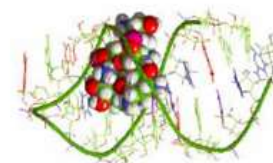


- ➔
- 1 适配子概念及其特点
 - 2 适配子的筛选
 - 3 适配子的应用

Aptamer 适配体

“一段能与靶目标高特异性、高亲和力结合的寡核苷酸配基”

DNA



RNA

适配子的靶目标

- 蛋白质、多肽
- 氨基酸、有机小分子
- 金属离子
- 核酸
- 细胞

适配子的特点

单抗药物的缺点

- 抗原性强
- 组织通透性差
- 生产周期长

适配子的优点

- 特异性强
- 亲和力高
- 靶分子广
- 合成简单、成本低
- 容易改造和修饰

- 1 适配子概念及其特点
- ➔ ● 2 适配子的筛选
- 3 适配子的应用

适配子的筛选 (SELEX技术)

指数富集的配体系统进化技术

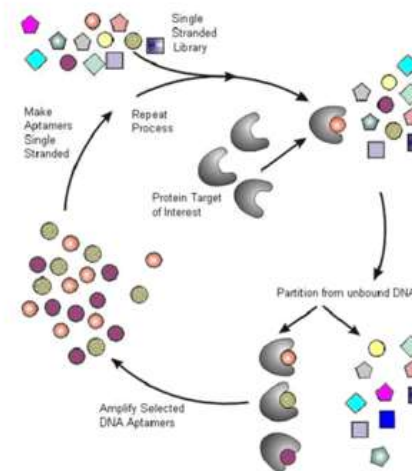
Systematic Evolution of Ligand by Exponential enrichment

- RNA/DNA随机文库的构建
 - ss RNA/DNA随机文库的制备
 - 文库和靶分子的结合
 - 结合RNA/DNA的PCR扩增
 - 富集程度的检测
 - 候选适配子的克隆、测序
 - 适配子亲和力鉴定
- } N个循环

适配子的筛选路线

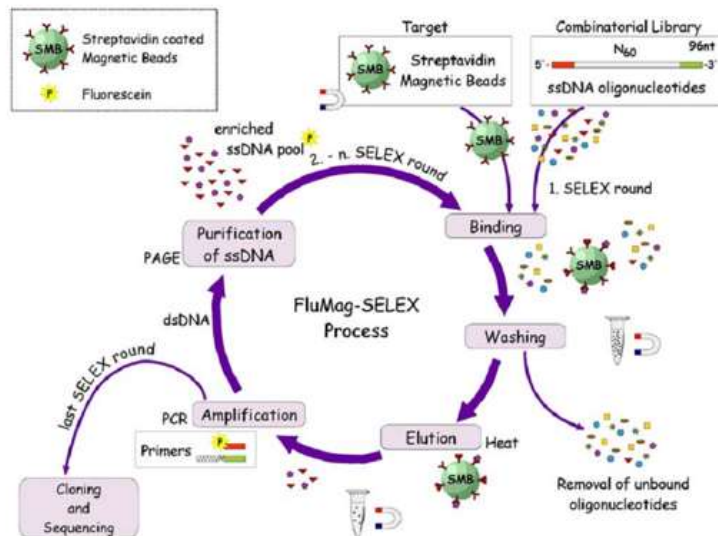
- ➔ • 蛋白质和其他小分子适配子筛选
- 细胞适配子筛选

蛋白质（其他小分子）适配子的筛选



SELEX: Systematic Evolution of Ligands by Exponential Amplification
Tuerk, C. & Gold, L. (1990) Science 249, 505-510

