

·综述·

## 信号适体的设计策略及应用

刘丰伟, 兰小鹏\*

(福建医科大学福州总医院临床医学院全军医学检验中心, 福州 350025)

**摘要** 信号适体兼具分子识别和信号转导的功能.从随机寡核苷酸库中筛选出的适体,要经过合理设计和筛选后修饰,才具备信号转导功能.信号适体可分为标记和非标记两大类.本文着重介绍荧光标记信号适体的设计策略,包括基于荧光偏振分析标记一个荧光基团,及基于荧光共振能量转移同时标记荧光基团、淬灭基团,或两个荧光基团的信号适体(包括分子信标适体、结构转换和原位标记信号适体).非标记信号适体的设计,有嵌合法、置换法、光转换复合物法,及适体-多聚物偶联法.此外,亦可直接从体外筛选出信号适体.信号适体的诸多优点利于其用于生物传感器及均相液相中实时蛋白识别与定量分析.

**关键词** 分子识别因子;信号转导;设计策略;荧光标记信号适体;非标记信号适体;荧光偏振;荧光共振能量转移;直接体外筛选;生物传感器;实时蛋白识别与定量

**中图分类号** Q54

## Design Strategies and Applications of Signaling Aptamers

LIU Feng-Wei, LAN Xiao-Peng\*

(People's Liberation Army Center of Laboratory Medicine, Fuzhou General Hospital,  
Clinical Medicine School of Fujian Medical University, Fuzhou 350025, China)

**Abstract** Signaling aptamers are aptamer probes that couple molecular recognition to signal transduction. Aptamers do not have signaling capabilities when they are isolated from random-sequence libraries and can be engineered into signal reporters by rational design based post-selection modifications. The existing rational design strategies can be divided into two groups: labeled and labeled-free signaling aptamers. Different signaling strategies of using one fluorophore labeled aptamers based on fluorescence polarization assay, dual labeled aptamers based on fluorescence resonance energy transfer such as molecular beacon aptamers, structure-switching signaling aptamers and *in situ* labeled aptamers, or other labeled-free aptamers including chimeric aptamer approach, substitution approach, light-switch complex approach and aptamer-polymer conjugate approach are reviewed. *In vitro* selection approach for generating aptamers that can be immediately transformed into effective signaling probes without the need for further optimization is also described. These signaling aptamers can be a useful tool for the development of biosensors and homogeneous assays especially in real time protein recognition and quantitation which do not require multiple immobilisation or washing steps.

**Key words** molecular recognition; signal transduction; design strategy; labeled signaling aptamers; labeled-free signaling aptamers; fluorescence polarization; fluorescence resonance energy transfer; *in vitro* selection; biosensor; real time protein recognition and quantitation

适体(aptamer)实质上是体外人工合成具有确定二级或三级结构的单链DNA或RNA寡核苷酸分子,通过配体指数增强系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)可从随机寡核苷酸库中筛选出针对任何靶分子(包括核苷酸序列、蛋白质、代谢产物、药物、毒物、无机物等)的适体。

收稿日期:2006-04-24,接收日期:2006-08-08

全军医学科学技术研究“十一五”计划课题

\*联系人 Tel:13805013386; Fax:0591-83732129;

E-mail: lanxp@sina.com.cn

Received: April 24, 2006; Accepted: August 8, 2006

Supported by Military Medicine Science and Technology Research Foundation of PLA(No.06G038)

\* Corresponding author Tel: 13805013386; Fax:0591-83732129;

E-mail: lanxp@sina.com.cn

最近几年来,适体的筛选逐步实现了自动化<sup>[1-3]</sup>,多重并联、高通量的自动化工作站使适体体外筛选的时间从几个月缩短到几天,这更增强了适体的竞争优势.适体的制备过程无需动物或细胞,对靶标有严格的识别能力和反应的特异性,且具有反应条件的可修饰性和检测应用的广泛性,不仅可与抗体相抗衡而且在某些方面可弥补抗体性能的不足.因此,适体在分析和诊断方面的应用前景十分看好.

