Xiong H, Cai S, Wen N, He Q, Liu Y, et al. Advances in aptamer screening technologies. *Talanta.* 2019;200:124-44. doi: 10.1016/j.talanta.2019.03.015.
- Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature.* 1990;346(6287):818-22. doi: 10.1038/346818a0.
- Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science.* 1990;249(4968):505-10. doi: 10.1126/science.2200121.
- Ruscito A, DeRosa MC. Small-Molecule Binding Aptamers: Selection Strategies, Characterization, and Applications. *Front Chem.* 2016;4:14. doi: 10.3389/fchem.2016.00014.
- Bayat P, Nosrati R, Alibolandi M, Rafatpanah H, Abnous K, Khedri M, et al. SELEX methods on the road to protein targeting with nucleic acid aptamers. *Biochimie.* 2018;154:132-55. doi: 10.1016/j.biochi.2018.09.001.
- Kaur H. Recent developments in cell-SELEX technology for aptamer selection. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2018;1862(10):2323-9. doi: 10.1016/j.bbagen.2018.07.029.
- Zhong W, Pu Y, Tan W, Liu J, Liao J, Liu B, et al. Identification and Application of an Aptamer Targeting Papillary Thyroid Carcinoma Using Tissue-SELEX. *Anal Chem.* 2019;91(13):8289-97. doi: 10.1021/acs.analchem.9b01000.
- Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B. SELEX--a (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. *Biomol Eng.* 2007;24(4):381-403. doi: 10.1016/j.bioeng.2007.06.001.
- Ali MH, Elsherbiny ME, Emara M. Updates on aptamer research. *Int J Mol Sci.* 2019;20(10):2511. doi: 10.3390/ijms20102511.
- Wan LY, Yuan WF, Ai WB, Ai YW, Wang JJ, Chu LY, et al. An exploration of aptamer internalization mechanisms and their applications in drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2019;16(3):207-18. doi: 10.1080/17425247.2019.1575808.
- Zhu G, Chen X. Aptamer-based targeted therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018;134:65-78. doi: 10.1016/j.addr.2018.08.005.
- Darmostuk M, Rimpelova S, Gbelcova H, Ruml T. Current approaches in SELEX: An update to aptamer selection technology. *Biotechnol Adv.* 2015;33(6 Pt 2):1141-61. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.02.008.
- Wang AZ, Farokhzad OC. Current progress of aptamer-based molecular imaging. *J Nucl Med.* 2014;55(3):353-6. doi: 10.2967/jnumed.113.126144.
- Calzada V. Aptamers in Diagnostic and Molecular Imaging Applications. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2020;174:141-60. doi: 10.1007/10\_2019\_115.
- Bouvier-Müller A, Ducongé F. Application of aptamers for in vivo molecular imaging and theranostics. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018; 134:94-106. doi: 10.1016/j.addr.2018.08.004.
- Moutsopoulos A, Broyles D, Dikici E, Daunert S, Deo SK. Molecular aptamer beacons and their applications in sensing, imaging, and diagnostics. *Small.* 2019;15(35):1902248.
- Yoon S, Rossi JJ. Targeted Molecular Imaging Using Aptamers in Cancer. *Pharmaceuticals (Basel).* 2018;11(3):71. doi: 10.3390/ph11030071.
- Hassanzadeh L, Chen S, Veedu RN. Radiolabeling of Nucleic Acid Aptamers for Highly Sensitive Disease-Specific Molecular Imaging. *Pharmaceuticals (Basel).* 2018;11(4):106. doi: 10.3390/ph11040106.
- Sun H, Tan W, Zu Y. Aptamers: versatile molecular recognition probes for cancer detection. *Analyst.* 2016;141(2):403-15. doi: 10.1039/c5an01995h.
- Shi H, Cui W, He X, Guo Q, Wang K, Ye X, Tang J. Whole cell-SELEX aptamers for highly specific fluorescence molecular imaging of carcinomas in vivo. *PLoS One.* 2013;8(8):e70476. doi: 10.1371/journal.pone.0070476.
- Pan Q, Luo F, Liu M, Zhang XL. Oligonucleotide aptamers: promising and powerful diagnostic and therapeutic tools for infectious diseases. *J Infect.* 2018;77(2):83-98. doi: 10.1016/j.jinf.2018.04.007.

25. Park KS. Nucleic acid aptamer-based methods for diagnosis of infections. *Biosens Bioelectron.* 2018;102:179-88. doi: 10.1016/j.bios.2017.11.028.
26. Wang L, Wang R, Wei H, Li Y. Selection of aptamers against pathogenic bacteria and their diagnostics application. *World J Microbiol Biotechnol.* 2018;34(10):149. doi: 10.1007/s11274-018-2528-2.
27. Teng J, Yuan, F, Ye Y, Zheng L, Yao L, Xue F, et al. Aptamer-based technologies in foodborne pathogen detection. *Frontiers in microbiology;* 2016.7, 1426.
28. Davydova A, Vorobjeva M, Pyshnyi D, Altman S, Vlassov V, Venyaminova A. Aptamers against pathogenic microorganisms. *Crit Rev Microbiol.* 2016;42(6):847-65. doi: 10.3109/1040841X.2015.1070115.
29. Joshi R, Janagama H, Dwivedi HP, Senthil Kumar TM, Jaykus LA, Schefers J, et al. Selection, characterization, and application of DNA aptamers for the capture and detection of *Salmonella enterica* serovars. *Mol Cell Probes.* 2009;23(1):20-8. doi: 10.1016/j.mcp.2008.10.006.
