

# Aptamerek – az antitestek lehetséges alternatívái

*Bardóczy Viola<sup>1</sup> és Mészáros Tamás<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

<sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézet

Érkezett: 2008. április 17.

Az emberi szervezetbe jutó élelmiszerösszetevők, valamint az esetleges szennyezők minőségi és mennyiségi meghatározása kulcsfontosságú kérdés az élelmiszerek minőségellenőrzése során. A vizsgálandó anyagok mérésére célszerű olyan módszert választani, amely a célkomponenst nagy érzékenységgel, reprodukálhatóan, gyors eredményszolgáltatás mellett mutatja ki. A nagyműszeres analitikai vizsgálatokat kiegészítve (pl. folyadékkromatográfia, gázkromatográfia, tömegspektrometria, atom- és molekula-spektroszkópia, magmágneses rezonancia) elterjedtek az immunanalitika (pl. ELISA), molekuláris biológia (pl. PCR), nanotechnológia (pl. nanoszenzorok) újításait felhasználó vizsgálati módszerek.

Az ellenanyagok analitikai alkalmazása az 1950-es évekre nyúlik vissza, a monoklonális antitestek 1970-es években történő megjelenése pedig újabb lendületet adott az ilyen irányú metodikai fejlesztéseknek. Az antitesteken alapuló eljárások számos különböző szerkezetű élelmiszerszennyező szelektív kimutatását teszik lehetővé (pl. mikotoxinok, antibiotikumok, prion-fehérjék, élelmiszerallergiát okozó komponensek). A monoklonális ellenanyagokat termelő sejt kultúrák nagy mennyiségben, reprodukálhatóan termelik a megfelelő antitestet, így alkalmazásukkal számos nagy érzékenységgű, megbízható élelmiszeranalitikai módszer kifejlesztése vált lehetővé. Az ellenanyagok széleskörű alkalmazásának azonban van néhány korlátozó tényezője is (Jayasena, 1999), melyek a következők:

- Előállításukra élő szervezetekben kerül sor, ezért csak olyan anyagokra lehetséges ellenanyagot generálni, amelyek megfelelően immunogének, illetve nem toxikusak.
- A poliklonális antitestek előállításukból következően mindig más minőségű terméket szolgáltatnak, így a különböző sarzsok optimális működését minden esetben meg kell határozni.

- Csak in vivo körülményekhez hasonló paraméterekkel rendelkező közegben működnek optimálisan.
- Az ellenanyag-célmolekula kölcsönhatás kinetikai paramétereit irányítottan nem módosíthatóak.
- Az antitestek érzékenyek a denaturáló hatásokra és csak korlátozott ideig használhatók fel.

A felsorolt problémákat orvosló megoldások a fejlesztés különböző stádiumában vannak (Jayasena, 1999). Az ellenanyag alkalmazásából fakadó korlátok kiküszöbölésére nyújthat megoldást a fehérjétől eltérő kémiai tulajdonságokkal rendelkező oligonukleotidok receptormolekulaként történő felhasználása. Az 1990-es években megjelent kutatási eredmények igazolták, hogy egyszálú DNS, illetve RNS oligonukleotidok, az ún. aptamerek nagy affinitással és specifitással kötődhetnek számos különféle molekulához (Ellington, 1990). Az elmúlt években leírtak szerves festékhez (Ellington, 1990), aminosavhoz (Famulok, 1992), (Geiger és mts-i, 1996), antibiotikumhoz (Schurer és mts-i, 2001; Tereshko és mts-i, 2003; Zimmerman, 2002), peptidhez (Baskerville és mts-i, 1999), fehérjéhez és vitaminokhoz (Hermann, 2000) kötődő aptamer szekvenciákat is.

Az aptamerek és a kiválasztott molekula közti kölcsönhatás nagy affinitása az oligonukleotidok térszerkezetében keresendő. Kisebb molekulák könnyen integrálódnak a nukleinsav-struktúrába, míg nagyobb molekulák esetén az aptamerek illeszkednek az adott térszerkezetbe. A háromdimenziós szerkezeti analízisek választ adhatnak arra a kérdésre, hogy milyen kötőerők a kölcsönhatások fő komponensei, és mi okozza a kötés nagyfokú specifitását. Az ilyen irányú vizsgálatok igazolták, hogy a nukleinsav háromdimenziós szerkezete a ligand közelében számos olyan intermolekuláris kölcsönhatás létrejöttéhez vezet, amely más molekulákkal nem lehetséges.

