

Terapötik Aptamerler

Therapeutic Aptamers

Fazıloğlu F¹., Cantürk Kılıçkaya P¹., Kılıçkaya O^{1*}

¹ Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji AD., Sivas, Türkiye

Derleme makale

Özet

Makale bilgisi

Alındı: 15.11.2019
Revize form alındı: 20.11.2019
Kabul: 25.11.2019
Online yayım: 17.12.2019

Anahtar Kelimeler
Terapötik aptamerler
SELEX
Kanser
Maküler dejenerasyon

Aptamerler kısa tek zincirli ve nükleik asit yapısında olan, SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment) adı verilen bir teknik ile geliştirilen ve hedeflerine yüksek ilgi ve özgüllük ile bağlanabilen moleküllerdir. Sentezlenmelerinin kolaylığı, yapılarının küçüklüğü ve biyolojik uyumları sayesinde hem tanı hem de tedavi alanında kullanılacak aday moleküllerdir. Bu kısa derlemede piyasada müstahzarı olan ve çeşitli Faz aşamalarında bulunan terapötik aptamerler hakkında bilgi verilmiştir.

Review article

Abstract

Article info

Received: 15.11.2019
Received in revised form: 20.11.2019
Accepted: 25.11.2019
Available online: 17.12.2019

Keywords
Therapeutic aptamers
SELEX
Cancer
Macular degeneration

Aptamers are short, single-stranded nucleic acid structures that are developed by the method called SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment) and they bind to its target with high affinity and specificity. They are easy to synthesize, small in size and biocompatible due to their molecular structure. This short review provides information on therapeutic aptamers which are commercially available and are available in various Phase stages.

APTAMER YAPILAR VE SELEX

Nükleik asitlerin genetik bilgiyi saklama ve aktarmasının ötesinde farklı metabolik fonksiyonlara da sahip olabileceği ilk olarak RNA'nın katalitik aktiviteye sahip olduğunun gösterilmesi ile ortaya çıkmıştır. RNA molekülünün tek başına katalitik aktiviteye sahip olduğu, *Tetrahymena thermophila* 26S ribozomal RNA'sının (rRNA) sentezlenmesinde gözlenmiştir. *Tetrahymena thermophila* rRNA'sını kodlayan DNA bölgesi 0,4 kb'lık bir intron (*intervening sequence-IVS*) taşır. RNA sentezlendikten sonra RNA'nın kendi katalitik aktivitesi ile bu bölgenin kesilmesi (splicing), kesilen parçaya 5' guanin eklenmesi, kesilen parçanın halkasal bir forma dönüştürülmesi ve rRNA'nın ekzon bölgelerinin birleştirilmesi ile olgun rRNA oluşturulur. Bu işlemin RNA yapısına özgü olduğu ve herhangi bir protein yapısından bağımsız olarak iş gördüğü gösterilmiştir¹. Diğer bir çalışmada ise bir protein kompleksi ve RNA'dan oluşan *Escherichia coli* ribonükleaz P (RNase-P) enziminin tRNA sentezinde, tRNA'nın 5' ucunu kesip modifiye ederek onu işlevsel hale getirmesi de RNA molekülünün katalitik aktivitesine başka bir örnektir. Burada RNase-P ribonükleoproteininin RNA ve protein kısımlarının birbirlerinden bağımsız olarak katalitik aktivite göstermediği ve bir bütün olarak proteinin tRNA ile etkileşen ve kesim reaksiyonunu gerçekleştiren aktif bölgesinin, RNA zinciri olduğu gösterilmiştir². Bu iki çalışma göstermiştir ki RNA molekülü düzlemsel tek zincirli formda

