

# LA OTRA CARA DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

J. Adán Badillo Aponte, René Quiroz Morales,  
Alan Rodríguez Enríquez

Licenciatura en Biotecnología

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

[rene\\_qm.92@hotmail.com](mailto:rene_qm.92@hotmail.com)

## RESUMEN

Hasta hace algunos años se creía que el ADN funcionaba únicamente como la molécula de la herencia genética. Sin embargo, con el descubrimiento de los aptámeros en 1990, se encontró que el ADN no sólo es el mensajero y el almacén de la información genética, sino algo más complejo. Las moléculas de los aptámeros son estructuras secundarias de ARN capaces de reconocer estructuras de forma específica estabilizadas por complementariedad de bases y puentes de hidrógeno. Los aptámeros han marcado una nueva era dentro de la ingeniería genética y la biotecnología, en donde principalmente se han utilizado como biosensores. Además, recientemente se han descubierto otros tipos de aptámeros y sus posibles aplicaciones se han ampliado, lo que ha hecho que los aptámeros sean moléculas de creciente interés científico. En éste trabajo se abordan los aspectos generales, las aplicaciones y las perspectivas de los aptámeros.

**Palabras clave:** Aptámeros, Biotecnología, Nucleótidos, Nanoacarreadores, Biosensores, Estructuras secundarias, RNA, Marcadores moleculares, Terapia médica, Cáncer.

## ABSTRACT

Until recently DNA was thought to only work as the molecule of genetic inheritance. However, with the discovery of aptamers in 1990, DNA was found to be not only the messenger and warehouse of genetic information, but a much more complex structure. Aptamer molecules are RNA secondary structures capable of identifying specific-like structures and are stabilized by complementarity of bases and hydrogen bonding. Aptamers have marked a new era in genetic engineering and biotechnology, where they have mainly been used as biosensors. Furthermore, other types of aptamers have recently been discovered and their potential applications have been expanded, which have caused aptamers to become molecules of increasing scientific interest. In this paper, aptamers' general aspects, applications, and prospects are dealt with.

**Key words:** Aptamer, biotechnology, nucleotides, biosensors, secondary structures, RNA, molecular markers, medical therapy, Cancer.

## Antecedentes

Hasta hace algunos años se creía que los ácidos nucleicos (AN) únicamente funcionaban como las moléculas de la herencia. Los AN son el DNA (ácido desoxirribonucleico) y el RNA (ácido ribonucleico), moléculas que están presentes en toda célula y virus. Los AN están compuestos por monómeros denominados nucleótidos, estos a su vez, se polimerizan a través de un enlace fosfodiéster para formar el polímero de ácido nucleico. Los

nucleótidos están formados por la unión covalente de un monosacárido de cinco carbonos (pentosa), una base nitrogenada y un grupo fosfato (Figura 1), (1). Existen 5 diferentes bases nitrogenadas que conforman a los ácidos nucleicos, estas, se dividen en purinas y pirimidinas, siendo purínicas la adenina (A) y la guanina (G), y pirimidínicas la timina (T), la citosina (C) y el uracilo (U), la pentosa, es una azúcar de cinco átomos de carbono, puede ser ribosa, en el caso de RNA, o desoxirribosa, para el DNA. El ácido fosfórico, de fórmula  $H_3PO_4$  compone el grupo fosfato de la molécula de ADN (2).

