

适体酶 Aptazymes 的研究进展*

曾燕丽 兰小鹏**

(福建医科大学临床教学基地福州总医院全军医学检验研究所, 福州 350025)

摘要 适体酶是从寡核苷酸随机序列库中筛选获得的针对各种效应分子的一种新的人工合成酶. 它具有适体的特异性和核酶的催化活性. 适体酶作为催化分子信标, 为效应分子的定量分析提供了新的思路. 适体酶不仅在基因组学和蛋白质组学中应用, 而且在生物传感器和 DNA 分子逻辑研究中具有潜在的应用前景.

关键词 适体酶, 别构效应核酶, 别构效应脱氧核酶, 别构筛选, 催化分子信标, 逻辑门

学科分类号 Q559

Aptazymes 一词源于 Aptamers 和 ribozymes 或 deoxyribozymes 的结合, 意即适体或适配子和核酶或脱氧核酶, 故暂译为适体酶. 自从 Robertson^[1]将 L1 连接酶与阿糖腺苷和胆茶碱依赖的适体结合首次提出 Aptazymes 后, 开始被广泛地接受, Aptazymes 的相关研究报道逐渐增多, 可分为别构效应核酶(allosteric ribozymes)或别构效应脱氧核酶(allosteric deoxyribozymes). 由于 Aptazymes 是由适体(含有受体位点)和核酶或脱氧核酶(含有催化活性位点)组成的^[2], 因此 Aptazymes 与传统的酶不同, 它不是蛋白质, 而是一种寡核苷酸——既具有适体与靶物质结合的高特异性和高亲和力, 又有核酶或脱氧核酶的催化活性. 它们的催化活性受别构效应物(allosteric effectors)(包括短寡核苷酸片段^[3]、蛋白质^[4]、多肽、无机物、有机物等)调节: 在无别构效应物(一些小分子)存在时, 不具有或具有较低的活性, 而在有别构效应物存在时, 由于效应物与适体酶上的适体受体结合位点特异性结合后, 引起核酶或脱氧核酶发生别构作用可大幅度地改变酶的活性. 因此, 适体酶起到一种复杂的化学开关的作用^[5], 可以改变不同的功能, 应用于实时定量检测、高通量筛选或基因表达调控^[6], 从而开发新的信号传感器以及建立新的分子特异性检验方法等.

目前对于适体酶的设计易于接受的主要有两个策略^[7]:

a. 首先将目前已经知道具有靶特异性的适体和具有催化活性的短序列 RNA(RNAs)分别经过整合,

最终形成的分子同时具有靶物质高亲和性和预测的催化活性. 这种耦合是通过“合理模型设计”(modular rational design)和“体外筛选”技术(*in vitro* selection techniques)来实现的.

b. 另一种不同的方法直接开始于一种适体酶. 这种酶通过随机序列 RNA 库筛选的具有受体位点的适体和一种现存的具有催化活性的核酶结合. 随机序列需要经过几轮的筛选——“别构筛选”(allosteric selection)后, 获得连接特异性.

1 适体酶的结构特点

一个典型的适体酶由 3 个功能结构域组成: 一个效应分子结合中心、一个催化中心和一个在结构上易反应的构造, 这种构型能够通过效应物的结合改变催化中心的功能. 这 3 种结构分别为: 适体结构域(Aptamer domain)、核酶结构域(ribozymes domain)和通信模块(communication module). 其中通信模块不仅作为桥梁起连接作用, 而且参与催化功能. 以依赖荧光素(FMN)锤头状核酶适体酶为例, 无 FMN 时, 通信模块可以阻碍锤头状核酶催化活性环的形成, 这是因为环与通信模块的碱基部分互补, 造成潜在的突变体, 当存在 FMN 时, 通过

*全军医学科学技术研究“十一五”计划资助项目(06G038).