Az aptamer-célmolekula kölcsönhatás sokkal erősebb, mint a természetben előforduló nukleinsavkötő molekulák és a DNS közti kölcsönhatás. Ennek hátterében az áll, hogy míg a természetes nukleinsavak egy bonyolult biológiai hálózat részeként működnek, ahol a strukturális motívumok ko-optimalizációjára van szükség, addig az aptamerek egyetlen „funkciója” a ligandum kötése (Hermann, 2000).

Az aptamerek egyik nagy előnye, hogy előállításuk *in vitro*, iteratív lépésekből álló, ún. SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) eljárással történik. A SELEX alapja egy olyan kémiailag szintetizált, egyszálú DNS vagy RNS oligonukleotid könyvtár, melyben az egyszálú molekulák két végén ismert a nukleotid sorrend, míg a közbenső, kb. 40 bázis hosszú szakaszban véletlenszerű. A szintézis véletlenszerűségét feltételezve, a könyvtár komplexitása könnyen kiszámítható. Egy  $N$  nukleotid hosszúságú könyvtárt alkalmazva, amely négy különböző nukleotidot tartalmaz, a lehetséges variációk száma  $4^N$ . Ez egy 40 nukleotid hosszúságú oligonukleotid szakaszra nézve  $1,2 \cdot 10^{24}$  lehetséges variációt jelent. Az ilyen komplexitású könyvtár elérhetősége azonban csak elméleti lehetőség, hiszen az előállításához több kilogramm anyagot kellene szintetizálni. A gyakorlati szelekció során  $10^{13}$  -  $10^{15}$  - féle oligonukleotidból álló molekula populáció tesztelhető. Ez a variabilitás azonban SELEX eljárás során tovább növekedhet, hiszen az amplifikációs ciklusokban használt DNS polimeráz nem 100%-os hűséggel amplifikálja az adott szakaszt, így mutációk is változtathatnak a nukleotid szekvencián. (Sampson, 2003).

Az aptamer szelektáláshoz felhasznált nukleotid könyvtárnál a későbbi alkalmazások szempontjából fontos az izolált aptamerek kémiai és biológiai degradációval szembeni ellenállóképessége. Az egyszálú oligonukleotid könyvtáraknak, elsősorban az RNS könyvtáraknak hátránya lehet a kémiai, illetve enzimatisz uton történő hasításra való érzékenység. Ezt a hátrányt kiküszöbölendő, lehetséges a nukleotid bázisok módosítása, a foszfodiészter „gerinc” módosítása vagy az enantiomer (tükörkép) aptamerek, az ún. spiegelmer alkalmazása (Klussmann és mts-i, 1996). Az aptamer könyvtár módosításánál fontos szempont, hogy a módosított nukleotid-származékok kompatibilisek legyenek a megfelelő reakciókat katalizáló enzimekkel (Sampson, 2003). Az aptamerek stabilitásának növelésére az oligonukleotid szerkezet szelekció utáni módosítása is gyakran alkalmazott megközelítés, azonban a módosítások befolyásolhatják az aptamer-célmolekula kölcsönhatást, ezért gondos tervezést igényelnek.

A DNS oligonukleotid könyvtárból kiinduló SELEX eljárás vázlata a következőekben összegezhető (1. ábra):

1. A fentiekben említett nagyságrendű oligonukleotid könyvtárt viszonylag nagy térfogatban (10 ml) együtt inkubálják a célmolekulával. Ez reverzibilisen vagy irreverzibilisen immobilizálja

van, így később lehetővé válik a kötődő és nem kötődő nukleinsavak elválasztása.

2. Meghatározott kötési idő után a nem specifikusan kötődő oligonukleotidok mosással eltávolításra kerülnek.
3. A kötődő nukleotidok PCR reakcióban sokszorozhatóak az aptamerek rögzített szekvenciájú 5' és 3' végeire tervezett primerek segítségével. A PCR reakció során alkalmazott egyik primer biotinnal jelölt, így a PCR termék streptavidines állófázishoz köthető. A kettős szál megfelelő körülmények között történő denaturációját követően a biotinjelölt szál az állófázison marad, míg a másik szál továbbvihető a következő szelekciós ciklusba.
4. 10-15 szelekciós ciklus végrehajtása után a célmolekulához kötődő aptamerek lesznek „túlsúlyban”. Az utolsó ciklust követő PCR reakcióban olyan reverz primert használnak, amely nem biotin jelölt. A keletkezett kettősszálú DNS plazmidba klónozható, az ilyen módon különböző szekvenciával rendelkező plazmidok nukleotidsorrendje Sanger-féle szekvenálással meghatározható.