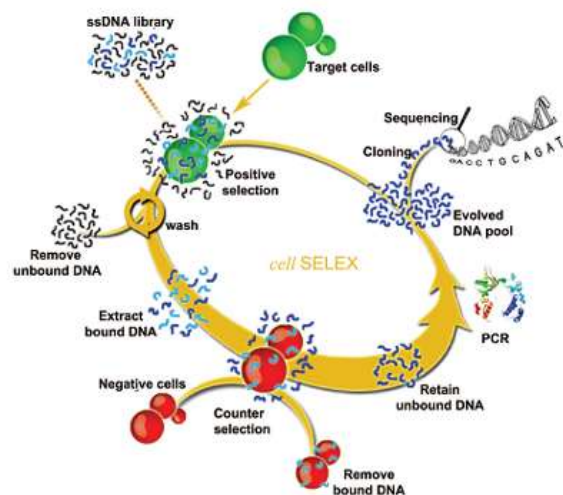
链霉亲和素适配子的筛选



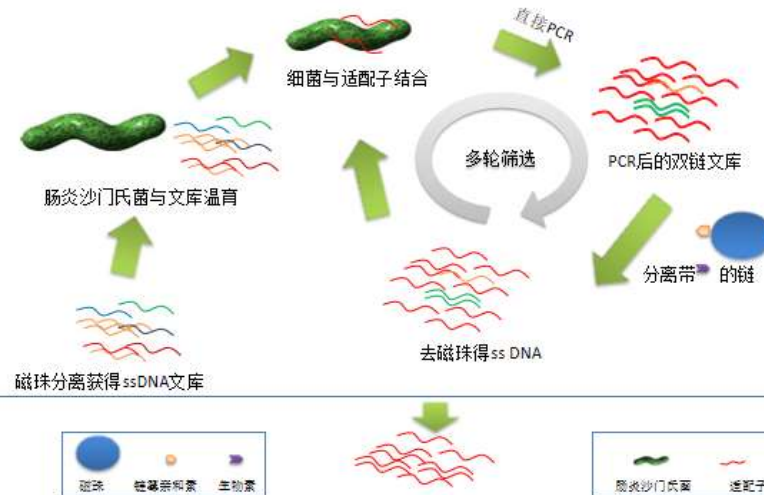
适配子的筛选路线

- 蛋白质和其他小分子适配子筛选
- 细胞适配子筛选

细胞适配子的筛选



肠炎沙门氏菌适配子的筛选

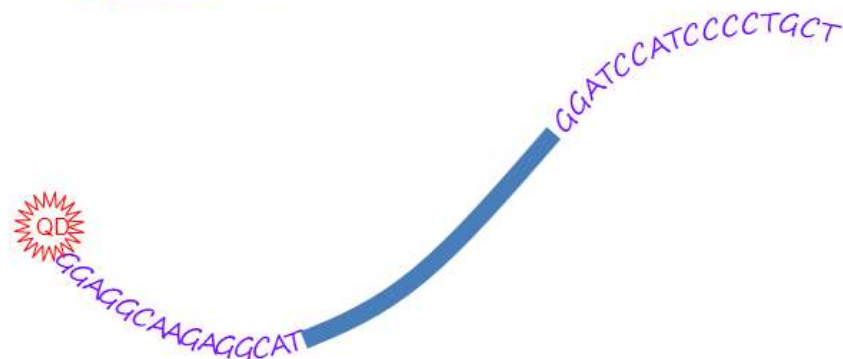


适配子筛选的一般步骤

- RNA/DNA随机文库的构建
 - ss RNA/DNA随机文库的制备
 - 文库和靶分子的结合
 - 结合RNA/DNA的PCR扩增
 - 富集程度的检测
 - 候选适配子的克隆、测序
 - 适配子亲和力鉴定
- } N个循环

随机文库

“一般为两端20bp左右固定序列，中间40~60bp随机序列的双链DNA/RNA”

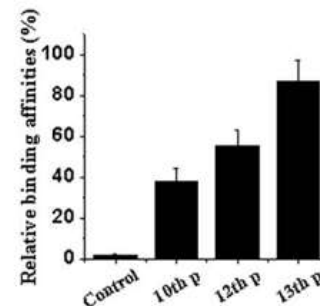


适配子筛选的一般步骤

- RNA/DNA随机文库的构建
 - ss RNA/DNA随机文库的制备
 - 文库和靶分子的结合
 - 结合RNA/DNA的PCR扩增
 - 富集程度的检测
 - 候选适配子的克隆、测序
 - 适配子亲和力鉴定
- } N个循环