** 通讯联系人. Tel: 13805013386; Fax: 0591-83732129, E-mail:

lanxp@sina.com.cn

收稿日期: 2006-11-21, 接受日期: 2007-01-08

“滑动机制” (slip-mechanism)^[8], 空间的 A.G 碱基配对形成的结构更易导致其他碱基的滑动, 使得环形成 A.G 碱基的剪切位点. 适体酶不仅表现出诱导机制还表现抑制催化活性. Tang 等^[9]对 ATP 敏感的核酶机制进行研究发现(图 1), 当 ATP 不存在时, 适体结构域的三维结构保持异质性, 核酶具有剪切活性. 但是当 ATP 存在时, 通过“螺旋碰撞” (helix bumping) 机制, 适体酶形成一种高度有序的三维结构, 其 2 个茎(II 和 IV)形成 109°角, 导致茎 I 和茎 IV-upon 发生“空间冲突” (steric clash), 而且它们的重叠部分达 20%, 也就是说茎 IV 代替了茎 I 的位置, 导致锤头状核酶的活性结构被扰乱, 抑制了活性. Brackett 等^[10]发现, 孔雀绿依赖适体与底物结合时就具有潜在的催化功能, 可能是适体(RNA)连接到蛋白质口袋时的电荷分布稳定了酯水解反应的过渡态, 加速反应. 甚至是普通的 RNA 结构一旦碰到合适的底物就具有催化活性, 这种说法为适体酶机制提供新的观点, 有待深入研究.

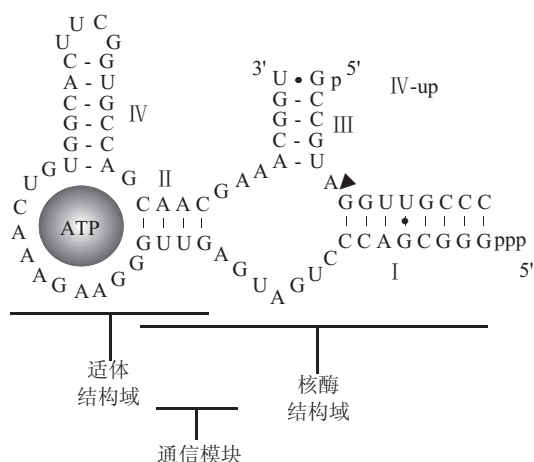


Fig. 1 ATP-binding Aaptazyme^[9]

图 1 ATP 结合的适体酶^[9]

‘IV-up’ 结构的二级结构是由锤头状核酶与结合 ATP 的 RNA 适体连接而成. 这两个结构域共同分享茎 II 结构成分.

2 适体酶的筛选方法

2.1 体外筛选法 (in vitro selection)

体外筛选^[11]开始于含有 90 个寡核苷酸随机序列(N₉₀)和能被 5' 和 3' 引物连接的 2 个侧翼的寡核苷酸库(图 2). a. 这个寡核苷酸库含有大量的短序列 RNA(RNAs), 在一定的条件下(包括适当的离子如: Pb²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, Mg²⁺), 3' 端侧翼与 DNA 效应分子互补结合后, RNA 底物(即寡核苷酸片段)的

3' 端的羟基可以与 5' 端三磷酸核苷结合, 伴随着焦磷酸的释放. b. 结合底物的 RNAs 从没有活性的 RNAs 中分离, 经过 RT-PCR 逆转录扩增, 形成双链 DNA 模板. c. 这些扩增的模板再经过巢式 PCR 引物重新产生 T7 启动子, 经 T7RNA 聚合酶转录形成 RNAs 成为下一轮的筛选库. 体外筛选法是建立在别构活性的基础上, 当 DNA 效应分子与 3' 端侧翼结合后, 使 RNA 底物结合到 5' 端的三磷酸核苷, 表现活性状态, 可从非活性的寡核苷酸中分离, 作为模板进行扩增. 由于 RNA 转录物的 5' 端和 3' 端结合域的序列是已知的, 很容易设计针对 5' 端和 3' 端序列的引物, 经过 RT-PCR 扩增形成具有活性的 RNAs. 当没有 DNA 效应分子时, 3' 端结合域被隐藏且阻碍了 RNA 底物结合到 5' 端, 不能形成模板. 由于库中有 90 个寡核苷酸随机序列, 相当于存在 4⁹⁰ 不同序列, 如此大的库容量足以筛选出想要的别构效应核酶或别构效应脱氧核酶, 甚至可以获得更多新的适体酶.