信号适体集分子识别特异性和信号转导功能于一体.从随机寡核苷酸库中筛选出的适体并不具有信号转导的功能,必需通过合理地设计、选择后修饰及修饰后再优化等诸多步骤才能构建一个理想的信号适体.

理想的信号适体设计策略应具备以下3个要素<sup>[4]</sup>:

1)应用的普遍性.不论适体的空间构象和大小如何,都可以使用该设计方案.

2)信号呈递的敏感性、精确性、快速性及实时性.信号适体结合靶标后呈现出大的信号增强,可提高相关分析的敏感性和精确性,实时报告能力可用于快速检测和高通量筛选(high throughput screening, HTS).

3)亲和力和特异性的不变性.以该方案设计的信号适体不改变其与相应靶标结合的亲和力及特异性.

因为对凝血酶和ATP适体的结构和功能了解得较为透彻,故目前多采用这两种适体作为研究设计的对象.信号适体包括标记和非标记两大类.标记基团多用荧光基团,非标记信号适体有诸多不同设计方案.另外,还可直接从体外筛选出具有信号转导功能的适体.各种不同的设计方案均有其优缺点,如何集各所长构建一个理想的信号适体设计策略是现今研究的关键所在.

## 1 荧光信号适体

荧光信号易于检测,以及检测方法和可供选择的荧光基团(或荧光基团-淬灭基团对)具有多样性,使荧光信号适体优势突出.荧光信号适体(fluorescent signaling aptamers)包括单载体标记(monochromophore labeling)、双载体标记(bischromophore labeling)两大类.

### 1.1 单载体标记

在偏振光激发下,荧光体所发射的荧光亦是偏

振光.许多因素可使荧光偏振(fluorescence polarization, FP)消偏.当激发光位于荧光主体吸收带且没有发生分子间能量转移损失时,其偏振度与荧光体的转动速度有关.分子越大,旋转越慢,发出的荧光偏振越强;反之,分子越小,旋转越快,发出的荧光偏振就越弱.

单载体标记(monochromophore labeling)为将一个荧光基团共价连接到适体的某一位点上,适体结合靶标后分子量增加,导致荧光基团旋转运动大大降低,使荧光偏振显著增加.用平面偏振光监测荧光偏振的改变,可指示适体与靶标的结合.另外,核磁共振分析结果显示,适体与靶标相互作用过程中经历了诱导契合构象改变,也会引起旋光率的改变.

McCauley<sup>[5]</sup>等利用荧光偏振原理构建了用于检测凝血酶的传感器.将标记有一个荧光基团的凝血酶适体固定于玻璃载体上,适体绕其附着点旋转的速度随着凝血酶的结合而降低,进而引起荧光偏振增强(Fig.1,见第791页彩版).

标记的荧光基团会干扰适体折叠成正确的空间构象,从而影响其亲和力和特异性,体外直接筛选信号适体有望解决这一问题.Jhaveri<sup>[6]</sup>等建立一个随机RNA寡核苷酸库,每个寡核苷酸中参入一个或几个荧光素标记的尿嘧啶,以此为起始库,以ATP为靶标进行多轮筛选,获得几种可用于实时定量测定ATP的适体(Fig.2).在饱和ATP浓度下,最佳适体呈现出大约2倍荧光强度的增加.然而,有几个筛选出的适体与ATP结合后并不显示荧光信号增强,因此,这种直接体外筛选方案并不能保证可筛选出高效荧光指示功能的信号适体.