常用富集程度的检测方法

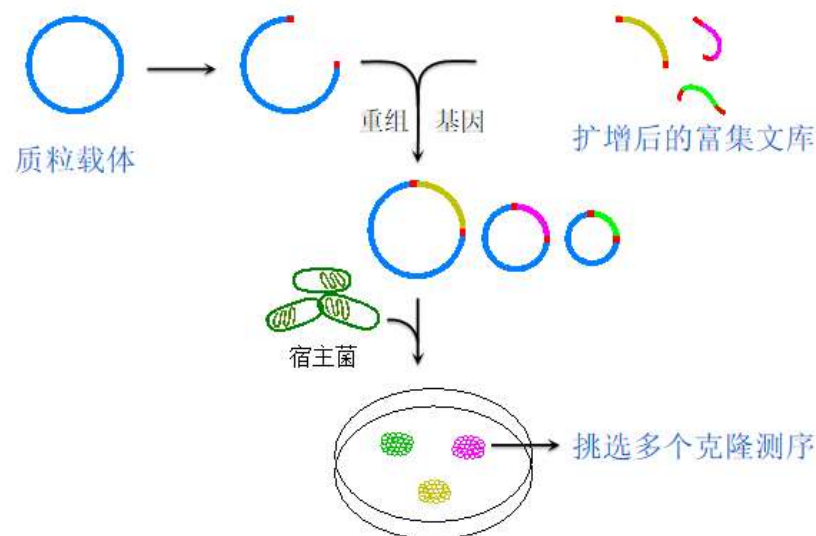
- 紫外分光光度法分析
- 荧光分光光度法分析
- 流式细胞仪分析
- 毛细管电泳分析



适配子筛选的一般步骤

- RNA/DNA随机文库的构建
 - ss RNA/DNA随机文库的制备
 - 文库和靶分子的结合
 - 结合RNA/DNA的PCR扩增
 - 富集程度的检测
 - 候选适配子的克隆、测序
 - 适配子亲和力鉴定
- N个循环

候选适配子的克隆、测序

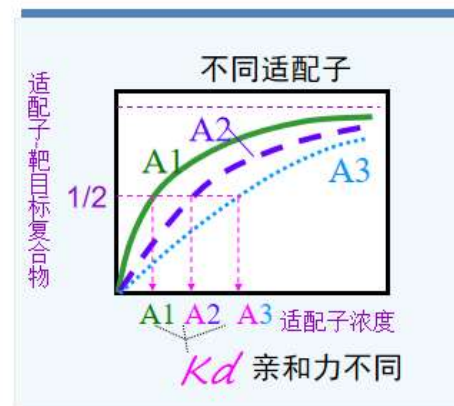


适配子筛选的一般步骤

- RNA/DNA随机文库的构建
 - ss RNA/DNA随机文库的制备
 - 文库和靶分子的结合
 - 结合RNA/DNA的PCR扩增
 - 富集程度的检测
 - 候选适配子的克隆、测序
 - 适配子亲和力鉴定
- N个循环

适配子亲和力的鉴定

“ K_d 值，表征适配子和靶目标亲和力的大小。”



- 1 适配子概念及其特点
- 2 适配子的筛选
- ➔ ● 3 适配子的应用

适配子的应用

- ➔ ● 在基础研究方面的应用
 - 核酸研究
 - 基因调控与信号转导研究
 - 分子间相互作用研究
- 在疾病诊断方面的应用
- 在疾病治疗方面的应用
- 在药物筛选方面的应用