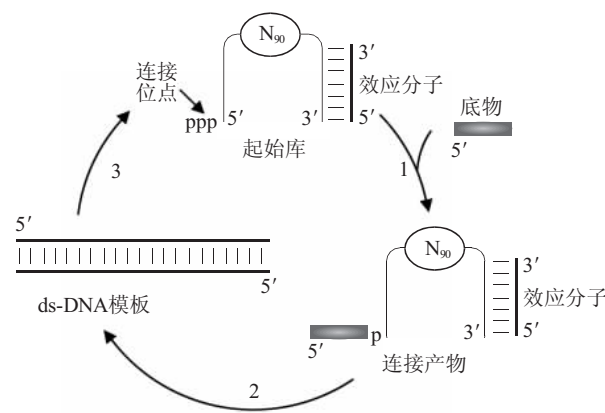


Fig. 2 In vitro selection scheme of an oligonucleotide-dependent RNA ligase ribozyme^[11]

图 2 寡核苷酸依赖的 RNA 连接酶核酶的体外筛选示意图^[11]

体外筛选开始于一种 RNA 结构, 其侧翼有 5' 和 3' 引物连接位点和中间含有 90 个寡核苷酸随机序列. (1)RNA 转录产物与一个 DNA 效应分子结合并与 RNA 底物孵育. (2)结合底物的短序列 RNA (RNAs)从没有活性的 RNAs 中分离, 经过 RT-PCR 逆转录扩增. (3)最终形成 ds-DNA 模板经体外转录成为下一轮的筛选库.

2.2 别构筛选 (allosteric selection)

目前研究最多的是锤头状核酶, 因为它结构简单、体积小、易于设计、合成及转移, 并且对底物 RNA 序列的要求不像发卡型核酶严格. 因此常用锤头状核酶来设计适体酶. 锤头状核酶的别构筛选如下(图 3): a. 筛选的核酶结构是由随机序列(N_x)和锤

头状核酶结合, 先经过反筛选(negative selection), 即无效应物的反应条件下将核酶进行孵育^[12], 然后将表现催化活性和无活性的核酶经过聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分离. b. 凝胶电泳上没有被剪切的无催化活性的核酶从凝胶中回收纯化, 用于正向选择(positive selection), 即在有效应物的反应条件下孵育, 再经过聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分离出具有催化活性的核酶, 它能够在凝胶上表现出剪切的预期片段, 然后回收、纯化. c. 纯化后的适体酶经过 RT-PCR 扩增. 下一轮的序列库是通过体外转录和 PAGE 纯化获得的. 别构筛选法用于在目前没有已知适体结合域情况下分离出效应物调节核酶的模块设计. 通过这种方式可以筛选出新的效应物结合位点, 可以简便地运用于各种未知效应分子的定量检测.

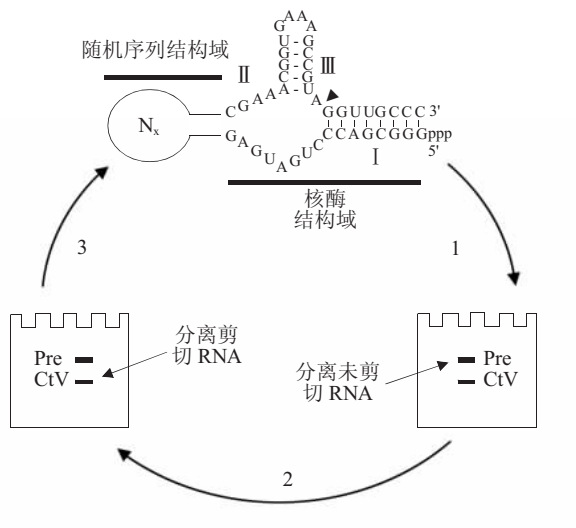


Fig. 3 Allosteric selection of RNA switches ^[11]

图3 RNA 开关的别构筛选 ^[11]

别构筛选开始于以一个锤头状核酶为侧翼的随机序列(N_x). (1) 在无效应分子时, 核酶通过 PAGE 分离. 没有被剪切的核酶前体(Pre)从凝胶中回收纯化. (2) 在有效应分子时, 产物再次经 PAGE 分离, 同时剪切 RNAs(CtV)被回收. (3) 经过 RT-PCR 扩增成为下一轮的 RNA 筛选库.

通过体外筛选法获得的适体结构域是以效应物结合为基础, 然后通过一个合适的连接或转导序列添加到核酶模型中. 然而这种方法的缺点是在酶活性松散的条件下进行筛选的, 另外还需要知道配体结合元件的核心的二级结构. 在别构筛选法中, 活性分子是从大量随机序列或者是诱变 RNA 库中获得. 在同时表现有效应分子结合的高亲和力和催化调节酶活性的核酶起始序列库中, 核酶的限制性限

制了这种方法. 这些缺点能够被混合筛选法(hybrid selection)所纠正. Ferguson 等^[13]将体外筛选法和别构筛选法合并, 来筛选分别针对咖啡因和阿司帕坦的适体酶. 首先是筛选出分别与咖啡因和阿司帕坦连接的锤头状模序的 RNA 分子, 然后进行效应分子分别激活切割活性的筛选. 实验证明通过这种方法能够筛选出有功能的阿司帕坦适体酶. 作者通过这种方法筛选出的核酶经过荧光标记 FRET, 应用于核酸报告分子(RiboReporter™ sensors), 可用来检测相对应的检测物.