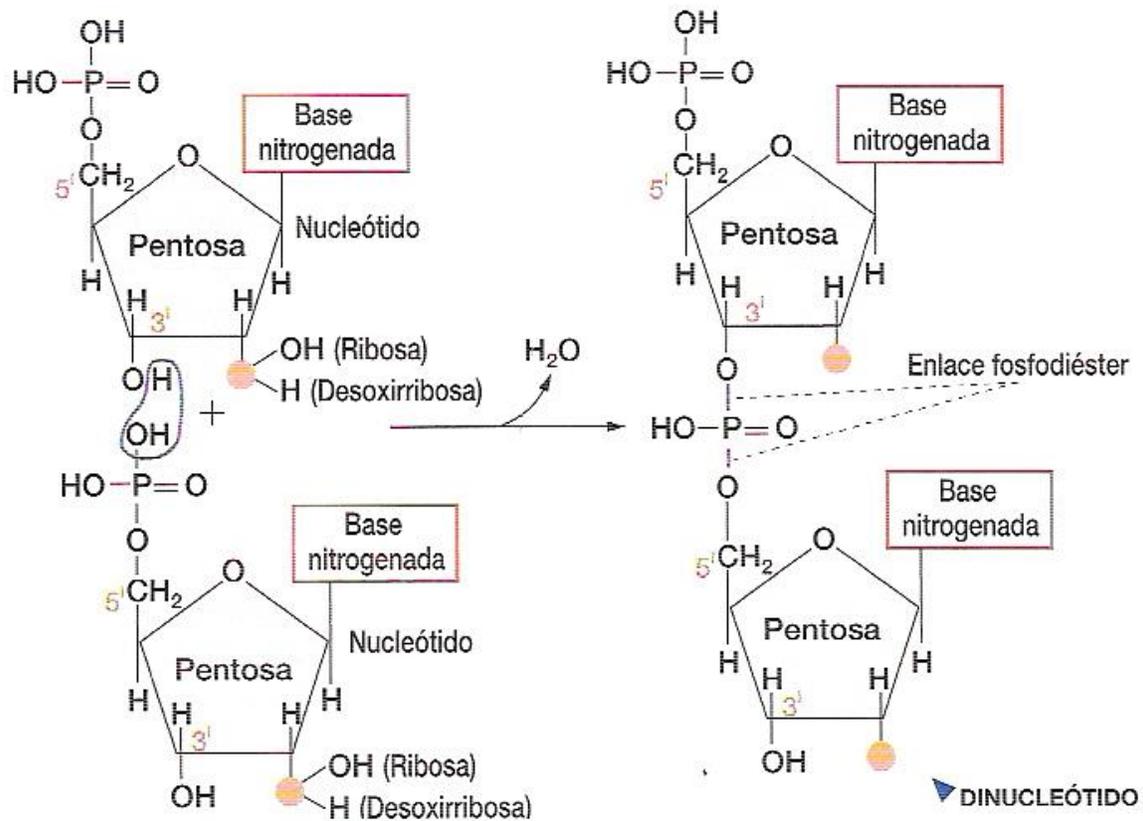


Figura 1. Estructura y unión de nucleótidos para el DNA y el RNA respectivamente, se observa el grupo hidroxilo correspondiente a la ribosa o únicamente un hidrogeno que corresponde a desoxirribosa, unidos al carbono 2 de la pentosa. La unión de la base nitrogenada en el carbono 1 y el desprendimiento de una molécula de agua al unirse a través de un enlace fosfodiéster de los grupos fosfatos para formar un dinucleótido.

## Introducción

El descubrimiento de los ácidos nucleicos se debe a Friedrich Miescher, que en el año de 1869 aisló de los núcleos de unas células una sustancia ácida a la que llamo nucleína (3), nombre que cambió a ácidos nucleicos. Posteriormente en 1953, James Watson y Francis Crick descubrieron la estructura tridimensional de doble hélice del DNA, empleando la técnica de difracción de rayos X. (4)

El nombre "aptámeros" viene del vocablo griego aptus, que significa, "para adaptarse", y merus, es decir, "partícula". Los primeros aptámeros fueron aislados por Larry Gold y Craig Tuerk en 1990 (15). Los aptámeros son generalmente moléculas de DNA de cadena simple o de RNA (ssDNA), sintetizados químicamente *in vitro* con alta especificidad y sensibilidad hacia una amplia variedad de moléculas diana que van desde pequeñas moléculas, péptidos (5), proteínas (6), a células enteras (7).

Desde que fueron descubiertos, grupos de trabajo e investigadores de todo el mundo han realizado investigación en aptámeros con diferentes ya que poseen una gran especificidad dirigida a diferentes moléculas, se ha optado por realizar investigaciones y ocupar estas moléculas en la biotecnología, por ser más baratos y eficientes que la producción de anticuerpos; además de no necesitar ser ensayados en animales, con lo que se evitan temas de debate o polémica en materia de bioética y experimentación animal (20).

La longitud de los aptámeros es por lo general es de 35-100 nucleótidos (8), y al ser estructuras secundarias de ácidos nucleicos de cadena simple poseen estructuras tridimensionales únicas (Figura 2), que les otorga una alta afinidad y selectividad hacia diferentes compuestos; siendo así que compuestos pequeños tenderán a ser acomplejados por los aptámeros, mientras que los compuestos de mayor tamaño quedarán unidos en su superficie a los aptámeros por diversos tipos de enlazamiento (Figura 3). El grado de afinidad y selectividad de los aptámeros estará en función de la carga, tamaño y grado de interacciones físico-químicas del compuesto de interés (9).

En sus inicios los aptámeros eran seleccionados a través de la experimentación, pero actualmente ya se utilizan diversos métodos computacionales para el estudio de las constantes de equilibrio, velocidad y afinidad; de su entalpía, entropía, entre algunos otros parámetros físico-químicos, con el fin de obtener las interacciones posibles y la selección del mejor aptámero.

Para el desarrollo de estas biomoléculas se utiliza inicialmente la química combinatorial, la cual consiste en la síntesis rápida o simulación por computadora de un gran número de moléculas de las cuales se eligen las que son funcionales (13).

Una de las ventajas de diseñar aptámeros es que, una vez elegida la molécula funcional, ésta es fácilmente reproducible, ya sea por reacción en cadena de la polimerasa o PCR (polymerase chain reaction) por sus siglas en inglés, aunque pueden ser también a través de la transcripción *in vitro*. Librerías de oligonucleótidos de alrededor de 10<sup>15</sup> moléculas diferentes se pueden hacer mediante síntesis química y enfocarlas a diferentes blancos de acción o funcionalidad.

Tuerk and Gold, poner en referencias realizaron estudios de la interacción entre la DNA polimerasa del bacteriófago T4 (gp43) y el sitio de unión al mRNA del ribosoma que codifica para esta enzima, ellos después seleccionaron las secuencias de unión a gp43 de una variedad de RNA reordenados en posiciones específicas que mantenían la unión, llamando a esta proceso de selección SELEX—Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment (evolución sistemática de ligandos por enriquecimiento exponencial) (11, 12)

Sin embargo, este proceso, que involucra múltiples ciclos de selección y amplificación que tengan una alta afinidad, así como especificidad, puede llegar a ser muy tardado, y no existe garantía de que funcionará.

Es posible utilizar métodos bioinformáticos para optimizar el proceso de selección de una secuencia para un blanco cualquiera; se pueden diferenciar especialmente dos enfoques: El primero consiste de tres pasos: 1) seleccionar ácidos nucleicos de bases de datos, basados en su estructura secundaria, 2) generar una librería en tres dimensiones, y 3) proponerlos como aptámeros a través del acoplamiento molecular o Docking (del inglés, anclarse), que es una herramienta computacional que permite acoplar moléculas grandes para conocer qué tan fuertemente se unirán. El problema con este modelo, es que el modelamiento tridimensional de los aptámeros, así como el Docking, consumen mucho tiempo (16).