A SELEX eljárás elméleti lehetőséget teremt nagy számú aptamer gyors és költséghatékony előállítására; a sikeres szelekció előfeltétele azonban az egyes lépések gondos tervezése és körültekintő kivitelezése. Az aptamer szekvenciák 5' és 3' primer hibridizációs, konstans régiójának tervezése különösen fontos, hiszen a SELEX összesen 10-15 szelekciós lépésből áll, mindegyik lépésben 10-15 ciklusos PCR reakcióval, így mintegy 200 PCR ciklust kell végrehajtani. A nem megfelelő primer kötő helyek következtében nyomokban megjelenő melléktermékek bekerülhetnek a következő ciklusokban szelektálandó aptamerek közé, így nagyban csökkenthetik a szelekció hatékonyságát.

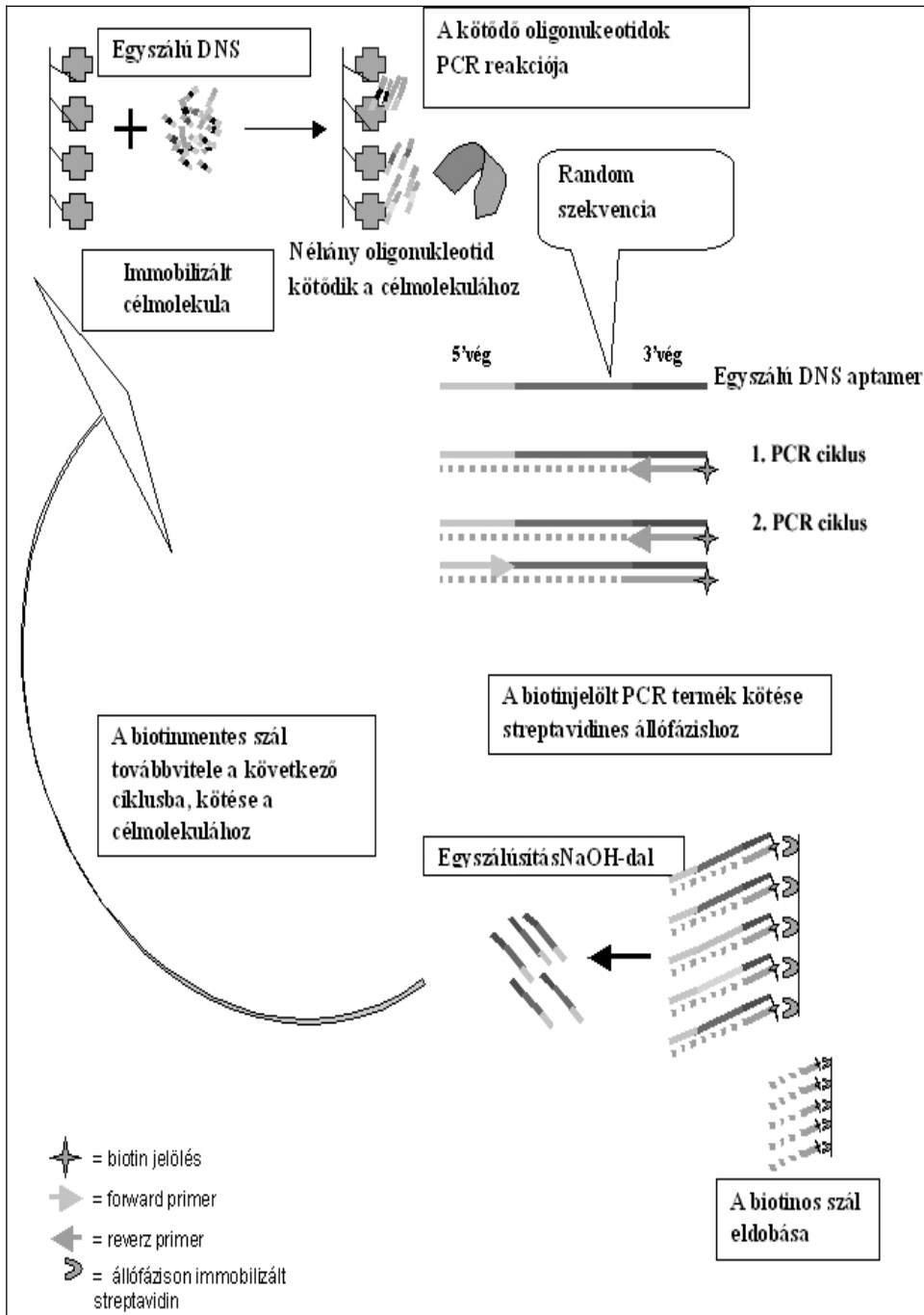
Az aptamerek célmolekulához való kötődéséhez minden ciklusban azonos paramétereket kell biztosítani, hiszen az aptamer-ligand kötés erőssége nagy mértékben függ a pH-tól, hőmérséklettől és sókoncentrációtól. Az egyes lépések során azonban fokozatosan csökkenthető a ligand koncentráció és az inkubációs idő, ily módon szelekciós előnyt nyújtva a nagy affinitással és erősséggel kötődő aptamerek számára. A célmolekula a kismolekuláktól egészen a fehérjékig a legváltozatosabb kémiai összetétellel rendelkezhet, melyek előállításuk gyakran komoly kihívást jelent. A fehérjék esetében