30. Ma X, Jiang Y, Jia F, Yu Y, Chen J, Wang Z. An aptamer-based electrochemical biosensor for the detection of *Salmonella*. *J Microbiol Methods.* 2014;98:94-8. doi: 10.1016/j.mimet.2014.01.003.
31. Zou X, Wu J, Gu J, Shen L, Mao L. Application of Aptamers in Virus Detection and Antiviral Therapy. *Front Microbiol.* 2019;10:1462. doi: 10.3389/fmicb.2019.01462.
32. Bala J, Chinnapaiyan S, Dutta RK, Unwalla H. Aptamers in HIV research diagnosis and therapy. *RNA Biol.* 2018;15(3):327-37. doi: 10.1080/15476286.2017.1414131.
33. Fatin MF, Rahim Ruslinda A, Gopinath SCB, Arshad MKM. High-performance interactive analysis of split aptamer and HIV-1 Tat on multiwall carbon nanotube-modified field-effect transistor. *Int J Biol Macromol.* 2019;125:414-22. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.066.
34. Berzal-Herranz A, Romero-López C. Two Examples of RNA Aptamers with Antiviral Activity. Are Aptamers the Wished Antiviral Drugs? *Pharmaceuticals (Basel).* 2020;13(8):157. doi: 10.3390/ph13080157.
35. Zhang Y, Lai BS, Juhas M. Recent Advances in Aptamer Discovery and Applications. *Molecules.* 2019;24(5):941. doi: 10.3390/molecules24050941.
36. Bruno JG. A review of therapeutic aptamer conjugates with emphasis on new approaches. *Pharmaceuticals.* 2013.6(3), 340-57.
37. Fu Z, Xiang J. Aptamers, the Nucleic Acid Antibodies, in Cancer Therapy. *Int J Mol Sci.* 2020;21(8):2793. doi: 10.3390/ijms21082793.
38. Sun D, Lu J, Zhang L, Chen Z. Aptamer-based electrochemical cytosensors for tumor cell detection in cancer diagnosis: A review. *Anal Chim Acta.* 2019;1082:1-17. doi: 10.1016/j.aca.2019.07.054.
39. Kim M, Kim DM, Kim KS, Jung W, Kim DE. Applications of Cancer Cell-Specific Aptamers in Targeted Delivery of Anticancer Therapeutic Agents. *Molecules.* 2018;23(4):830. doi: 10.3390/molecules23040830.
40. Zhou Z, Liu M, Jiang J. The potential of aptamers for cancer research. *Anal Biochem.* 2018;549:91-5. doi: 10.1016/j.ab.2018.03.008.
41. Poolsup S, Kim CY. Therapeutic applications of synthetic nucleic acid aptamers. *Curr Opin Biotechnol.* 2017;48:180-6. doi: 10.1016/j.copbio.2017.05.004.
42. Odeh F, Nsairat H, Alshaer W, Ismail MA, Esawi E, Qaqish B, et al. Aptamers Chemistry: Chemical Modifications and Conjugation Strategies. *Molecules.* 2019;25(1):3. doi: 10.3390/molecules25010003.
43. Adachi T, Nakamura Y. Aptamers: A Review of Their Chemical Properties and Modifications for Therapeutic Application. *Molecules.* 2019;24(23):4229. doi: 10.3390/molecules24234229.
44. Kratschmer C, Levy M. Effect of Chemical Modifications on Aptamer Stability in Serum. *Nucleic Acid Ther.* 2017;27(6):335-44. doi: 10.1089/nat.2017.0680.
45. Ni S, Yao H, Wang L, Lu J, Jiang F, Lu A, et al. Chemical Modifications of Nucleic Acid Aptamers for Therapeutic Purposes. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(8):1683. doi: 10.3390/ijms18081683.
46. Kaur H, Bruno JG, Kumar A, Sharma TK. Aptamers in the Therapeutics and Diagnostics Pipelines. *Theranostics.* 2018;8(15):4016-32. doi: 10.7150/thno.25958.
47. Ouyang W, Yu Z, Zhao X, Lu S, Wang Z. Aptamers in hematological malignancies and their potential therapeutic implications. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016;106:108-17. doi: 10.1016/j.critrevonc.2016.08.003.
48. Ismail SI, Alshaer W. Therapeutic aptamers in discovery, preclinical and clinical stages. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018;134:51-64. doi: 10.1016/j.addr.2018.08.006.
49. Nimjee SM, White RR, Becker RC, Sullenger BA. Aptamers as Therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2017;57:61-79. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010716-104558.
50. Afrasiabi S, Pourhajjibagher M, Raoofian R, Tabarzad M, Bahador A. Therapeutic applications of nucleic acid aptamers in microbial infections. *J Biomed Sci.* 2020;27(1):6. doi: 10.1186/s12929-019-0611-0.
51. Zhuo Z, Yu Y, Wang M, Li J, Zhang Z, Liu J, Wu X, Lu A, Zhang G, Zhang B. Recent Advances in SELEX Technology and Aptamer Applications in Biomedicine. *Int J Mol Sci.* 2017;18(10):2142. doi: 10.3390/ijms18102142.
52. Morita Y, Leslie M, Kameyama H, Volk DE, Tanaka T. Aptamer Therapeutics in Cancer: Current and Future. *Cancers (Basel).* 2018;10(3):80. doi: 10.3390/cancers10030080.