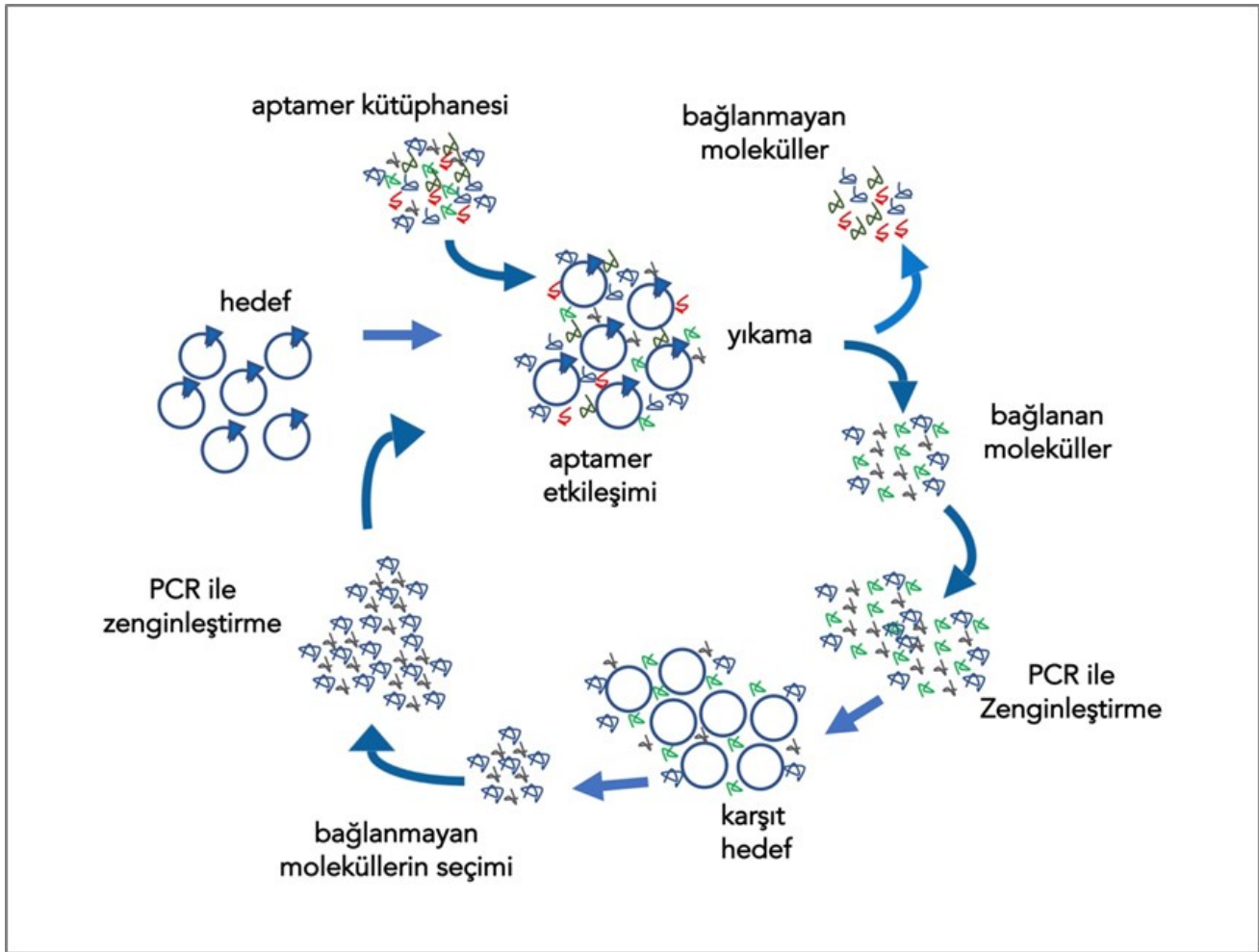
genetik bilgiyi depolarken, özgül üç boyutlu katlanmalar ile oluşturduğu yapılarla da katalitik olarak görev yapmaktadır. Virüsler (HIV ve adenovirüsler) ile yapılan çalışmalarda ise, virüslerin konak hücreye saldırdıklarında kısa ve özgül katlanmaya sahip RNA molekülleri sentezledikleri ve bu RNA'ların da konağın savunmasında yer alan antiviral proteinlerin işlevlerini baskılamada görev aldığı; ayrıca virüsün kendi genomunun replikasyonunda, konağın replikasyon makinasındaki proteinlerin fonksiyonlarını düzenlemek amacıyla yine bu RNA'ları kullandığı gösterilmiştir^{3,4}.

RNA'nın katalitik aktiviteye sahip olması başka fonksiyonlara da sahip olabileceği, hatta DNA'nın da bu çeşit fonksiyonlara sahip olabileceği sorusunu akıllara getirmiştir. Bu noktadan hareketle sentetik olarak sentezlenebilecek RNA moleküllerinin, yüksek afinite ve özgüllük ile organik veya inorganik moleküllere seçici olarak bağlanabileceği ve büyük RNA kütüphanelerinden in-vitro olarak seçilerek üretilebileceği birbirinden bağımsız iki ayrı çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmalar ile üretilen RNA ligandları "aptamer" ve ligandların seçilimi süreci de "SELEX" (systematic evolution of ligands by exponential enrichment) olarak adlandırılmıştır^{5,6}.