legáltalánosabban az élősejtes fehérje-túltermelő rendszereket hívják segítségül, azonban egyre nagyobb teret nyernek az in vitro translációs rendszerek is (Bardoczy és mts-i, 2008).

Technikailag bonyolult lépés a célmolekulához kötődő és nem kötődő oligonukleotidok elválasztása, amire alapvetően két megközelítés lehetséges. Az első esetben a célmolekulákat kovalens vagy affinitás kötésen szilárd fázishoz kapcsolják. A következő lépésben az aptamerek az állófázis molekuláihoz kötődnek, a nem specifikusan kötődő aptamerek mosással eltávolíthatóak, míg a specifikusan kötődőek a molekulával együtt ( pl. affinitás-kapcsolás esetén) vagy anélkül eluálhatóak. A második megközelítési módszer kevésbé elterjedt és kiforrott, de mindenképp figyelmet érdemel, mert nagy mértékben növeli a szelekciós eljárás sebességét, és célfehérje-igénye is jóval kisebb. Ebben az esetben a kötődő és nem kötődő oligonukleotidok elválasztására a kapilláris elektroforézist alkalmazzák, melynek szelektivitása és hatékonysága nagyobb, mint az affinitás-kromatográfiás elválasztásé (Mendonsa, 2004).

A következő lépés a DNS amplifikáció, amelynek során a kis mennyiségű, egyszálú oligonukleotid sokszorozódik a PCR ciklusok során, dupla szálú lesz, majd egyszálúsítás után a célmolekulához köthető. Az egymás után következő ciklusokban a könyvtár komplexitása csökken, és ezzel párhuzamosan egyre több lesz a specifikusan kötődő szekvenciával rendelkező oligonukleotid. Az aptamerek specifikitása tovább növelhető az ún. kontraszelekciós ciklusok beiktatásával. Ennél a lépésnél, a már dúsított oligonukleotid populációt a célmolekulához hasonló szerkezetű molekulákkal inkubálják, és a következő ciklusba már csak azok az aptamerek kerülnek, amelyek a kontraszelekcióban használt molekulához nem kötődtek.

A 10-15 szelekciós ciklust követően az izolált DNS szakaszokat klónozzák, majd szekvenálják. A klónozásra több szempontból is szükség van: egyrészt, csak így lehet olyan szekvenálást végrehajtani, ahol az egész aptamer szekvencia látszik, mivel szekvenálás első száz bázispárja mindig nehezen olvasható. Másrészt, a szelekciónál több szekvencia kötődik a célmolekulához, az egyes baktériumkolóniák azonban csak egy-egy aptamer szekvenciát tartalmaznak, ily módon szekvenálhatóak.