La segunda manera de abordarlo consiste en dividir la secuencia en dos partes, la primera interactuará directamente con la molécula blanco, y la segunda es la construcción de la conformación espacial del aptámero, que proporcione las condiciones óptimas con el blanco molecular (17) (18).

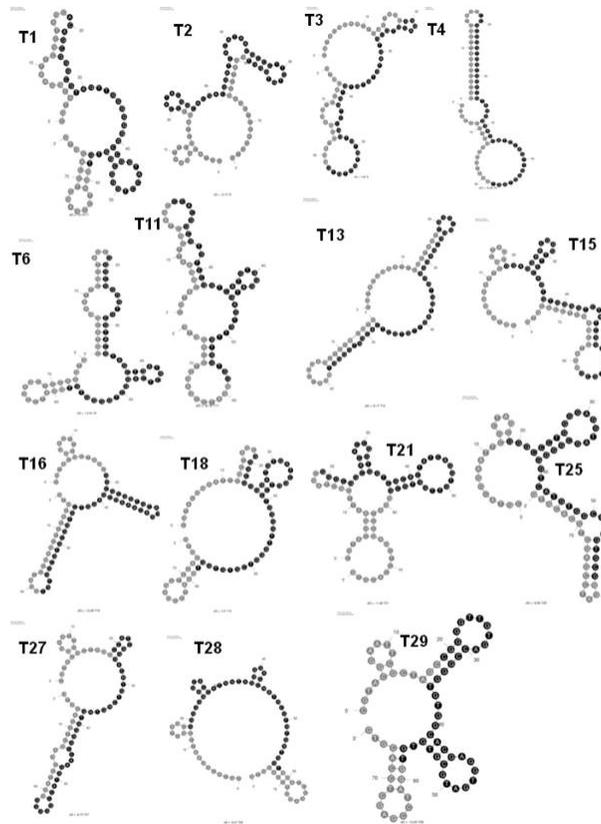


Figura 2. Formación de diferentes estructuras de aptámeros, cada una de estas estructuras se forma dependiendo de la secuencia nucleotídica que posee (10).

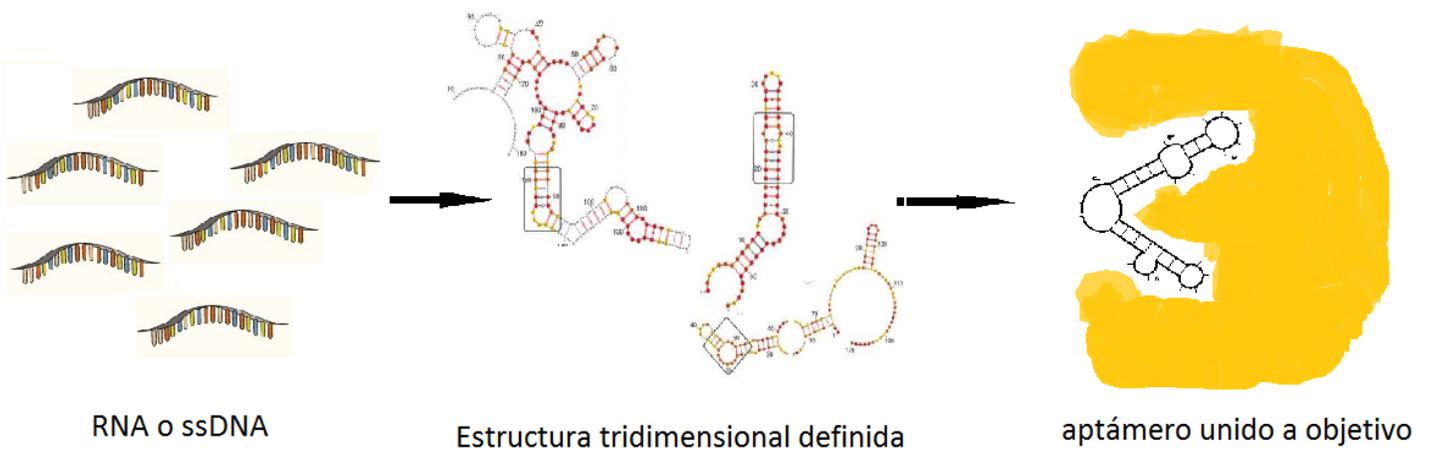


Figura 1. Esquema de la funcionalidad de los aptámeros.

Estos oligonucleótidos artificiales pueden ser equipados con una variedad de grupos reporteros y se pueden unir a diferentes acarreadores, superficies, nanopartículas u otras moléculas; además, la afinidad de estas moléculas se encuentra en el rango nanomolar (19).

Se ha mostrado que los aptámeros tiene un amplio uso, tanto en el ámbito del diagnóstico debido a su aplicación (en el desarrollo de biosensores o marcadores moleculares, por ejemplo), así como en el terapéutico, debido a que son capaces de interferir en las funciones biológicas de los blancos moleculares.

Sus propiedades químicas y biológicas presentan diversas ventajas contra los anticuerpos monoclonales como métodos de detección molecular dentro de algún organismo, ya que los anticuerpos o proteínas utilizadas pueden desencadenar una respuesta inmune dentro del organismo.