Aptamerler ortalama 20 ila 100 baz arası uzunlukta, kısa, tek zincirli, özgül katlanmaya sahip, DNA veya RNA moleküllerinden oluşurlar. Apalarının kararlılığı hidrofobik/hidrofilik ve elektrostatik etkileşimlerle birlikte Van der Waals

kuvveti gibi zayıf bağlanmalarla sağlanır. Bu etkileşimler sonucunda ilmek, saç tokası, dönüş, pseudoknot, G-quadroplex ve benzeri yapılar oluşturularak özgül 3 boyutlu katlanmalar kazanırlar. Hedef moleküllerini, fiziksel olarak üç boyutlu yapı uyumu (anahtar-kilit) ve zayıf bağlar ile etkileşerek tanı ve bağlanırlar⁷⁻⁹. Aptamerler antikorlar ile benzer özelliklere sahip olsalar da birçok farklı açıdan, onlardan daha etkindirler. Aptamer yapılar daha küçük molekül ağırlığına ve yapısına (antikorlar 150-180 kDa. ve 15nm çap, aptamerler 6-30 kDa. ve 2nm çap) sahip oldukları için hücre içerisine alınmada ve hedef moleküllere ulaşmada etkinlikleri daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Yapının küçük olması hedefin ulaşılmasını kolaylaştırır. Bunun dışında üretim maliyetlerinin düşüklüğü ve üretim süresinin kısıtlılığı, termal kararlılığı, çok düşük/bulunmayan bağışıklık tepkisi ve lityofilize edilebilirliği yönünden antikorlara üstün konumdadır⁷⁻⁹.

Günümüzde aptamer seçilimi için kullanılan SELEX protokolünün çeşitli türleri geliştirilmiş olsa da seçim süreci temel birkaç adımdan oluşur. Bu adımlar; i) aptamer seçilimi için gerekli kütüphanenin oluşturulması (yaklaşık 10^{13} - 10^{15} molekül), ii) kütüphanenin hedef ile (protein, hücre, inorganik madde, vb.) etkileştirilmesi, iii) hedef ile etkileşmeyen moleküllerin yıkanması ve iv) etkileşen moleküllerin hedef molekülden ayrılarak yıkanması ve bu moleküller kullanılarak döngüye yeniden başlanması olarak özetlenebilir. Ayrıca hedefe benzer bir karşıt hedef ile de etkileştirilerek seçim etkinliği artırılabilir (Şekil 1). Kütüphane içerisindeki moleküllerin ilk seçimden başlanarak hedef ile etkileştirilmesi, bağlanmayan moleküllerin yıkanma koşulları sıkılaştırılarak 6-8 kez tekrarlanır. Bu şekilde yüksek afinite ve özgüllük ile bağlanabilen moleküllerin seçilimi yapılabilir. Döngülerden bağımsız olarak son adımda ise seçilen molekül veya moleküller, dizi bilgisine ulaşılması için bir vektöre klonlanır ve dizi analizi ile dizi bilgisi elde edilir^{6,8,10}.



Şekil 1: Temel SELEX adımları

Temel SELEX adımlarının modifiye edilmesi ve ek basamaklar eklenmesi ile farklı SELEX protokolleri oluşturulmuştur. Bunlardan biri olan Cell-SELEX aptamer tasarımı tek bir molekülün değil tüm hücrenin hedeflendiği bir çeşittir. Burada hücreye özgül hücre yüzey moleküllerinden (protein, reseptör, vb.) bir veya birkaçı özgül olarak hedeflenmeden aptamer tasarlanabilir. Tasarlanan aptamer bir molekülün aksine belirli bir hücre çeşidini hedefleyerek, onu ayırt edebilecek özelliktedir. Örneğin belirli kanser hücrelerinde bu yöntem kullanılarak aptamer tasarımı yapılmıştır¹¹⁻¹³. Cell-SELEX yöntemi dışında Capture-SELEX¹⁴ ve CE-SELEX¹⁵ gibi farklı SELEX yöntemleri de geliştirilerek, aptamer seçim sürecini kısaltmaya ve optimizasyonunu artırmaya yönelik çalışmalar da yapılmıştır.