**1. ábra: A SELEX reakció sémája DNS aptamer esetében**

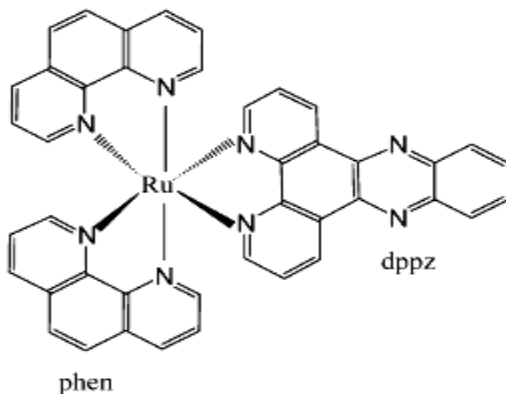
Az aptamer-célmolekula kölcsönhatás számos analitikai kimutatási módszer alapjául szolgálhat, ezek gyakorlati alkalmazása kiemelkedő

jelentőségű lehet minden olyan területen, ahol a molekulák specifikus azonosítására és mennyiségi meghatározására van szükség. A klasszikus, antitesteken alapuló fehérje és kismolekula detektálási módszerekkel szemben, az aptamerek ilyen célú alkalmazásának számos előnye van. Az immobilizált aptamerek könnyen előállíthatóak, jelölhetőek, ebből következik a felhasználható detektálási módszerek sokfélesége. Az analitikai kimutatásra alkalmazott aptamerek számos esetben bioszenzorok fejlesztésének alapjaiként szolgálnak. Szintén ígéretesnek mutatkoznak olyan homogén közegben végrehajtható mérési módszerek esetében, amelyek nem igényelnek immobilizálási, illetve többszörös mosási lépéseket.

Az egyes molekulákhoz kötődő aptamerek „jelző molekulákká” alakítására sokféle eljárást dolgoztak ki. Ezek a módszerek többnyire fluoreszcens detektálással jelzik az aptamerhez kötődő célvegyületet. A legáltalánosabban alkalmazott módszer, a fluorofór rész kapcsolása az aptamerekhez, Ezekben a rendszerekben a fluoreszcens jel intenzitása a célmolekulához való kötődés által okozott konformációváltozás hatására módosul (Tombelli és mts-i, 2005).

2004-ben publikálták először a „molekuláris-fénykapcsoló” elven működő aptamer-fehérje kötést detektáló módszert, amelyhez nincs szükség az aptamer fluoreszcens jelölésére. A  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  (2. ábra) molekula vizes közegben nem lumineszkál, mert a fenazin rész nitrogénje hidrogénhíd-kötést létesít a vízzel. Amikor a festék DNS közelébe kerül, a DNS bázispárjai és a molekula közti kölcsönhatás megvédi a fenazin-nitrogént a víztől, így a molekula fényt emittál. Mivel az aptamerek a célmolekulához való kötődéskor konformációs változáson mennek keresztül, az aptamerhez kötődő fehérje blokkolja a festék interkalációját a DNS-be és ezáltal a lumineszcenciát is csökkenti (Yaxin és mts-i, 2004).

Az aptamerekhez specifikusan kötődő molekulák detektálására alkalmazhatók az ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) módszerek analógiájára kifejlesztett ELONA (Enzyme Linked Oligonucleotide Assay) típusú kimutatási módszerek. Ezek lényege, hogy a kimutatni kívánt molekula egy kötő-molekula és egy detektor molekula közé van „beágyazva” „szendvics” elrendezésben. A kötő vagy a detektor molekula, esetleg mindkettő lehet oligonukleotid (Drolet és mts-i, 1996).