Los aptámeros no son de carácter inmunogénico a diferencia de algunas proteínas y anticuerpos utilizados en el diagnóstico clínico, lo que representa una clara ventaja ante los métodos convencionales de detección y una buena alternativa para evitar la respuesta inmune al realizar diagnóstico molecular, su capacidad de regeneración, su estabilidad a temperatura ambiente, las posibilidades de modificación de su estructura, y también el abaratamiento de sus costes de producción debido a que se pueden obtener mediante síntesis química, evitando el uso de animales o células, su alta reproducibilidad y su capacidad para ser marcados, su bajo peso molecular y baja inmunogenicidad son algunas de las ventajas por las que los aptámeros pueden reemplazar diversos métodos de diagnóstico molecular y también a algunos biosensores.

Igualmente, se han detectado aplicaciones como herramientas de separación analítica por métodos colorimétricos con puntos cuánticos (Quantum Dots) para generar reacciones colorimétricas que son fácilmente detectables y se llevan de manera muy rápida y simple (21). Puesto que, los aptámeros son excelentes biosensores y poseen una buena estabilidad estructural debido a la formación de estructuras secundarias (tallos y asas) atribuidas a la complementariedad de bases del ssRNA (RNA monocatenario), sus aplicaciones son muy amplias y diversas, por ejemplo, la detección de compuestos tóxicos en el ambiente, como  $\text{Hg}^{2+}$  son los pesticidas organofosforados unidos a nanopartículas de CdS (22), o su aplicación inmunoterapéutica para tratar cáncer y como

sistemas de marcaje molecular (23); en la Tabla 1 se muestran las aplicaciones más comunes usando nanopartículas inmovilizadas en aptámeros (24). Además del desarrollo de terapias basadas en aptámeros, muchos laboratorios han desarrollado técnicas de diagnóstico usando aptámeros con proteínas en complejo con plasma. A esta técnica se le conoce como proteómica de plasma-aptámero. Esta tecnología tiene potencial de ser utilizada como novedosos biomarcadores, capaces de distinguir pacientes con cierta enfermedad, de pacientes sanos.

Si bien se ha mostrado que los aptámeros son muy eficientes como biosensores por las características antes mencionadas presentan algunas desventajas como son: fácil degradación ante nucleasas por ser ácidos nucleicos de cadena sencilla, además de que tienen una vida de mediano plazo. Para aumentar la resistencia de los aptámeros a las nucleasas, en NOXXON Pharma se desarrolló la metodología Spiegelmer, del alemán Spiegel “espejo” (25), ya que se componen del estereoisómero L de los ácidos nucleicos; es decir, que su molécula de ribosa, en lugar de ser D como ocurre naturalmente, es su imagen especular, y debido a esto, son altamente resistentes a ser degradadas por nucleasas, que son específicas para nucleótidos con la conformación D. Además, es importante señalar que estos isómeros L poseen las mismas propiedades de unión que su análogo D.

El potencial que han mostrado los aptámeros es muy grande, desde la aplicación como biosensores hasta su uso como potenciales acarreadores de fármacos o genes, por otra parte, en los últimos años han surgido nuevos tipos de aptámeros con diferentes usos. Un ejemplo de nuevos tipos de aptámeros son los aptámeros peptídicos, diseñados para interactuar con otras proteínas dentro de la célula. Los aptámeros peptídicos son péptidos constreñidos y presentados por una proteína de andamio, que son usados para estudiar la función de proteínas en las células, y son capaces de romper interacciones de proteína-proteína y formar módulos de reconocimiento que permiten la creación de una caja de herramientas molecular para el análisis intracelular de funciones proteicas. Se componen de un bucle peptídico variable que se adhiere a ambos extremos de un andamio de proteínas, lo que aumenta enormemente la afinidad de unión del péptido aptámero. Los “afímeros” son un reactivo de afinidad que consisten de una proteína de andamio inerte, biofísicamente estable,

que contiene tres regiones variables dentro de las cuales, se insertan distintos péptidos. El resultado es una superficie tridimensional formada por estos péptidos interactuando y enlazando las proteínas y otras moléculas, muy parecido a cómo actúa el sitio de unión a antígeno de los anticuerpos (27).

El andamio afímero es una proteína estable basada en el pliegue de la proteína cistatina. Hay dos bucles de péptidos y una secuencia N-terminal que pueden ser asignados al azar a diferentes proteínas diana se unen con alta afinidad y especificidad similar a los anticuerpos. La estabilización del péptido sobre el armazón proteico limita las posibles conformaciones que puede adoptar el péptido, lo que aumenta la afinidad de unión y especificidad en comparación con las bibliotecas de péptidos libres.

La tecnología “Afímero” fue desarrollada inicialmente por la Unidad de Cancer Cell MRC en Cambridge y luego a través de dos laboratorios en la Universidad de Leeds (30) (31). Esta tecnología “Afímero” ha sido comercializada y desarrollada por Avacta Life Sciences, quienes están desarrollándola para algunos fines como reactivos para investigación y aplicaciones terapéuticas.

## Perspectivas

En el trabajo se mencionan solo algunas de las aplicaciones consultadas en la literatura, sin embargo, las posibles aplicaciones son muy grandes. En la actualidad hay un sinnúmero de campos de aplicación para los aptámeros y debido a que dentro del marcaje molecular poseen una ventaja al poder tolerar ambientes de condiciones poco favorables, por ejemplo, entornos con un pH o temperatura no favorable para microorganismos o proteínas, gracias a la alta estabilidad que presentan los aptámeros.