3 催化分子信标 (catalytic molecular beacon)

分子信标(molecular beacons)是一种寡核苷酸探针, 应用于 RNA 和 DNA 检测、生物传感器或者生物芯片制作以及基因和蛋白质的实时定量检测^[14]. 别构效应核酶或脱氧核酶和脱氧核酶连接酶与分子信标结合即形成了催化分子信标(catalytic molecular beacon).

3.1 具有自我剪切活性: 别构效应脱氧核酶和别构效应核酶

Stojanovic 等^[15]将锤头状型脱氧核酶设计成包含一种茎环模型的分子信标, 这种茎环与靶寡核苷酸互补(图 4a). 当环关闭时, 抑制了脱氧核酶模型

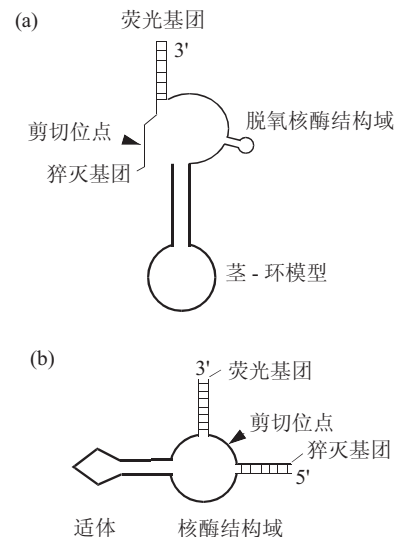


Fig. 4 Allosteric deoxyribozyme and allosteric ribozyme ^[18]

图4 别构效应脱氧核酶和别构效应核酶 ^[18]

(a) 别构效应脱氧核酶: 含有荧光基团和猝灭基团的脱氧核酶与一个茎-环模型结合. 靶物质是与环序列互补的寡核苷酸, 当与靶寡核苷酸结合时, 茎环被打开导致构象改变造成脱氧核酶的剪切. (b) 别构效应核酶: 由适体和含有荧光基团和猝灭基团的核酶连接而成. 通过适体与对应靶物质结合调节催化活性, 形成核酶的自我剪切使得荧光基团从猝灭基团分离出来.

的活性. 当与靶寡核苷酸结合时, 茎环被打开, 别构激活脱氧核酶模型, 通过双标记荧光底物的剪切来放大识别效应, 结果发现剪切率可在 0.01 ~ 2 mmol/L 靶物质的范围内^[16]. 此外, Harting 等^[17]设计一种能够替代药物的适体酶. 尤其是特异针对 Rev 蛋白的适体酶, 这种适体酶是由 Rev 敏感的适体结合域与含有 13 个序列的底物且两端分别标记荧光素(FAM)和罗丹明(TAMRA)互补的核酶形成(图 4b). 当 Rev 与适体酶结合域融合时, 适体酶结合域被抑制, 适体酶无活性, 无荧光信号; 当加入 Rev 结合小分子(SM)时, 它可以置换出与结合域结合的 Rev 蛋白, 调节适体酶的活性, 恢复了适体酶的剪切活性, 发出荧光信号. 为适体和适体酶在药物设计方面的应用开辟了新的途径.

3.2 自我连接活性: 脱氧核酶连接酶

Tabor 等^[19]设计一种二元的脱氧核酶连接酶(binary deoxyribozyme ligase), 这种二元酶是由 2 个催化结构域通过一个共同的茎结构融合而成(图 5). 当二元连接形成正确的结构时, 效应分子(寡核苷酸)与该酶的一双臂通过碱基配对结合, 激活催化结构域连接 2 个 DNA 底物, 其中的这 2 个底物分子都分别携带引物结合位点. 当底物与酶结合时, 可形成模板进行 PCR, 生成互补 DNA 链(cDNA). 复制 cDNA 的 Taq DNA 聚合酶遇到结合在模板上 TaqMan 探针时并将其消化, 发出荧光. 这种设计的连接酶能够“阅读”(read)序列, 然后“写”(write)下(通过连接)单个不同的序列, 并依次放大. 二元脱氧核酶显示高度特异性, 能够区分效