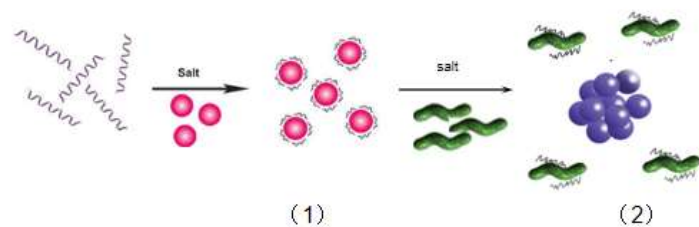
适配子在基因调控和信号转导方面的应用



适配子的应用

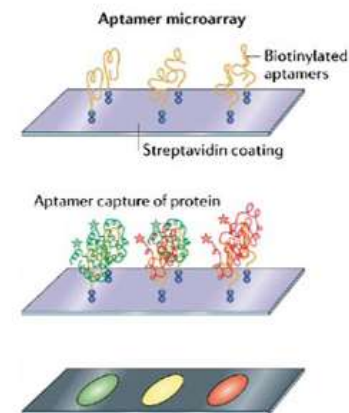
- ➔ ● 在基础研究方面的应用
- 在疾病诊断方面的应用
 - 核酸探针生物传感器；核酸芯片
- 在疾病治疗方面的应用
- 在药物筛选方面的应用

适配子-胶体金体系检测细菌或其他靶目标



- (1) 单链DNA适配子吸附在金纳米粒子上使其分散，溶液呈红色；
(2) 细菌的加入，使适配子亲和结合在菌体上而导致金纳米粒子聚合，呈蓝色

适配子芯片

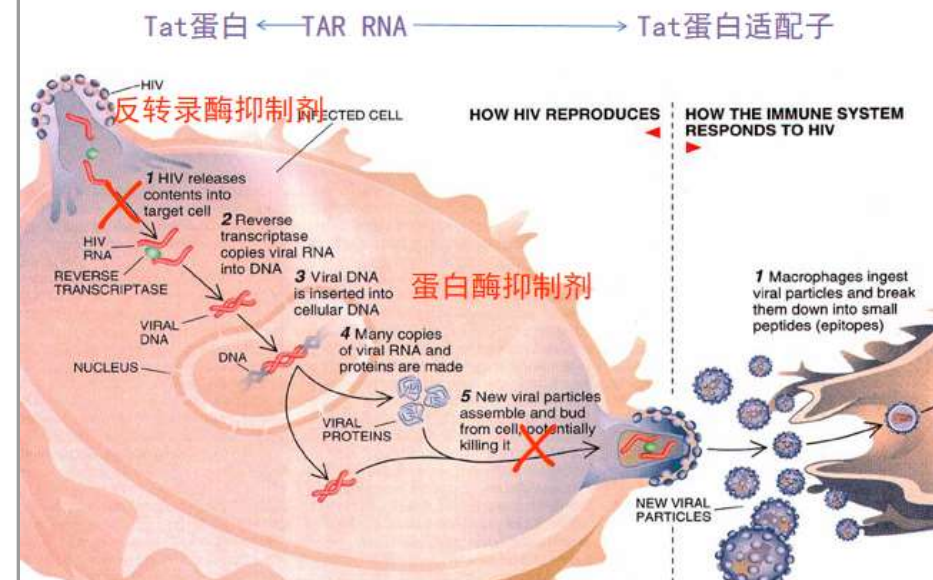


Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Microbiology

适配子的应用

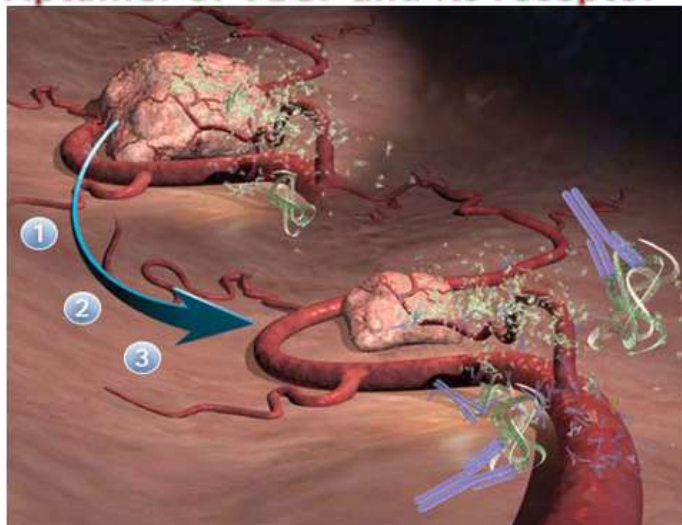
- 在基础研究方面的应用
- 在疾病诊断方面的应用
- 在疾病治疗方面的应用
 - 病毒感染的治疗
 - 肿瘤治疗
 - 自身免疫及炎症治疗
- 在药物筛选方面的应用