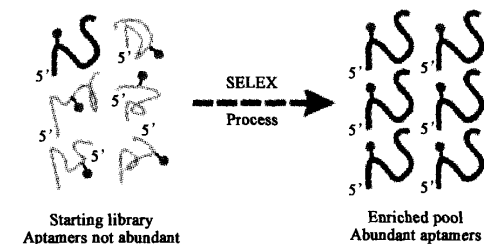


Fig. 2 *In vitro* selection single fluorophore labelling aptamer<sup>[4]</sup>

●: F(fluorophore)

标记荧光基团的选择,对于获得较大信号量值也同样重要.荧光素和吖啶标记的适体结合靶标后,荧光强度改变较小,Yamana等<sup>[7]</sup>改用二聚苝(bis-

pyrene)作为荧光标记基团,获得了较好的信号指示效果。

## 1.2 双载体标记

双载体标记(bischromophore labeling)包括分子信标法、结构转换法和原位标记法。设计分子信标适体需要预先知道适体的空间构象和/或适体与靶标结合后特征性的构象变化,结构转换信号适体设计则具有应用的普遍性,可适用于任一已知适体。

### 1.2.1 分子信标适体

分子信标用于核酸的识别和检测,若将同样原理应用于信号适体的设计中,则可构建一种新型的分析型探针——分子信标适体(molecular beacon aptamers, MBA),它兼具有分子信标信号转导的敏感性和适体识别并结合靶标的特异性,与分子信标所不同的是,其靶分子范围则广得多。

分子信标适体大致可分为二类:

其一是基于荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)的荧光基团-淬灭基团对(Fig.3,见第 791 页彩版)。将荧光基团和淬灭基团共价连接于适体上,当荧光基团和淬灭基团紧紧地靠在一起时,荧光基团在激发光源激发下产生的荧光被淬灭基团吸收并以热能得形式散发掉,此时检测不到荧光信号。当引入靶标后,适体和靶标结合引起适体构象的改变,使荧光基团和淬灭基团之间的距离增大,因此荧光基团就发出荧光。

其二是基于荧光共振能量转移的供体-受体对。将 2 个荧光基团共价连接于适体上,供体的发射光谱与受体的激发光谱相重叠,供体受激发发出的荧光将激发受体产生荧光,由此产生供体荧光强度降低和受体荧光强度增加。适体与靶标结合引起其构象改变,使两荧光基团的距离也发生改变,距离的改变直接影响两个荧光基团之间荧光共振能量转移的效率。对 B-DNA 而言,要产生有效的荧光共振能量转移,则两荧光基团的最大距离不能超过  $5.8\text{ nm}^{[8]}$ 。比较加入靶标前、后供体与受体荧光强度的比值可大大提高信号增强因子,若同时使用 Ratiometric 成像系统将降低背景,使靶标成像敏感性增加<sup>[9]</sup>。

由于各种适体的空间构象不同,因此设计分子信标适体的方案也各不相同,但其目的都是要在引入靶标后,使两个标记基团的距离发生较大的改变。

Yamamoto 等<sup>[10]</sup>将 HIV Tat RNA 适体切割为 2 个寡核苷酸,这 2 个寡核苷酸存在部分互补配对序列,其中一个用于构建分子信标(在其两末端添加几个核苷酸,以形成互补配对发卡结构,同时标记荧光素

和 DABCYL)。无 Tat 时,2 个寡核苷酸独立存在,互不干扰,溶液的荧光强度低;引入 Tat 后,分子信标发生构象改变,发卡结构打开,与另一个寡核苷酸重新装配组合,并结合 Tat 蛋白,伴之荧光信号的增强(Fig.4,见第 791 页彩版)。这一设计要求适体具有较长的互补配对二级结构,才能被切割为两个独立的分子。

核磁共振和 X 射线衍射研究结果证实,游离的凝血酶适体处于不规则螺旋结构和紧密单分子四聚体(含两个 G-四聚体)这两种状态的平衡之中,凝血酶的引入将打破这一平衡,使适体倾向于形成紧密单分子四聚体(Fig.5)。Li 等<sup>[9]</sup>利用这种特征性构象变化构建了凝血酶分子信标适体。凝血酶适体有 15 个核苷酸共同基序,第 4~12 位是凝血酶结合位点,故在第 1、15 两个位点进行双载体标记,可使标记基团干扰作用降到最低。此信号适体对凝血酶的检测下限可达  $112\text{ pmol/L}$ 。