TERAPÖTİK APTAMERLER

Günümüzde birçok farklı moleküle karşı aptamer yapılar geliştirilmeye devam edilmekte ve bu yapılar çoğunlukla tanı (sensör uygulamaları, hedefleme vb.) kullanılmaktadır. Ancak aptamer yapıların aynı molekülün farklı modifikasyonlarını (proteinin farklı mutasyonları, translasyon sonrası modifikasyonları vb.) bile ayırt edebilecek güçte olmaları, onların tedavi alanında da kullanılabilirliğini ve bu alanda çalışmaların yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır¹⁶⁻²⁰. Bu alanda piyasada satılan tek bir müstahzar bulursa da Faz çalışmaları devam eden birçok farklı terapötik özellikte aptamer bulunmaktadır.

Makular Dejenerasyon

Aptamer yapıların terapötik olarak kullanımı Aralık 2004 yılında FDA tarafından onaylanan Macugen (pegaptanib sodyum) ile başlamıştır. Macugen vasküler endotel büyüme faktörü reseptörlerinin (VEGF-R) mevcut dört izoformundan bir tanesi ile etkileşerek onu baskılar. VEGF-R aldığı sinyaller ile yeni damarlanma oluşumunu sağlamaktadır ancak etkinin fazla olması, damarlanmanın düzensiz bir şekilde gerçekleşmesine neden olur. Düzensiz bir şekilde oluşan damarlanma da görme sinirlerine baskı yaparak görme kaybına neden olur. Macugen VEGF-R izoformlarından birini baskıladığından damarlanmayı uyaran sinyaller azalmakta ve daha düzenli bir damar oluşumu sağlanmaktadır. Bu sayede yaşa bağlı makular dejenerasyonun (YMD) oluşması da engellenmiş olur²¹.

Macugen dışında YMD tedavisi için geliştirilen aptamerlerden birisi de E10030 adı ile geliştirilen Fovista'dır (Pegpleranib). 29 nükleotid uzunluğunda ve peglenmiş olan DNA aptameri PDGF'yi (Platelet Kökenli Büyüme Faktörü) ligandını hedefleyerek baskılaması için geliştirilmiştir²². Fovista'nın Faz I çalışmalarında ranituzumab ile birlikte kullanımına kıyasla tek başına kullanımında görmede %62 oranında iyileşme görülmüş olsa da Faz III çalışmalarından aynı etki görülmemiştir^{20,22,23}. Stargardt hastalığına ve YMD'ye neden olduğu düşünülen komplemen sistem faktör C5'i hedefleyerek kesilmesini engelleyen bir RNA aptameri de geliştirilmiştir. Aptamer ARC1905 olarak adlandırılmış, 38 nükleotid uzunluğunda ve peglenmiş bir RNA yapısındadır^{20,22}. Zimura'nın (Avacincaptad pegol) Faz IIa çalışmalarında başarılı sonuçların alındığı gösterilmiştir^{19,24}.

Tromboz

Yaşa bağlı makular dejenerasyon dışında tromboz tedavisi için birçok farklı pıhtılaşma faktörü proteini ve kan pulcuğu da aptamerler tarafından hedeflenmiştir. Bu aptamerlerden Regaldo tarafından üretilen REG1 (pegnivaconin) 31 baz uzunluğunda peglenmiş bir RNA aptameridir ve Faktör IXa'yı hedeflemektedir. Aptamerin pıhtılaşmayı engellemesinin kontrol edilmesi amacı ile, karışık zinciri sentezlenerek antitod olarak kullanılmıştır (REG2). Faz III'de, antikoagülasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiği ve antitod dizi uygulanması ile, koagülasyon oluşumunun uygulamadan hemen sonra normale döndüğü gösterilmiştir²⁵⁻²⁸.

ARC-1779 olarak adlandırılan 40 nükleotid uzunluğunda peglenmiş ve metillenmiş DNA aptameri von Willebrand faktörünü inhibe ederek tromboz tedavisi için önerilmiştir²⁹. Aptamer platelet aktivasyonu ve bağlanmasını engelleyerek iş gör-

mektedir ve Faz II çalışmalarında doz artırımına bağlı olarak etkinliğinin arttığı gösterilmiştir³⁰.