Por otra parte, los aptámeros pueden servir como vehículos de transporte de agentes terapéuticos y simultáneamente como marcadores moleculares, lo que es económicamente viable y le brinda un valor agregado en materia de investigación biomédica. Éstas son algunas ventajas que se pueden ocupar en la investigación médica del cáncer, ya que los aptámeros son altamente selectivos y poseen una afinidad específica hacia sus blancos, se podrían desarrollar aptámeros que transporten fármacos para

atacar a las células tumorales o cromóforos para el marcaje de los mismos y sin generar una respuesta inmune en el paciente.

Dentro de la biotecnología ambiental, puede suplir a muchos biosensores que no son tan eficientes en ambientes hostiles por la susceptibilidad de muchas proteínas o complejos enzimáticos utilizados para sensar contaminantes en el ambiente. Esto es ideal dentro del campo de la nanotecnología puesto que la gran mayoría de las nanopartículas muestran ser demasiado reactivas y aún no se tiene bien estudiado el impacto que pueden tener las mismas al entorno, los aptámeros al ser estructuras secundarias compuestas de ARN, pueden ser degradadas del ambiente con más facilidad, a diferencia de nanopartículas, que deben ser retiradas del entorno pudiendo ser así una alternativa a los biosensores desarrollados por nanotecnología.

Los ejemplos mencionados anteriormente solamente son algunas de los posibles usos futuros que podrían tener los aptámeros, afortunadamente se cuentan con las herramientas para poder sintetizar los aptámeros y realizar su estudio *in silico*.

## Conclusiones

Desde el descubrimiento de los ácidos nucleicos, éstos nos han sorprendido enormemente. Durante algún tiempo, se creyó que por su relativa simpleza era imposible que pudieran ser los portadores de la información genética y, después de algunos experimentos, se demostró que efectivamente, eran los ácidos nucleicos y no las proteínas, como se creía, los que portaban la información hereditaria, y desde entonces hasta el descubrimiento de los aptámeros, se creía que esa era su única función. Los aptámeros abren una gran puerta para el desarrollo de la ciencia y tecnología debido a su gran versatilidad y simplicidad, como hemos revisado brevemente en este trabajo, y se ha observado que a la fecha ya, las aplicaciones de los ácidos nucleicos son inmensas. Quizá, en el futuro, podamos descubrir más secretos que guardan los ácidos nucleicos.

“Si nosotros no jugamos a ser Dios, ¿Quién lo hará?”

James D. Watson.

Tabla 1 En la tabla a continuación mostrada se muestran algunas de las aplicaciones de los aptámeros, su uso como biosensores, sus blancos, ensayos y materiales asociados a los aptámeros.