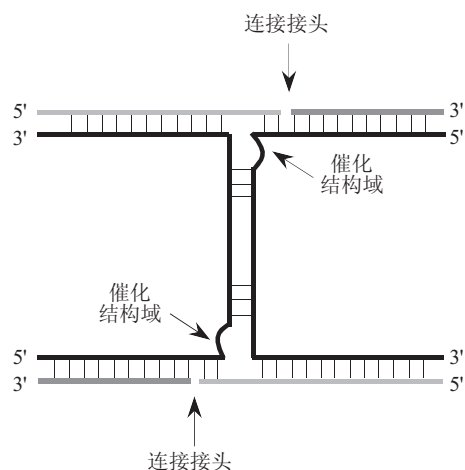


Fig. 5 Binary deoxyribozyme ligase^[19]

图 5 二元脱氧核酶连接酶^[19]

设计一种由 2 个催化结构域通过一个共同的茎结构融合而成的二元酶, 当二元连接形成正确的结构时, 催化结构域形成并能够与 DNA 底物连接.

应分子的少数突变, 并且能高保真地阅读和编码 DNA. 除此之外, 二元脱氧核酶连接酶也应用于基因组 DNA 的单个核苷酸多形态(SNP)的检测, 或者短链寡核苷酸如微短链 RNA(microRNAs)的鉴定.

4 适体酶的应用

4.1 基因开关 (genetic switches) 的设计和构建

别构效应核酶通过自我剪接和自我剪切后整合构建 mRNAs 可以用来设计一种新的基因控制系统. 在效应分子诱导下, 自我剪接的核酶可以应用于 mRNA 前体的处理, 产生表达信息的能力. 同样, 自我剪切核酶能促进分析物诱导 mRNAs 的破坏或稳定. Thompson 等^[20]设计了一种通过胆茶碱激活的 I 型自我剪接内含子(group I self-splicing introns), 也称为 I 型适体酶(group I aptazyme). 研究发现, 这种适体酶在体内被胆茶碱调节能进行内含子的自我剪接, 而且具有高度特异性甚至能够区别单个甲基. 内含子在体内是起着控制基因调节和病毒复制等作用, 而 I 型适体酶只需通过外源加入小分子就能对体内的内含子进行调节, 这种特性在将来有可能作为基因调节开关应用在 mRNA 水平上的基因敲除, 也可以通过 RNA 分子开关控制蛋白质的表达来构建基因治疗的载体.

4.2 蛋白质翻译后修饰蛋白质的检测

几乎所有的蛋白质都要经过各种形式的修饰, 翻译后修饰(post-translational modifications, PTMS)是最常见的一种. 目前, 已发现 300 多种不同的 PTMS 蛋白, 甚至一种基因产物可呈现磷酸化修饰、糖基化修饰、乙酰化修饰以及连接变体等多种修饰形式. 因此对 PTMS 蛋白的定量检测对蛋白质组学的研究是个很大的挑战^[21]. Vaish 等^[22]设计一种适体酶来检测翻译后修饰蛋白质. 通过非磷酸化形式的蛋白激酶 ERK2 识别结合适体酶 ERK-HH 的结合域, 导致原本茎 I 位置的序列容易替换到与茎 II 结合的位置, 引起 RNA 适体酶无活性的构象变化频率减少, 反之则激活适体酶. 作者还设计了一种依赖 ERK2 磷酸化形式的适体酶 ppERK, 研究发现, 这种酶只针对磷酸化的 ERK2 而对非磷酸化的 ERK2 不起作用. 这种核酶可以在哺乳动物细胞的大量溶菌产物中监测到 ERK2, 同样在多种液相中表现出活性功能. 这种适体酶在将来可用于高通量的检测, 在未来蛋白质组学的研究中, 定量、定性研究 PTMS 以及阐明其生物学功能仍然是一项极富挑战的工作.