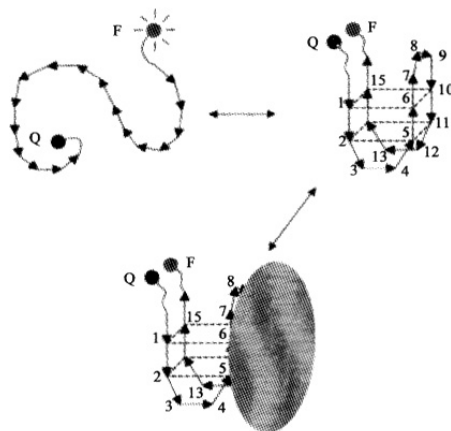
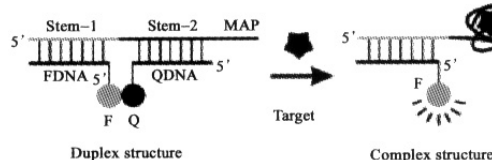


Fig. 5 Molecular beacon aptamer strategy for analyzing thrombin<sup>[9]</sup>

●: F (fluorophore); ●: Q (quencher); ◉: thrombin

### 1.2.2 结构转换信号适体

同是双载体标记, Nutiu 等<sup>[11]</sup>设计的结构转换信号适体(structure-switching signaling aptamers)较分子信标适体确实有其独到之处。如 Fig.6 所示,结构转换信号适体包括 3 部分:FDNA(5'端标记一荧光基团)、QDNA(3'端标记一淬灭基团)和 MAP(包括两部分:适体部分——以黑色表示,FDNA 结合基序——以灰色表示)。MAP 部分碱基与 QDNA 互补配对,这部分碱基邻近 FDNA 结合基序。无靶标存在时,信号适体的 3 部分杂交成双链结构,荧光基团和

Fig.6 Structure-switching signaling aptamer strategy<sup>[11]</sup>

●: F (fluorophore); ●: Q (quencher); ●: Target

淬灭基团靠得很近,使淬灭基团可有效淬灭荧光。由于适体-靶标复合物的稳定性高于适体-寡核苷酸双螺旋,靶标引入将诱导 QDNA 释放,双链结构转变为复合物结构,荧光基团和淬灭基团之间的距离变大,荧光强度随之增强。

不论大小和空间构象如何,适体均具备与其反义寡核苷酸形成杂交双链和结合相应靶标的能力,故结构转换信号适体设计策略具有应用的普遍性。其次,它还有运用简便,标记位点灵活,省时高效等多方面的优点。

此外, Nutiu 等<sup>[12]</sup> 还成功地从随机 ssDNA 库中,直接筛选出结构转换信号适体。SELEX 筛选所用的经典 ssDNA 库是由中间随机序列和两侧翼引物结合序列 (primer binding domains, PBDs) 组成。直接筛选结构转换信号适体所用的 ssDNA 库也包含侧翼的两个 PBDs,与经典 ssDNA 库所不同的是其中间序列包括 3 部分,即两端较短的随机序列 (Fig.7, 用浅蓝色片段表示) 和正中固定序列 (用红色片段表示)。正中固定序列与一 5'-生物素化的 ssDNA 互补配对形成双链结构,并将 ssDNA 库固定在亲和素交联的磁珠上。引入靶标后,ssDNA 库中潜在适体与靶标的亲和力更高,更倾向于与之形成复合物,这样适体便从双链结构中释放出来。 $P_1$ 、 $P_2$  为两小片段 DNA 分子,它们与相应的 PBDs 互补。 $P_1$ 、 $P_2$  参与双链结构组装具有两个作用:其一,ssDNA 比 dsDNA 更易参与 DNA 三级结构的形成,若以  $P_1$ 、 $P_2$  封闭 PBDs,将大大降低 PBDs 对适体三级结构形成的干扰作用;更为重要的是, $P_1$  或  $P_2$  可设计为 FDNA, BDNA 则设计为 QDNA,也就是说,将荧光基团标记于  $P_1$  或  $P_2$ ,淬灭基团标记于 BDNA,则筛选出来的适体可直接构建成结构转换信号适体而无需优化步骤。