Material	Blanco	Ensayo	Métodología	Límite de detección	Referencia
Gold nanoparticles	Thrombin	Colorimetric	Sandwich	20 nM	(Pavlov et al., 2004)
Gold nanoparticles	Thrombin	Colorimetric	Sandwich (lateral flow strip)	2.5 nM (buffer) 0.6 $\mu$ M (human plasma)	(Xu et al., 2009a)
Gold nanoparticles	CCRF-CEM	Colorimetric	Sandwich	2 nM	(Medley et al., 2008)
Gold nanoparticles	PDGF	Colorimetric	Sandwich	2.5–10 nM	(Huang et al., 2005)
Gold nanoparticles	PDGFR		Sandwich	3.2 nM	
Gold nanoparticles	PDGF	Colorimetric	TICC <sup>a</sup>	6 nM	(Chang et al., 2013)
Gold nanoparticles	Adenosine	Colorimetric	TID <sup>b</sup>	20 $\mu$ M (Adenosine) 10 $\mu$ M (cocaine in buffer) 200 $\mu$ M (cocaine in blood serum)	(Liu and Lu, 2006)
Gold nanoparticles	Adenosine	Colorimetric	TID	10 $\mu$ M	(Zhao et al., 2007)
Gold nanoparticles	Adenosine	Colorimetric	TICC	20 $\mu$ M	(Zhao et al., 2008)
Gold nanoparticles	Hg <sup>2+</sup>	Colorimetric	TICC	250 nM	(Liu et al., 2008)
Gold nanoparticles	Hg <sup>2+</sup>	Colorimetric	TID	100 nM	(Ono et al., 2011)
Gold nanoparticles	Pb <sup>2+</sup>	Colorimetric	TICC	500 nM	(Wei et al., 2008)
Gold nanoparticles	Oxytetracycline	Colorimetric	TICC	25 nM	(Kim et al., 2010b)
Gold nanoparticles	Glutathione	Colorimetric	TID	17 nM (Glutathione) 9 nM (Cysteine) 18 nM (Homocysteine)	(Xu et al., 2012)
Gold nanoparticles	ATP	Colorimetric	TICC	0.6 $\mu$ M (UV-vis) 2 $\mu$ M (naked eye)	(Wang et al., 2007)
Gold nanoparticles	Cocaine	Colorimetric	TIA <sup>c</sup>	2 $\mu$ M	(Zhang et al., 2008b)
Gold nanoparticles	Ibuprofen	Colorimetric	TICC	5 $\mu$ M	(Kim et al., 2011)
Gold nanoparticles	<i>Plasmodium vivax</i> lactate dehydrogenase (PVLDH)	Colorimetric	TICC	10.3 pM (using PDDA) 12.5 pM (using PAH)	(Jeon et al., 2013)
Gold nanoparticles	Theophylline	Fluorometric	TID	0.01–2 mM	(Frauendorf and Jaschke, 2001)
Gold nanoparticles	Hg <sup>2+</sup>	Fluorometric	TID	5 nM (Hg <sup>2+</sup> ) 300 pM (Pb <sup>2+</sup> )	(Liu et al., 2009a)
Gold nanoparticles	Hg <sup>2+</sup>	Fluorometric	TICC	0.5 $\mu$ M	(Kim and Jürg, 2011)
Gold nanoparticles	Ochratoxin A	Fluorometric	TID	5 nM	(Cruz-Aguado and Penner, 2008)
Gold nanoparticles	Pb <sup>2+</sup>	Fluorometric	TID	4 nM	(Xiang et al., 2009)
Gold nanoparticles	Adenosine	Fluorometric	TID	3.4 $\mu$ M	
Gold nanoparticles	Adenosine	Fluorometric	TID	50 $\mu$ M (adenosine) 120 $\mu$ M (cocaine)	(Liu et al., 2007a)
Gold nanoparticles	Adenosine	Fluorometric	TID	2 $\mu$ M	(Xu et al., 2009b)
Gold nanoparticles	Adenosine	Fluorometric	TID	6 $\mu$ M (Adenosine) 3 nM (UO <sub>2</sub> <sup>2+</sup> ) 8 nM (Pb <sup>2+</sup> ) 30 nM (Hg <sup>2+</sup> )	(Xiang et al., 2010)
Gold nanoparticles	Cocaine	Fluorometric	TID	1 $\mu$ M	(Xu et al., 2009b)
Gold nanoparticles	Thrombin	Fluorometric	TID	0.14 nM	(Wang et al., 2008)
Gold nanoparticles	Thrombin	Fluorometric	TID	100 nM	(Liu et al., 2014)
Gold nanoparticles	PDGF	Fluorometric	TICC	8 pM (PDGF) 1 nM (PDGF in complex sample) 0.25 nM (thrombin)	(Huang et al., 2007)
Gold nanoparticles	PDGF	Fluorometric	TID	10 pM	(Huang et al., 2008)
Gold nanoparticles	Oxytetracycline	Electrochemical	Simple binding	1–100 nM	(Kim et al., 2009b)
Gold nanoparticles	Thrombin	Electrochemical	Simple binding	2 nM	(Radi et al., 2005)
Gold nanoparticles	Thrombin	Electrochemical	Simple binding	100 pM	(Xu et al., 2006)
Gold nanoparticles	Thrombin	Electrochemical	Sandwich	20 pM	(Li et al., 2008a)
Gold nanoparticles	Cocaine	Electrochemical	TICC	10 $\mu$ M	(Baker et al., 2006)
Gold nanoparticles	Cocaine	Electrochemical	TICC	0.5 $\mu$ M	(Li et al., 2008b)
Gold nanoparticles	Cocaine	Electrochemical	TIA	1 $\mu$ M	(Sharon et al., 2009)
Gold nanoparticles	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Electrochemical	TICC	11.0 CFU/ml	(Zuo et al., 2007)
Gold nanoparticles	ATP	Electrochemical	TID	0.1 nM (ATP)	(Du et al., 2008)
Gold nanoparticles	ATP	Electrochemical	TID	0.1 pM (Thrombin)	
Gold nanoparticles	ATP	Electrochemical	TID	0.1 nM	(Du et al., 2010)
Gold nanoparticles	ATP	Electrochemical	TID	100 nM	(Du et al., 2009)
Gold nanoparticles	Adenosine	Electrochemical	TICC	5 nM	(Wang et al., 2010a)
Gold nanoparticles	VEGF	Electrochemical	Sandwich	30 nM	(Ravalli et al., 2015)
Gold nanoparticles	Mucin 1 protein (MUC1)	Electrochemical	TICC	2.2 nM	(Hu et al., 2014)
Magnetic nanoparticles	Adenosine monophosphate (AMP)	Fluorometric	TIA	0.1 $\mu$ M	(Song et al., 2009)
Magnetic nanoparticles	Cancer cells	Fluorometric	Simple binding	250 cells	(Smith et al., 2007)
Magnetic nanoparticles	Thrombin	Electrochemical	Sandwich	7.82 aM	(Zheng et al., 2007)
Magnetic nanoparticles	(Carcinoembryonic antigen) CEA	Colorimetric	Catalytic activity	1 ng/ml	(Gao et al., 2008)
Magnetic nanoparticles	DNA	Colorimetric	Catalytic activity	19.4 $\pm$ 0.5 ng/ $\mu$ l	(Park et al., 2011)
Magnetic nanoparticles	Hg <sup>2+</sup>	Colorimetric	TICC	5–75 $\mu$ M	(Kim and Jürg, 2013)
Gold nanorods	Platelet-derived growth factor AA (PDGF AA)	Fluorometric	Simple binding	10 pM	(Huang et al., 2008)
Gold nanorods	Thrombin	SERS	Sandwich	887 pM	(Wang et al., 2010c)
SWCNTs	Thrombin	FET	Simple binding	10 nM	(So et al., 2005)