Faz I çalışmalarında başarılı sonuçlar alınmış ve yan etki görülmemiş olan bir diğer DNA aptameri ARC2172 (NU172) modifiye edilmemiş bir yapıdadır. 26 nükleotid uzunluğunda olan aptamer faktör IIa'yı hedefleyerek iş görmektedir^{31,32}. Pıhtılaşmanın engellenmesi için Faz çalışmaları dışında klinik öncesi geliştirilme aşamasında bulunan çeşitli aptamerler de tasarlanmıştır³³.

Kanser

Aptamerin hedef molekülünü özgül bir şekilde seçebilmesi onu, hedeflendirilmiş kanser tedavisi için oldukça önemli bir aday yapmıştır. Kanser tedavisi için geliştirilen ve faz çalışmalarına giren ilk aptamer "nükleolin" proteinini hedeflemektedir ve in-vitro çalışmalarda oldukça etkin antiproliferatif etkinlik gözlenmiştir^{34,35}. Bunun dışında; prostat kanser markörü olarak kullanılan "prostata özgül membran antijenini" hedefleyen iki RNA aptameri³⁶, "insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER-2)" hedefleyen bir DNA³⁷ ve bir RNA aptameri³⁸, "protein tirozin kinaz" hedefli aptamerler^{39,40}, "p68" hedefli bir RNA aptameri⁴¹ ve gastrointestinal tümörler için iyi bir markör olan "karsinoembriyonik antijen" için RNA aptameri⁴² tasarlanmıştır ve başarılı sonuçlar alınmıştır.

Obezite, Diyabet ve İnflamasyon

Bütün bu alanlara ek olarak iştah ve kilo alma ile ilişkili "ghrelin" peptid hormonu hedefli RNA aptameri geliştirilerek obezite kontrolünün sağlanması⁴³, alerjik reaksiyonlarda aşırı hassasiyetin giderilmesi için IgE hedefli DNA aptameri geliştirilmesi⁴⁴ ve diyabet tedavisinde kullanılmak üzere bir DNA⁴⁵ ve bir RNA⁴⁶ aptameri geliştirilmesi çalışmaları da aptamer çalışmalarına örnek oluşturmaktadır.

Sonuç

Aptamer yapıların önümüzdeki yıllarda çoğunlukla tanı amaçlı kullanımlarının yaygın olacağı görüşü hâkim olsa da verilen çalışmalar incelendiğinde küçük moleküllerin ve antikolların sahip olduğu özellikleri üzerinde topladığı için terapötik amaçlı kullanımları üzerine araştırmaların yapılması ve yeni yapıların geliştirilmesi zorunluluk arz etmektedir. Aynı zamanda alternatif olan terapötik antikolların geliştirilmesinin maliyetli ve zaman alan bir süreç olduğu da göz önüne alındığında nükleik asit tabanlı tedavilerin geliştirilmesi önem kazanmıştır.

Kaynaklar

1. Kruger K, Grabowski PJ, Zaug AJ, Sands J, Gottschling DE, Cech TR. Self-splicing RNA: autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of Tetrahymena. *Cell*. 1982;31(1):147-157.
2. Guerrier-Takada C, Gardiner K, Marsh T, Pace N, Altman S. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme. *Cell*. 1983;35(3 Pt 2):849-857.
3. Sullenger BA, Gallardo HF, Ungers GE, Gilboa E. Analysis of trans-acting response decoy RNA-mediated inhibition of human immunodeficiency virus type 1 transactivation. *J Virol*. 1991;65(12):6811-6816.
4. Sullenger BA, Gallardo HF, Ungers GE, Gilboa E. Overexpression of TAR sequences renders cells resistant to human immunodeficiency virus replication. *Cell*. 1990;63(3):601-608.
5. Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science*. 1990;249(4968):505-510.
6. Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*. 1990;346(6287):818-822. doi:10.1038/346818a0
7. Klug SJ, Famulok M. All you wanted to know about SELEX. *Mol Biol Rep*. 1994;20(2):97-107.
8. 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
9. Blind M, Blank M. Aptamer Selection Technology and Recent Advances. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2015;4(1):e223. doi:10.1038/mtna.2014.74
10. Sefah K, Shanguan D, Xiong X, O'Donoghue MB, Tan W. Development of DNA aptamers using Cell-SELEX. *Nat Protoc*. 2010;5(6):1169-1185. doi:10.1038/nprot.2010.66
11. Ohuchi S. Cell-SELEX Technology. *Biores Open Ac*