适配子在艾滋病治疗方面的应用



适配子在肿瘤治疗方面的应用

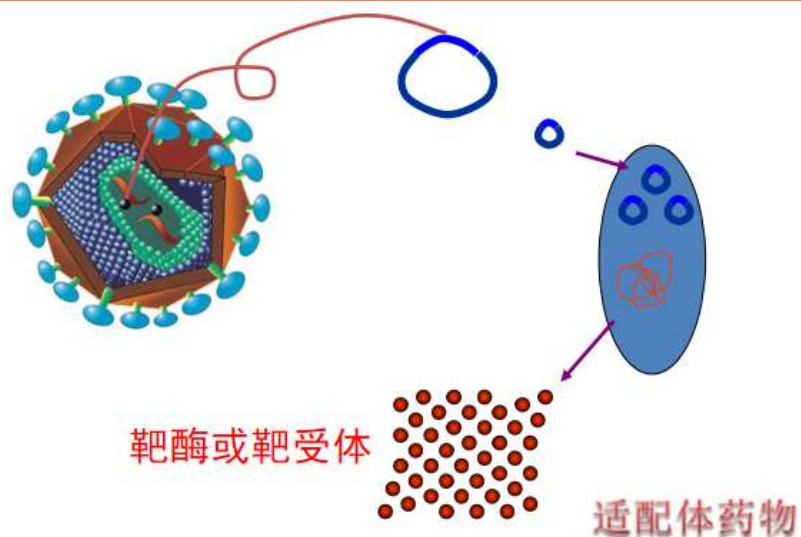
Aptamer of VEGF and its receptor



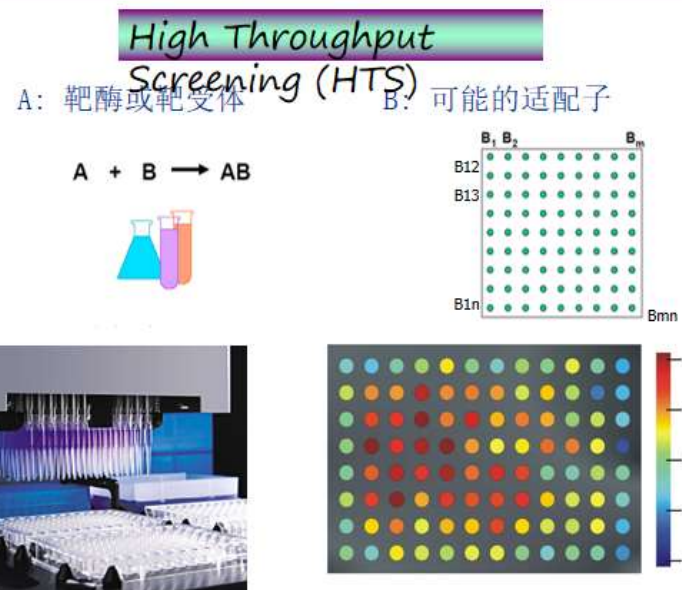
适配子的应用

- 在基础研究方面的应用
- 在疾病诊断方面的应用
- 在疾病治疗方面的应用
 - 病毒感染的治疗
 - 肿瘤治疗
 - 自身免疫及炎症治疗
- ➔ 在药物筛选方面的应用

适配子在药物筛选方面的应用



适配子在药物筛选方面的应用





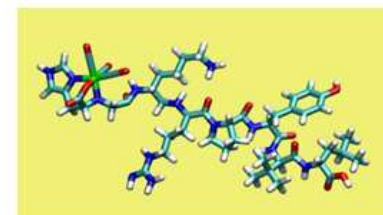
- 1 肽配体概念
- 2 肽配体的筛选

肽配体

Peptamer

肽配体

“一段能与靶目标高特异性、高亲和结合的短肽配基”