**2. ábra: A  $[Ru(phen)_2-(dppz)]^{2+}$  molekula szerkezeti képlete**

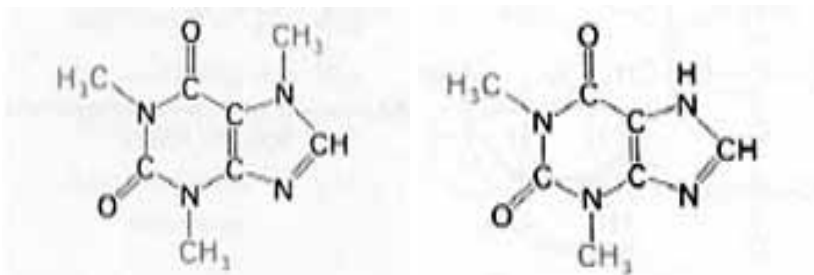
Az aptamer-ligand kölcsönhatás vizsgálatára elterjedt módszer a felületi plazmon rezonancia (Surface Plasmon Resonance). A felületi plazmonok egy fém (az esetek többségében arany)-dielektrikum határfelületen a vezetési elektronok mozgásához kapcsolódó elektronsűrűség-hullámok. A plazmonok fénnel való gerjesztéséhez a fény impulzusának felülettel párhuzamos komponense meg kell hogy egyezzen az azonos energiájú felületi plazmon impulzusával. Ebben az esetben a fény energiája átadódik az elektronsűrűség hullámnak és egy rezonancia jellegű csatolás történik. A felületi plazmonok kialakításához leggyakrabban használt konfiguráció esetében a fényt egy prizma segítségével csatolják be a tipikusan 50 nm vastag fémrétegbe. A plazmongerjesztésre a fény egy adott beesési szögénél kerül sor, és ilyenkor a fémfelületről visszavert fény intenzitásában egy minimum észlelhető. A rezonanciának megfelelő beesési szög értéke függ a megvilágított fémréteg másik oldalával érintkező közeg törésmutatójától. A létrejött hullámok intenzitása a fém/dielektrikum határfelületen maximális. Az intenzitás a határfelületről távolodva exponenciálisan csökken és pár száz nanométeres behatolási mélységben biztosítja a felületi detektálást. A biomolekuláris kölcsönhatások vizsgálatokor az affinitási reakció egyik komponense a fém felületén immobilizált, míg a másik komponens a fémmel érintkező mintaoldatban található. A bekötődés megváltoztatja a felülettel közvetlenül érintkező réteg (ahol a létrejött hullám intenzitása a legnagyobb) törésmutatóját, amit a készülék a rezonancia szög eltolódásán keresztül érzékenyen detektál. Az analitikai és kinetikai információt a rezonancia szög időbeli változásának nyomonkövetése szolgáltatja. A meghatározás érzékenységét elsődlegesen a biomolekuláris kölcsönhatás során kialakult komplex stabilitása és a



vizsgált komponens molekula-tömege határozza meg. Az eljárás előnye, hogy nem igényli a molekulák megjelölését, ezen kívül a módszerrel az aptamer-ligandum kölcsönhatás kinetikája is meghatározható (Gyurcsányi, 2005).

Sokféle, főként terápiás, vagy diagnosztikai szempontból nagy jelentőségű vegyületre specifikus aptamert szelektáltak. A következő példák orvosi, diagnosztikai felhasználásuk mellett élelmiszervizsgálati szempontból is fontosak lehetnek.

A teofillin alkaloidot asztmás betegségek terápiája során használják, azonban a túladagolás veszélyét elkerülendő a molekula szintjét a szérumban figyelni kell. A teofillin szerkezete hasonlít a teobrominhoz és a koffeinhez (3. ábra), mindkét vegyület megtalálható a humán szérumban kávé és csokoládé fogyasztás hatására, ezért a teofillin kimutatási módszereknek igen szelektíveknek kell lenniük a molekulára. Az aptamer szelekció során koffein molekulát alkalmaztak a kontraszelektációs lépéseknél, és az így kapott teofillin kötő aptamer 10000-szer erősebben kötődik a teofillin molekulához, mint az attól mindössze egy metilcsoporttal különböző koffeinhez (Hermann, 2000).



**3. ábra: A teofillin és a koffein szerkezeti képlete**

A tetraciklin típusú vegyületek csoportjába tartozó oxitetraciklint (OTC) széles spektrumú antimikrobiális hatása miatt az állatgyógyászatban gyakran használják fertőző betegségek kezelésére. A beadott antibiotikumnak csak egy kis részét metabolizálja az állatok szervezete, ebből következően nagy mennyiség halmozódhat fel a szövetekben vagy kerülhet ki a kiválasztás útján a környezetbe. A molekulához specifikusan kötődő egyszálú DNS aptamereket hét ciklusból álló SELEX reakcióban választották ki, a kontraszelekció során pedig etanolamin és doxiciklin alkalmazásával növelték az oligonukleotidok specificitását. Az oxitetraciklin kötő aptamerek megfelelő jelző-molekulák lehetnek egy olyan bioszenzorban, amely

alkalmas az OTC kimutatására húsból, tejből vagy egyéb élelmiszeripari termékekből (Niazi, 2008).