- cess. 2012;1(6):265-272. doi:10.1089/biores.2012.0253
12. Shangguan D, Bing T, Zhang N. Cell-SELEX: Aptamer Selection Against Whole Cells BT - Aptamers Selected by Cell-SELEX for Theranostics. In: Tan W, Fang X, eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2015:13-33. doi:10.1007/978-3-662-46226-3_2
 13. Rong Y, Chen H, Zhou X-F, et al. Identification of an aptamer through whole cell-SELEX for targeting high metastatic liver cancers. *Oncotarget*. 2016;7(7):8282-8294. doi:10.18632/oncotarget.6988
 14. Stoltenburg R, Nikolaus N, Strehlitz B. Capture-SELEX: Selection of DNA Aptamers for Aminoglycoside Antibiotics. *J Anal Methods Chem*. 2012;2012:415697. doi:10.1155/2012/415697
 15. Mosing RK, Mendonsa SD, Bowser MT. Capillary electrophoresis-SELEX selection of aptamers with affinity for HIV-1 reverse transcriptase. *Anal Chem*. 2005;77(19):6107-6112. doi:10.1021/ac050836q
 16. Zhou J, Rossi J. Aptamers as targeted therapeutics: current potential and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16(3):181-202. doi:10.1038/nrd.2016.199
 17. Parashar A. Aptamers in Therapeutics. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(6):BE01-BE06. doi:10.7860/JCDR/2016/18712.7922
 18. Keefe AD, Pai S, Ellington A. Aptamers as therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2010;9(7):537-550. doi:10.1038/nrd3141
 19. 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
 20. Nimjee SM, Rusconi CP, Sullenger BA. Aptamers: an emerging class of therapeutics. *Annu Rev Med*. 2005;56:555-583. doi:10.1146/annurev.med.56.062904.144915
 21. Ng EWM, Shima DT, Calias P, Cunningham ET, Guyer DR, Adamis AP. Pegaptanib, a targeted anti-VEGF aptamer for ocular vascular disease. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5(2):123-132. doi:10.1038/nrd1955
 22. Kaur H, Bruno JG, Kumar A, Sharma TK. Aptamers in the Therapeutics and Diagnostics Pipelines. *Theranostics*. 2018;8(15):4016-4032. doi:10.7150/thno.25958
 23. Dunn EN, Hariprasad SM, Sheth VS. An Overview of the Fovista and Rinucumab Trials and the Fate of Anti-PDGF Medications. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2017;48(2):100-104. doi:10.3928/23258160-20170130-02
 24. Phase A. 2/3 Trial to Assess the Safety and Efficacy of Intravitreal Administration of Zimura®(Anti-C5 Aptamer) in Subjects With Geographic Atrophy Secondary to Dry Age-Related Macular Degeneration.(2016). *Clin Trial Phase II/III*.
 25. Rusconi CP, Scardino E, Layzer J, et al. RNA aptamers as reversible antagonists of coagulation factor IXa. *Nature*. 2002;419(6902):90-94. doi:10.1038/nature00963
 26. Povsic TJ, Vavalle JP, Aberle LH, et al. A Phase 2, randomized, partially blinded, active-controlled study assessing the efficacy and safety of variable anticoagulation reversal using the REG1 system in patients with acute coronary syndromes: results of the RADAR trial. *Eur Heart J*. 2013;34(31):2481-2489. doi:10.1093/eurheartj/ehs232
 27. Vavalle JP, Cohen MG. The REG1 anticoagulation system: a novel actively controlled factor IX inhibitor using RNA aptamer technology for treatment of acute coronary syndrome. *Future Cardiol*. 2012;8(3):371-382. doi:10.2217/fca.12.5
 28. Lincoff AM, Mehran R, Povsic TJ, et al. Effect of the REG1 anticoagulation system versus bivalirudin on outcomes after percutaneous coronary intervention (REGULATE-PCI): a randomised clinical trial. *Lancet (London, England)*. 2016;387(10016):349-356. doi:10.1016/S0140-6736(15)00515-2
 29. Diener JL, Daniel Lagasse HA, Duerschmied D, et al. Inhibition of von Willebrand factor-mediated platelet activation and thrombosis by the anti-von Willebrand factor A1-domain aptamer ARC1779. *J Thromb Haemost*. 2009;7(7):1155-1162. doi:10.1111/j.1538-7836.2009.03459.x
 30. Jilma-Stohlavetz P, Gilbert JC, Gorczyca ME, Knobl P, Jilma B. A dose ranging phase I/II trial of the von Willebrand factor inhibiting aptamer ARC1779 in patients with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost*. 2011;106(3):539-547. doi:10.1160/TH11-02-0069
 31. Gomez-Outes A, Suarez-Gea ML, Lecumberri R, Rocha E, Pozo-Hernandez C, Vargas-Castrillon E. New parenteral anticoagulants in development. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2011;5(1):33-59. doi:10.1177/1753944710387808
 32. Trapaidze A, Herault J-P, Herbert J-M, Bancaud A, Gue A-M. Investigation of the selectivity of thrombin-binding aptamers for thrombin titration in murine plasma. *Biosens Bioelectron*. 2016;78:58-66. doi:10.1016/j.bios.2015.11.017
 33. Ponce AT, Hong KL. A Mini-Review: Clinical Development and Potential of Aptamers for Thrombotic Events Treatment and Monitoring. *Biomedicines*. 2019;7(3):55. doi:10.3390/biomedicines7030055
 34. Bates PJ, Laber DA, Miller DM, Thomas SD, Trent JO. Discovery and development of the G-rich oligonucleotide AS1411 as a novel treatment for cancer. *Exp Mol Pathol*. 2009;86(3):151-164. doi:10.1016/j.yexmp.2009.01.004
 35. Soundararajan S, Wang L, Sridharan V, et al. Plasma membrane nucleolin is a receptor for the anticancer aptamer AS1411 in MV4-11 leukemia cells. *Mol Pharmacol*. 2009;76(5):984-991. doi:10.1124/mol.109.055947
 36. Lupold SE, Hicke BJ, Lin Y, Coffey DS. Identification and characterization of nuclease-stabilized RNA molecules that bind human prostate cancer cells via the prostate-specific membrane antigen. *Cancer Res*. 2002;62(14):4029-4033.
 37. Mahlknecht G, Maron R, Mancini M, Schechter B, Sela M, Yarden Y. Aptamer to ErbB-2/HER2 enhances degradation of the target and inhibits tumorigenic growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(20):8170-8175. doi:10.1073/pnas.1302594110
 38. Thiel KW, Hernandez LI, Dassie JP, et al. Delivery of chemo-sensitizing siRNAs to HER2+-breast cancer cells using RNA aptamers. *Nucleic Acids Res*. 2012;40(13):6319-6337. doi:10.1093/nar/gks294
 39. Esposito CL, Cerchia L, Catuogno S, et al. Multifunctional Aptamer-miRNA Conjugates for Targeted Cancer Therapy. *Mol Ther*. 2014;22(6):1151-1163. doi:10.1038/mt.2014.5
 40. Huang Y-F, Shangguan D, Liu H, et al. Molecular assembly of an aptamer-drug conjugate for targeted drug