### 1.2.3 原位标记方法

荧光胺 (fluorescamine, FCM) 是一种荧光发生素复合物,它可快速地与胺基团发生反应。适体合成时掺入一个或几个 2'-胺基团,同时标记另一个荧光基团,作为供体荧光胺的受体。无靶标存在时,荧光胺

能快速地连接到适体上,故可检测到荧光共振能量转移。有靶标存在时,适体-靶标复合物的形成阻止荧光胺连接到 2'-胺基团上,则不存在荧光共振能量转移 (Fig.8)。Edward 等<sup>[14]</sup> 成功地将此设计策略用于一 ATP 适体,从而构建了液相荧光检测传感器。

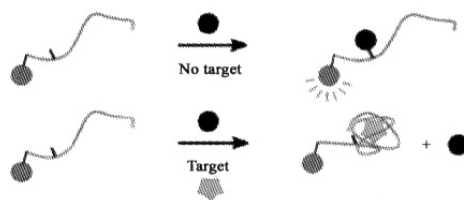


Fig.8 In situ labeling approach

●: F1 (acceptor); ●: F2 (donor); ●: Target

## 2 非标记的信号适体

要通过 X 衍射或核磁共振分析,才能确定适体的三维构象及其与靶标的结合位点,且现今筛出的适体多为易于降解的 RNA 寡核苷酸,这均增加了标记信号适体的设计难度。构建非标记信号适体 (labeled-free signaling aptamers) 能在一定程度上克服这些困难。

### 2.1 嵌合适体法

嵌合信号适体 (chimeric signaling aptamer) 有两个功能区,一个功能区识别并结合荧光基团,另一个功能区则识别并结合靶标。引入靶标和荧光基团后,靶标与适体上相应功能区结合将增高<sup>[15]</sup> 或降低荧光基团与其功能区的亲和力。指示信号来源于嵌合信号适体与荧光基团结合或分离而伴随出现的荧光强度的改变 (Fig.9)。

### 2.2 置换法

Stojanovic 和 Landry<sup>[16]</sup> 从 35 种染料中筛选出二乙基硫代三碳氰化碘 (diethylthiotricarbocyanine iodide) 来构建检测可卡因的光敏传感器。这种染料既能与适体结合,又能被可卡因从适体中置换出来,随着可卡因加入浓度的增加 (2 ~ 600  $\mu\text{mol/L}$ ), 溶液

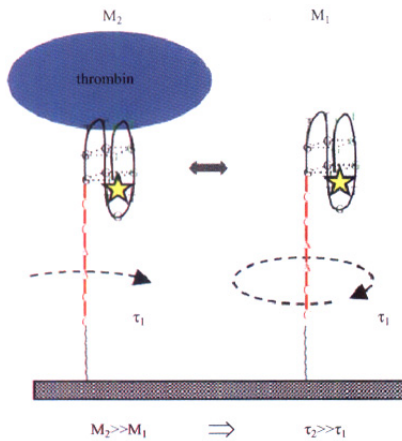


Fig.1 Effect of thrombin binding on fluorophore mobility for fluorescence polarization anisotropy measurements<sup>[8]</sup>

在 760 nm 处吸光度逐渐降低 (Fig.10). 加入可卡因的代谢产物如苯酰牙基碱并未引起适体-染料复合物可见光谱的改变, 说明此传感器具有高选择性.