Számos eredmény ismert, amelyekben fehérjespecifikus aptamereket írnak le. Élelmiszerbiztonsági szempontból fontos szerepet játszhatnak a prion-fehérjékre specifikus oligonukleotidok. Az állati eredetű gyógyszerekkel és élelmiszerekkel szemben támasztott biztonsági előírások szigorodtak, amióta nyilvánvalóvá vált, hogy a marhák közt elterjedt szivacsos agyvelőgyulladás (ismertebb nevén kergemarha-kór) okozója, egy kisméretű fehérje (PrP<sup>Sc</sup>) vezet a humán Creutzfeldt-Jakob kór nevű súlyos idegrendszeri betegség kialakulásához. A nem fertőző fehérjeváltozat a sejtekben is megtalálható, de aminosav-sorrendjében teljesen megegyezik a fertőző változattal. A két fehérje biofizikai tulajdonságai (pl. detergens oldhatóság; emésztő enzimekkel szembeni rezisztencia) különböző másodlagos és harmadlagos szerkezetük miatt jelentősen eltérnek. A PrP<sup>Sc</sup> fehérje proteináz-K emésztése során egy rövidebb N-terminálissal rendelkező, fertőzőképes, proteáz rezisztens PrP fehérje jön létre.

Az elterjedt detektálási módszerek a fertőző és a normális fehérje Proteináz-K hasítási termékeinek különbözőségén, valamint a fehérje-specifikus antitestek felhasználásán alapulnak. Számos kísérlet végeztek, amelyben ellenanyagot próbáltak előállítani a két fehérje konformációban különböző régiójára. A jelenleg használt antitest a PrP C izoformára specifikus, míg a PrP<sup>Sc</sup> változatot nem ismeri fel. Az aptamer szelekciós kísérletet végrehajtva a PrP C fehérje egy részletével számos, ahhoz specifikusan kötődő egyszálú DNS molekulát találtak, amelyek a PrP<sup>Sc</sup> fehérjét nem ismerik fel. Ezek az eredmények hasznosak lehetnek a fertőző és nem fertőző molekulák megkülönböztetésére irányuló kimutatási módszerek fejlesztése során (Takemura és mts-i, 2006).

A *Salmonella enterica* serovar Typhi baktérium elsősorban fertőzött élelmiszerekkel és ivóvízzel kerülhet az emberi szervezetbe; ez a fejlődő országokban súlyos közegészségügyi problémát jelent. A baktérium PiLS nevű fehérjéje feltehetőleg fontos szerepet játszik a fertőzés patomechanizmusában. A pre-PiLS fehérjét rekombináns DNS technikával állították elő, majd a fehérjére specifikus RNS aptamereket szelektáltak. A legerősebben kötődő oligonukleotidok együtt alkalmazása humán eredetű sejtvonal esetében megakadályozta a fertőzés kialakulását, így egy új terápiás megközelítést nyújthat a jövőben, az eddig alkalmazott antibiotikumok helyett (Pan és mts-i, 2005).

Az említett példák – a teljesség igénye – nélkül próbálják bemutatni azon vegyületek széles spektrumát, amelyekhez már sikerült specifikusan kötődő DNS vagy RNS aptamert izolálni. Mindezek alapján jogosan feltételezhető, hogy a napjainkban rutinszerűen alkalmazott antitesteken alapuló kimutatási módszerek mellett, illetve helyett a közeljövőben megjelenhetnek az aptamer alapú élelmiszervizsgálati módszerek is.