- delivery to tumor cells. *ChemBiochem*. 2009;10(5):862-868. doi:10.1002/cbic.200800805
41. Mi J, Liu Y, Rabbani ZN, et al. In vivo selection of tumor-targeting RNA motifs. *Nat Chem Biol*. 2010;6(1):22-24. doi:10.1038/nchembio.277
42. Lee YJ, Han SR, Kim NY, Lee S-H, Jeong J-S, Lee S-W. An RNA aptamer that binds carcinoembryonic antigen inhibits hepatic metastasis of colon cancer cells in mice. *Gastroenterology*. 2012;143(1):155-65.e8. doi:10.1053/j.gastro.2012.03.039
43. Helmling S, Maasch C, Eulberg D, et al. Inhibition of ghrelin action in vitro and in vivo by an RNA-Spiegelmer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(36):13174-13179. doi:10.1073/pnas.0404175101
44. Mendonsa SD, Bowser MT. In Vitro Selection of High-Affinity DNA Ligands for Human IgE Using Capillary Electrophoresis. *Anal Chem*. 2004;76(18):5387-5392. doi:10.1021/ac049857v
45. Kaida Y, Fukami K, Matsui T, et al. DNA aptamer raised against AGEs blocks the progression of experimental diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2013;62(9):3241-3250. doi:10.2337/db12-1608
46. Lee S, Sullenger BA. Isolation of a nuclease-resistant decoy RNA that selectively blocks autoantibody binding to insulin receptors on human lymphocytes. *J Exp Med*. 1996;184(2):315-324. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2192744/>.