SWCNTs	Thrombin	Fluorometric	TID	0.1–1.6 $\mu$ M	(Zhu et al., 2008)
SWCNTs	Thrombin	NIR	TID	0.1 nM	(Chen et al., 2009a)
SWCNTs	IgE	FET	Simple binding	250 pM	(Maehashi et al., 2007)
SWCNTs	<i>Salmonella Typhi</i>	Potentiometric	Simple binding	0.2 CFU/ml	(Zelada-Guillen et al., 2009)
SWCNTs	<i>Escherichia coli</i>	Potentiometric	Simple binding	6 CFU/ml (in complex matrix) 26 CFU/ml (in apple juice)	(Zelada-Guillen et al., 2010)
SWCNTs	<i>Staphylococcus aureus</i>	Potentiometric	Simple binding	$8 \times 10^2$ CFU/ml	(Zelada-Guillen et al., 2012)
SWCNTs	DNA	Fluorometric	Sandwich	0.2 pM (DNA)	(Cui et al., 2008)
	Antigen			0.01 nM (Antigen)	
Graphene	ATP	Fluorometric	TICC	10 $\mu$ M	(Wang et al., 2010b)
Graphene	ATP	Fluorometric	TICC	50 nM	(Lu et al., 2010)
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> graphene oxide	ATP	Electrochemical	TID	0.1 nM	(Tang et al., 2011)
Graphene	ATP	Fluorometric	TID	0.45 $\mu$ M	(Pu et al., 2012)
Graphene	ATP	Fluorometric	TICC	1.4 $\mu$ M	(Song et al., 2014)
Graphene	Oxytetracycline	Fluorometric	TICC	10 nM	(Zhao et al., 2013)
Graphene	Lysozyme	Fluorometric	TID	0.08 $\mu$ g/ml	(Chen et al., 2012a)
Graphene	Cellular prion protein (PrP <sup>C</sup> )	Fluorometric	TID	0.309 $\mu$ g/ml	(Zhuang et al., 2013)
Graphene	Lysozyme	SPR	Simple binding	0.5 nM	(Subramanian et al., 2013)
Graphene	Carcino-embryonic antigen	Fluorometric	TICC	5 pg/ml	(Zhou et al., 2014)
Graphene	K <sup>+</sup>	Electrochemical	TICC	27 $\mu$ M (K <sup>+</sup> )	(Xu et al., 2014)
	Pb <sup>2+</sup>			2 $\mu$ M (Pb <sup>2+</sup> )	
Graphene	ATP	Fluorometric	TICC	0.019 mM	(Liu et al., 2014c)
Graphene	ATP	Fluorometric	TICC	0.5 $\mu$ M	(Yi et al., 2014)
Graphene	Thrombin	SPR	TICC	0.05 nM (SPR)	(Wang et al., 2011b)
		Electrochemical		0.03 nM (Electrochemical)	
Graphene	Thrombin	Fluorometric	TICC/TID	10 pM (Thrombin) 60 nM (ATP)	(Liu et al., 2014b)
				0.8 pM (DNA)	
Graphene/QD composite	Thrombin	Electrochemical	TID	100 nM	(Zhao et al., 2011)
Graphene	PDGF	Electrochemical	Sandwich	8 pM (PDGF)	(Bai et al., 2012)
	Thrombin			11 pM (Thrombin)	
Graphene	Thrombin	Fluorometric	TID	1 nM	(Ueno et al., 2013)
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> graphene oxide	Prostate specific antigen (PSA)	Fluorometric	TICC	0.5 ng/ml	(Choi and Lee, 2013)
Graphene	Hg <sup>2+</sup>	Fluorometric	TICC	0.92 nM	(Li et al., 2013)
Silica nanoparticles	Thrombin	Fluorometric	TID and sandwich	1.06 nM	(Wang and Liu, 2009)
Silica nanoparticles	Thrombin	Fluorometric	TISS	4 nM	(Babu et al., 2013)
Silica nanoparticles	ATP	Fluorometric	TIA	20 $\mu$ M	(Cai et al., 2011)
Quantum dots	Thrombin	Electrochemical	Sandwich	0.55 fM	(Ding et al., 2010a)
Quantum dots	Thrombin	Fluorometric	Simple binding	1 nM	(Chi et al., 2011)
Quantum dots	Cocaine	Fluorometric and colorimetric	TIA	120 $\mu$ M (Cocaine) 50 $\mu$ M (Adenosine)	(Liu et al., 2007b)
Quantum dots	Cocaine	Fluorometric	TIA	0.5 $\mu$ M	(Zhang and Johnson, 2009)
Quantum dots	Hg <sup>2+</sup>	Fluorometric	TICC	0.5 $\mu$ M (Hg <sup>2+</sup> )	(Kim and Jurng, 2011)
	K <sup>+</sup>			100 $\mu$ M (K <sup>+</sup> )	
	Adenosine			5 $\mu$ M (Adenosine)	

<sup>a</sup> TICC target-induced conformation change of aptamer.

<sup>b</sup> TID target-induced displacement of aptamer/DNA probe.

<sup>c</sup> TIA target-induced assembly of aptamer fragments.

Referencia: Yeon Seok Kim, Nurul Hanun Ahmad Raston, Man Bock Gu, Aptamer-based nanobiosensors. 2016. Biosensors and Bioelectronics. (76) p. 2-19.