### 2.3 光转换复合物法

适体与靶标结合前后构象的改变, 使其二级结构中螺旋双链含量亦发生改变, 可利用双链结合染料结合核苷酸螺旋双链后产生光学特性的改变, 来

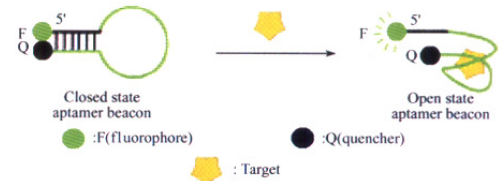


Fig.3 Working mechanism of the fluorophore-quencher labeled MAB<sup>[4]</sup>

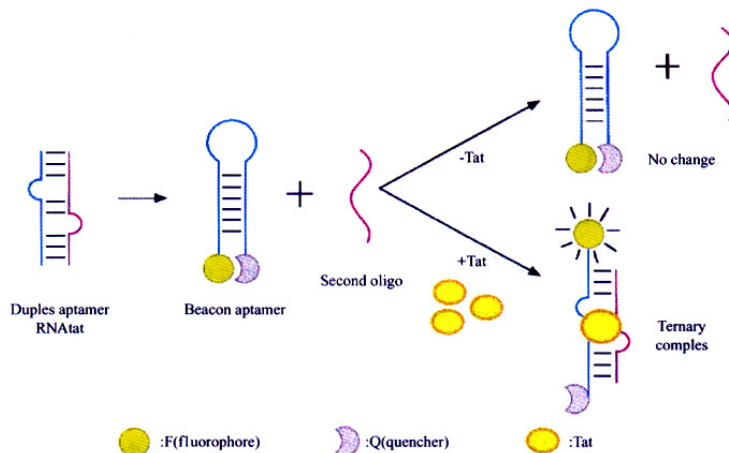


Fig.4 Molecular beacon aptamer strategy for analyzing the viral protein (Tat)<sup>[10]</sup>

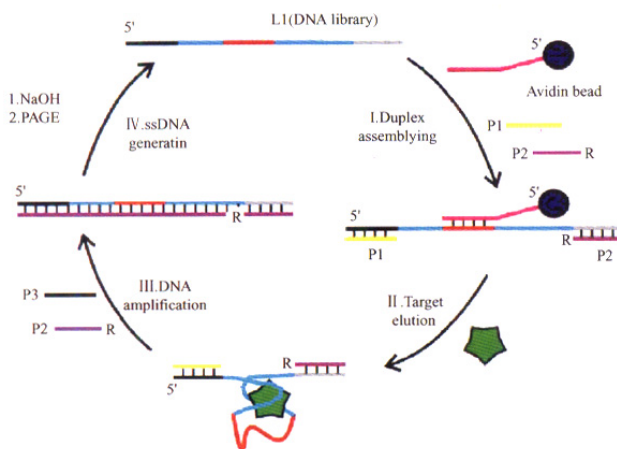


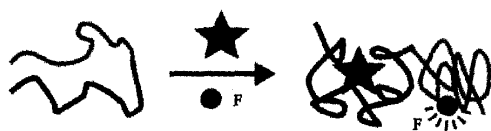
Fig.7 In vitro selection of structure-switching signaling aptamers<sup>[13]</sup>

I. L1 (DNA library), BDNA (biotin-containing DNA), P1, and P2 are hybridized and immobilized on avidin-coated beads.

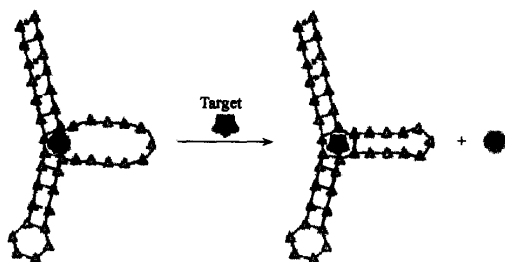
II. Aptamers capable of switch-structures from the duplex with BDNA to the complex with the target are isolated by target elution.

III. The selected sequences are amplified by PCR using P2 and P3 as primers.

IV. The sense strand is isolated PAGE purification following a treatment with NaOH. The resulted DNA molecules are again annealed to BDNA, P1, and P2 for a new round of selection. The reverse primer contained a ribonucleotide (R) at its 3'-end to create a chimeric antisense strand prone to NaOH mediated cleavage, which permitted the isolation of the sense strand by gel electrophoresis.