- 1 肽配体概念
- 2 肽配体的筛选

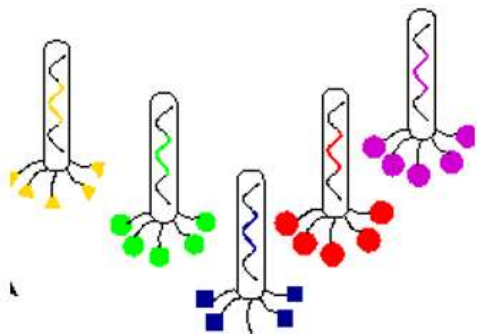
肽配体筛选方法



- 噬菌体展示技术
Phage display technology
- 酵母双杂交技术
Yeast two-hybrid system

噬菌体随机肽库

Phage peptide library



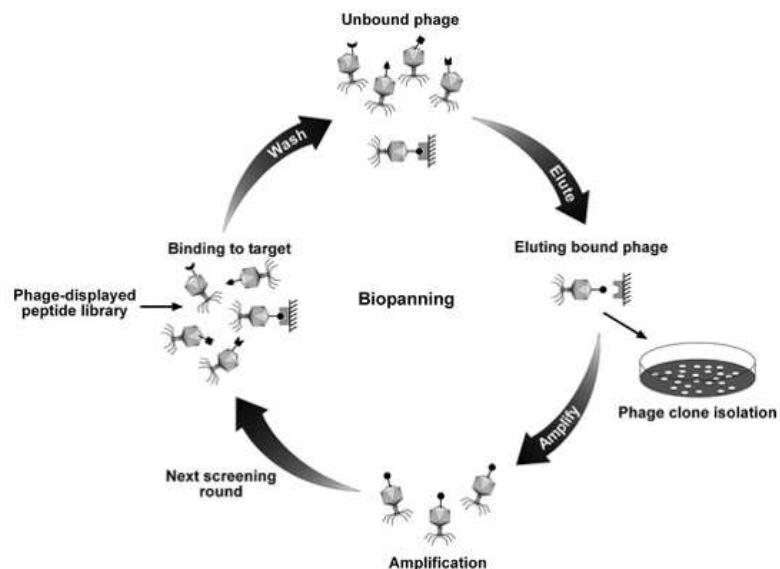
1990

Ph.D.-12™ Phage Display Peptide Library Kit

噬菌体展示技术筛选肽配体的一般步骤

- 噬菌体随机肽库的构建
 - 靶目标的固定
 - 淘筛
 - 捕获噬菌体的扩增
 - 捕获噬菌体融合蛋白基因的克隆、测序
 - 肽配体亲和力鉴定
- } N个循环

肽配体筛选路线示意图

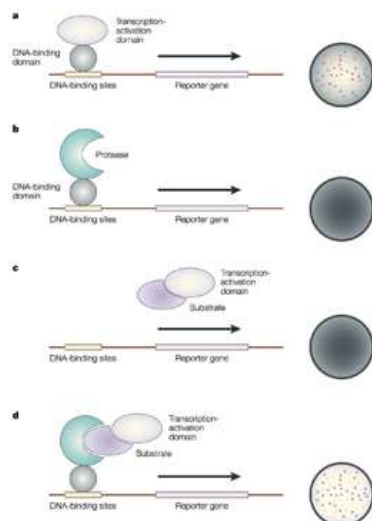
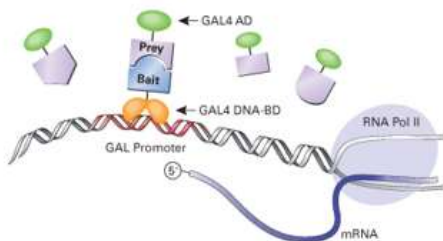


肽配体筛选方法

- 噬菌体展示技术
Phage display technology
- 酵母双杂交技术
Yeast two-hybrid system

酵母双杂交系统

1989



酵母双杂交系统用于肽配体的筛选