## REFERENCIAS

- (1) Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K & Walter P (2002). *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). Garland Science. pp. 120-121
- (2) Coghill, Anne M.; Garson, Lorrin R., ed. (2006). *The ACS style guide: effective communication of scientific information* (3ª edición). Washington, D.C.: American Chemical Society. p. 244.
- (3) Dahm, R (Jan de 2008). «Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research». *Human Genetics* 122 (6): 565–81.
- (4) J.D. Watson, F.H.C. Crick, A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid *Nature*, 171 (1953), pp. 737–738
- (5) Grate, D and Wilson, C (1999). Laser-mediated, site-specific inactivation of RNA transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 6131–6136
- (6) Williams, BA, Lin, L, Lindsay, SM and Chaput, JC (2009). Evolution of a histone H4-K16 acetyl-specific DNA aptamer. *J Am Chem Soc* 131: 6330–6331.
- (7) Ellington, AD and Szostak, JW (1990). In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature* 346: 818–822.
- (8) Caleb Acquah, Michael K. Danquah, John L.S. Yon, Amandeep Sidhu, Clarence M. Ongkudon, A review on immobilised aptamers for high throughput biomolecular detection and screening, *Analytica Chimica Acta*, Volume 888, 12 August 2015, Pages 10-18
- (9) Homann, M and Göringer, HU (1999). Combinatorial selection of high affinity RNA ligands to live African trypanosomes. *Nucleic Acids Res* 27: 2006–2014.
- (10) Javed H. Niazi, Su Jin Lee, Man Bock Gu, Single-stranded DNA aptamers specific for antibiotics tetracyclines, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Volume 16, Issue 15, 1 August 2008, Pages 7245-7253
- (11) A.D. Ellington, J.W. Szostak, In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands, *Nature*, 346 (1990), pp. 818–822
- (12) C. Tuerk, L. Gold, Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase, *Science*, 249 (1990), pp. 505–510
- (13) MATA EG, 1997, 'Química combinatoria: una nueva era en el descubrimiento de medicamentos', *Ciencia Hoy*, 7, 40: 10-18
- (14) Famulok M, Mayer G. Aptamer modules as sensors and detectors. *Acc Chem Res*. 2011 Dec 20;44(12):1349–58.
- (15) A.D. Ellington, J.W. Szostak In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands *Nature*, 346 (1990), pp. 818–822.
- (16) Chushak Y., Stone MO. In silico selection of RNA aptamers. (2009) *Nucleic acids Res*.
- (17) *Current Medicinal Chemistry*, 2012, Bentham Science Based Drug Design: From Experimental to Computational Approaches A. Kumar, A. Voet and K. Y.J. Zhang
- (18) Dmitrii S. Shcherbinin, et al. Computer-aided design of aptamers for cytochrome p450, 2015 *Journal of Structural Biology*
- (19) M. McKeague, M.C. DeRosa Challenges and opportunities for small molecule aptamer development. *J. Nucleic Acids*, 2012 (2012).
- (20) M. Mascini *Aptamers in Bioanalysis* (2009). John Wiley & Sons
- (21) J. Hesselberth, M.P. Robertson, S. Jhaveri, A.D. Ellington In vitro selection of nucleic acids for diagnostic applications. *Rev. Mol. Biotechnol.*, 74 (2000), pp. 15–25.
- (22) Tingting Tang, Jingjing Deng, Min Zhang, Guoyue Shi, Tianshu Zhou. Quantum dot-DNA aptamer conjugates coupled with capillary electrophoresis: A universal strategy for ratiometric detection of organophosphorus pesticides, *Talanta*, Volume 146, 1 January 2016, Pages 55-61.
- (23) Mostafa Khedri, Houshang Rafatpanah, Khalil Abnous, Pouria Ramezani, Mohammad Ramezani, Cancer immunotherapy via nucleic acid aptamers, *International Immunopharmacology*, Volume 29, Issue 2, December 2015, Pages 926-936.
- (24) Klussmann, SK "RNA-Spiegelmers: a new substance class to efficiently inhibit peptide hormones" (2003). *European Journal of Biochemistry* 271.

- (25) Vater A, Klussmann S. Turning mirror-image oligonucleotides into drugs: the evolution of Spiegelmer therapeutics". (2015) *Drug Discovery Today* 20 (1): 147–155.
- (26) Kimoto, M.; et al. (2013). "Generation of high-affinity DNA aptamers using an expanded genetic alphabet". *Nat. Biotechnol* 31: 453-457.
- (27) Roberts, Josh P. (2013). "Biomarkers Take Center Stage". *GEN33*.
- (28) Woodman R., Yeh J.T.-H., Laurenson S., Ko Ferrigno P. (2005). "Design and Validation of a Neutral Protein Scaffold for the Presentation of Peptide Aptamers". *J Mol Biol* 352: 1118–1133.
- (29) Hoffmann T., Stadler LKJ, Busby M., Song Q., Buxton AT, Wagner SD, Davis JJ, Ko Ferrigno P. (2010). "Structure-function studies of an engineered scaffold protein derived from Stefin A. I: Development of the SQM variant". *PEDS*. 27 (5): 145-155.
- (30) Stadler LKJ, Hoffmann T., Tomlinson DC, Song Q., Lee T., Busby M., Nyathi Y., Gendra E., Tiede C., Flanagan K., Cockel SJ, Wipat A., Harwood C., Wagner SD, Knowles MA, Davis JJ, Keegan N., Ko Ferrigno P. (2011). "Structure-function studies of an engineered scaffold protein derived from Stefin A. II: Development and Applications of the SQT variant". *PEDS*. 24 (9): 751–763.
- (31) Tiede C., Tang AA, Deacon SE, Mandal U., Nettleship JE, Owen RL, George SE, Harrison DJ, Owens RJ, Tomlinson DC, McPherson MJ (2014). "Adhiron: A stable and versatile peptide display scaffold for molecular recognition applications". *PEDS*. 27 (5): 145-155
- (32) Berezovski MV, Lechmann M, Musheev MU, Mak TW, Krylov SN (Jul 2008). "Aptamer-facilitated biomarker discovery (AptaBiD)". *J Am Chem Soc*. 130 (28): 9137–43.