Fig. 9 Chimeric aptamer approach<sup>[13]</sup>

●: F (fluorophore); ★: Target

Fig. 10 Substitution approach<sup>[17]</sup>

●: Dye; ★: Target

指示适体与靶标的结合并进行定量分析 (Fig. 11)。

Fig. 11 Light-switch complex approach<sup>[13]</sup>

●: Duplex binding dye; ★: Target

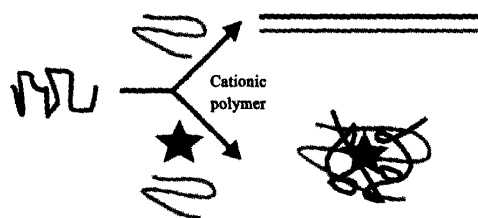
Jiang 等<sup>[18]</sup> 用双链结合染料 ( $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ) 来检测 IgE、血小板衍生生长因子-BB (PDGF-BB)、 $\alpha$  凝血酶与相应适体的结合并进行定量分析, 检测下限分别可达 100 pmol/L、1.0 nmol/L、10 pmol/L。Zhou 等<sup>[19]</sup> 则用 DNA 嵌合染料 TOTO 替代 ( $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ) 测定 PDGF-BB, 检测下限亦可达 100 pmol/L。

#### 2.4 适体-多聚物偶联法

水溶性的阳离子多聚噻吩可与阴离子 ssDNA 相偶联并具有一定的光学特性, 而适体-靶标复合物则阻止这种偶联物的形成, 从而使溶液的光学特性发生改变 (Fig. 12)。Ho 和 Leclerc<sup>[20]</sup> 利用此原理构建光敏传感器用于对凝血酶的定量测定, 其灵敏度可达 fmol/L 水平。适体与凝血酶的结合促进了适体形成紧密 G-四聚体构象, 阳离子多聚噻吩衍生物将 G-四聚体包裹起来, 三者以等比例混合时, 溶液呈桔黄色并具有特征性的紫外-可见光谱。

### 3 展望

信号适体可用于均相液相及活体标本实时蛋白

Fig. 12 Aptamer-polymer conjugate approach<sup>[13]</sup>

⊃: Cationic polymer; ★: Target

识别和检测。作为细胞内蛋白识别因子, 可精确量不同时空基因表达, 监测蛋白质不同代谢水平及蛋白质-DNA/RNA 的相互作用; 在蛋白质组学方面, 尤其是在以细胞为基础的肿瘤蛋白组学方面, 将是今后信号适体研究的热点领域。

以信号适体构建的生物传感器, 将各种光学信号转变为电信号提高了检测的灵敏度; 另外, 无需固定和多重洗涤, 可持续监测溶液中分析物的浓度, 使信号适体生物传感器更适合高通量快速检测的需要。

信号适体的应用并未仅仅停留在对被分析物的检测水平上。例如, 就结构转换信号适体而言, 其结构转换或构象改变是一个可逆过程, 溶液中两种结构或构象总是处于动态平衡之中, 靶标浓度的变化可转换为信号的动态变化, 如果这一变化是由酶催化作用所致, 则酶活性与所检测到的信号改变相一致。因此, 结构转换信号适体可用来实时地监测酶介导的化学反应进程, 并对酶蛋白的活性进行定量分析。

信号适体的研究尚处于起步阶段, 其设计还需不断优化, 应用潜力还有待进一步开发。例如, 在设计策略适用的普遍性、避免标记后亲和力特异性的改变、降低本底信号、提高信号改变量值及减少由多种不确定因素造成的假阳性等方面均需不断改进。另外, 有些检测需将信号适体导入活体细胞内, 故其对细胞内成分如核酸酶的切割应具有较强的抵抗力。现今, 信号适体主要用于均相液相中分析物的检测, 如要拓展信号适体在生物传感器及生物芯片方面的应用, 对于寡核苷酸的表面固定方法及固定后信号适体功能保留等方面还需作更深入的探索。