## Irodalom

- Bardoczy, V., Geczi, V., Sawasaki, T., Endo, Y. and Meszaros, T. (2008). A set of ligation-independent in vitro translation vectors for eukaryotic protein production. *BMC Biotechnol*, 8, 32
- Baskerville, S., Zapp, M. and Ellington, A.D. (1999). Anti-Rex aptamers as mimics of the Rex-binding element. *J Virol*, 73(6), 4962-71
- Drolet, D.W., Moon-McDermott, L. and Romig, T.S. (1996). An enzyme-linked oligonucleotide assay. *Nat Biotechnol*, 14(8), 1021-5
- Ellington, A.D. and Szostak, J.W. (1990). In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*, 346(6287), 818-22
- Famulok, M. and Szostak, J.W. (1992). Stereospecific recognition of tryptophan agarose by in vitro selected RNA. *Journal of the American Chemical Society*, 114, 3990–3991
- Geiger, A., Burgstaller, P., Von der Eltz, H., Roeder, A. and Famulok, M. (1996). RNA aptamers that bind L-arginine with sub-micromolar dissociation constants and high enantioselectivity. *Nucleic Acids Res*, 24(6), 1029-36
- Gyurcsányi, E.R. (2005). Új irányok a biomolekuláris felismerés detektálásában. *Magyar Kémiai Folyóirat*, 111(3)
- Hermann, T. and Patel, D.J. (2000). Adaptive recognition by nucleic acid aptamers. *Science*, 287(5454), 820-5
- Jayasena, S.D. (1999). Aptamers: an emerging class of molecules that rival antibodies in diagnostics. *Clin Chem*, 45(9), 1628-50
- Klussmann, S., Nolte, A., Bald, R., Erdmann, V.A. and Furste, J.P. (1996). Mirror-image RNA that binds D-adenosine. *Nat Biotechnol*, 14(9), 1112-5
- Mendonsa, S.D. and Bowser, M.T. (2004). In vitro selection of high-affinity DNA ligands for human IgE using capillary electrophoresis. *Anal Chem*, 76(18), 5387-92
- Niazi, J.H., Lee, S.J. ; Kim, Y. S. ; Gu, M.B. (2008). SsDNA aptamers that selectively bind oxytetracycline. *Bioorganic and medicinal chemistry*, 16, 1254-1261
- Pan, Q. et al. (2005). Aptamers That Preferentially Bind Type IVB Pili and Inhibit Human Monocytic-Cell Invasion by *Salmonella enterica* Serovar Typhi. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49(10), 4052-4060
- Sampson, T. (2003). Aptamers and SELEX: the technology. *World Patent Information*, 25, 123-129

- Schurer, H. et al. (2001). Aptamers that bind to the antibiotic moenomycin A. *Bioorg Med Chem*, 9(10), 2557-63
- Takemura, K. et al. (2006). DNA Aptamers That Bind to PrPC and Not PrPSc Show Sequence and Structure Specificity. *Experimental Biology and Medicine*, 231(2), 204-214
- Tereshko, V., Skripkin, E. and Patel, D.J. (2003). Encapsulating streptomycin within a small 40-mer RNA. *Chem Biol*, 10(2), 175-87
- Tombelli, S., Minunni, M. and Mascini, M. (2005). Analytical applications of aptamers. *Biosens Bioelectron*, 20(12), 2424-34
- Yaxin, J., Xiahohong, F. and Chunli, B. (2004). Signaling Aptamer/Protein Binding by a Molecular Light Switch Complex. *Analytical Chemistry*, 76, 5230-5235
- Zimmerman, J.M. and Maher, L.J., 3rd (2002). In vivo selection of spectinomycin-binding RNAs. *Nucleic Acids Res*, 30(24), 5425-35

## **Aptamerek – az antitestek lehetséges alternatívái**

### **Összefoglalás**

Az antitesteken alapuló eljárások számos különböző szerkezetű élelmiszerszennyező szelektív kimutatását teszik lehetővé. Az ellenanyagok széleskörű alkalmazásának alternatíváját jelenthetik az ún. aptamerek, amelyek jól kötődhetnek számos különféle molekulához. A SELEX eljárás elméleti lehetőséget teremt nagy számú aptamer gyors és költséghatékony előállítására. Az aptamer-célmolekula kölcsönhatás számos analitikai kimutatási módszer alapjául szolgálhat. Mindezek alapján jogosan feltételezhető, hogy a napjainkban rutinszerűen alkalmazott antitesteken alapuló kimutatási módszerek mellett, illetve helyett a közeli jövőben megjelenhetnek az aptamer alapú élelmiszervizsgálati módszerek is.

## **Aptamers – Possible Alternatives of the Antibodies**

### **Abstract**

Methods based on antibodies provide the possibility for the selective identification of many food contaminants. The so-called aptamers well combined to different molecules could be the alternative. The SELEX procedure provides a theoretical possibility for a rush and cost-efficient production of many aptamers. The interaction between aptamer and molecule can be the basic for many analytical identification methods. In consideration of all that statements it can be assumed that beside or instead of identification routine methods on the basis of antibodies also food investigation methods on the basis of aptamers will be available in the next future.