#### 参考文献 (References)

- [1] Cox J C, Rajendran M, Riedel T, et al. Automated acquisition of aptamer sequences[J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2002, 5(4): 289-299

- [ 2 ] Bock C, Coleman M, Collins B, *et al.* Photoaptamer arrays applied to multiplexed proteomic analysis[J]. *Proteomics*, 2004, **4**(3): 609-618
- [ 3 ] Eulberg D, Buchner K, Maasch C, Klussmann S. Development of an automated *in vitro* selection protocol to obtain RNA-based aptamers: identification of a biostable substance P antagonist[J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, **33**(4): e45
- [ 4 ] Nutiu R, Li Y. Structure-switching signaling aptamers; transducing molecular recognition into fluorescence singaling [J]. *Chemistry*, 2004, **10**: 1868-1876
- [ 5 ] McCauley T G, Hamaguchi N, Stanton M. Aptamer-based biosensor arrays for detection and quantification of biological macromolecules [J]. *Anal Biochem*, 2003, **319**(2): 244-250
- [ 6 ] Jhaveri S, Rajendran M, Ellington A D. *In vitro* selection of signaling aptamers[J]. *Nat Biotechnol*, 2000, **18**(12): 1293-1297
- [ 7 ] Yamana K, Ohtani Y, Nakano H, Saito I. Bis-pyrene labeled DNA aptamer as an intelligent fluorescent biosensor[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, **13**(20): 3429-3431
- [ 8 ] Zhang P, Beck T, Tan W. Design of a molecular beacon DNA probe with two fluorophores[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2001, **40**(2), 402-405
- [ 9 ] Li J J, Fang X, Tan W. Molecular aptamer beacons for real-time protein recognition[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **292**(1): 31-40
- [ 10 ] Yamamoto R, Baba T, Kumar P K. Molecular beacon aptamer fluoresces in the presence of Tat protein of HIV-1[J]. *Genes Cells*, 2000, **5**(5): 389-396
- [ 11 ] Nutiu R, Li Y. Structure-switching signaling aptamers[J]. *J Am Chem Soc*, 2003, **125**(16): 4771-4778
- [ 12 ] Nutiu R, Li Y. *In Vitro* selection of structure-switching signaling aptamers[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2005, **44**(7): 1061-1065
- [ 13 ] Nutiu R, Li Y. Aptamer with fluorescence-singaling properties[J]. *Methods*, 2005, **37**(1): 16-25
- [ 14 ] Merino E J, Weeks K M. Fluorogenic resolution of ligand binding by a nucleic acid aptamer[J]. *J Am Chem Soc*, 2003, **125**(41): 12370-12371
- [ 15 ] Stojanovic M N, Kolpashchikov D M. Modular aptameric sensors[J]. *J Am Chem Soc*, 2004, **126**(30): 9266-9270
- [ 16 ] Stojanovic M N, Landry D W. Aptamer-based colorimetric probe for cocaine[J]. *J Am Chem Soc*, 2002, **124**(33): 9678-9679
- [ 17 ] Tombelli S, Minunni M, Mascini M. Analytical application of aptamers [J]. *Biosens Bioelectron*, 2005, **20**(12): 2424-2434
- [ 18 ] Jiang Y, Fang X, Bai C. Signaling aptamer/protein binding by a molecular light switch complex[J]. *Anal Chem*, 2004, **76**(17): 5230-5235
- [ 19 ] Zhou C, Jiang Y, Hou S, *et al.* Detection of oncoprotein platelet-derived growth factor using a fluorescent signaling complex of an aptamer and TOTO [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2006, **384**(5): 1175-1180
- [ 20 ] Ho H A, Leclerc M. Optical sensors based on hybrid aptamer/conjugated polymer complexes[J]. *J Am Chem Soc*, 2004, **126**(5): 1384-1387