4.3 在生物传感器中的应用

适体酶容易设计, 可检测不同种生物相关分子, 具有高信噪比(S/N), 这些特点使适体酶可以整合到生物传感器的阵列中, 这种生物传感器是由设计的 RNA 分子开关组装的, 是通过特异的效应分子激活别构核酶介导的自我剪切活性来控制的. 每种开关是通过 5'-三磷酸盐固定在固体支持物上, 从而形成独立的可设定位址像点的微阵列. 别构核酶组成每一个像点, 只有当存在其相应的效应分子时才表现有催化活性, 因此每种开关被当作特异分析物的传感器. Seetharaman 等^[23]设计一种能够区别各种代谢物的小型的生物传感器微阵列. 他们选择 7 种不同 RNA 开关做成微阵列, 分别是相关效应分子 Co^{2+} , cGMP, cAMP, FMN, theophylline(theo)和 theo-FMN 以及核酶组成的适体酶固定在微阵列上. 这个微阵列所有 9 列的像点是固定标记 ^{32}P 的每种适体酶. 在阵列的 7 行像点分别与上述的分析物孵育. 分析物连接到它们特异的适体酶后导致信号的丢失(在阳性图像中无像点), 这是因为催化的适体酶的自我剪切去除了放射性标记的核酶. 这种适体酶可以在复杂的混合物中检测不同的分析物. 这项技术对芯片分析的临床应用提供了新的手段. 适体酶不仅仅具有自我剪切酶的活性, 而且具有连接酶活性. 此外, Cho 等^[24]设计了一种针对丙型肝炎病毒复制酶和解螺旋酶的二元适体酶传感器(bis-aptazymes sensors), 通过在锤头状核酶的茎 I 和茎 III 分别与适体融合后显示很低的空白信号(blank signals)——在没有靶分子时显示的自我剪切活性引起的信号, 而在之前的通过茎 II 融合的适体酶则具有显著的空白信号. 同样, Rueda 等^[25]设计了胆茶碱特异的适体酶并将其应用在生物传感器上, 利用 FRET 原理, 能够精确读出荧光信号. 这种传感器具有高信噪比, 高于先前的适体酶几十甚至几百倍, 可以增大对靶分子的检测限度, 提高传感器的灵敏度.

4.4 一种新的生物计算机“分子硬件”(molecular hardware)

Stojanovic 等^[26]首先利用适体核酶构建分子“逻辑门”(AND gate). 他们将核酶和两端分别带有荧光素和猝灭剂的底物作为基本元件, 输入 1 为一段可以与核酶的“环”部分特异性结合的别构效应物(allosteric effector). 当输入 1 不存在时, 核酶可以通过攻击底物的核糖核苷并将底物水解, 释放了荧光素使之产生荧光(输出 1); 当输入 1 存在时,

核酶的茎环结构被别构效应所破坏, 失去了水解活性, 底物仍然保持完整, 不能产生荧光(输出 0). 基于类似的思路, Stojanovic 等^[27]构建了更为复杂的逻辑门, 并且完成了半加法器(half-adder)的设计. 输入信号通过特定的生物分子传感器可以产生输出信号, 从而实现“YES”、“NOT”等逻辑判断并可以组合成复杂的三输入逻辑门 AND(A)NOT(B), NOT(C). DNA 分子逻辑门奠定了发展 DNA 计算机的基础, DNA 计算是计算机科学和分子生物学相结合而发展起来的新兴研究领域. 由于 DNA 分子具有强大的并行运算和超高的存储能力, DNA 计算将能解决一些电子计算机难以完成的复杂问题, 而且也可能在体内药物传输或遗传分析等领域发挥重要作用.

5 结 语

适体酶是伴随适体技术而出现的一种人工合成的新型生物分子. 适体酶的结构设计尤其讲究, 适体与酶结合的空间位置、通信模块以及适体和酶的长度等都与适体酶的催化活性有关. 与适体技术一样, 适体酶的研究和应用仍处在初级阶段. 但其高度的生物特异性和催化活性, 融合了抗体与酶的优势, 又克服了抗体与酶的缺点. 因此, 可以预料, 随着生物技术和生物信息学以及计算机模拟技术的发展, 随着适体和适体酶研究的不断深入, 适体酶的研究和应用将显示出巨大的发展空间.

参 考 文 献

- Robertson M P, Ellington A D. Design and optimization of effector-activated ribozyme ligase. *Nucleic Acids Research*, 2000, **28** (8):1751~1759
- Davidson E A, Ellington A D. Engineering regulatory RNAs. *Trends Biotechnol*, 2005, **23** (3): 109~112
- Wang D Y, Lai B H Y, Feldman A R, *et al.* A general approach for the use of oligonucleotide effectors to regulate the catalysis of RNA-cleaving ribozymes and DNazymes. *Nucleic Acids Research*, 2002, **30** (8): 1735~1742
- Najafi-Shoushtari S H, Famulok M. DNA aptamer-mediated regulation of the hairpin ribozyme by human alpha-thrombin. *Blood Cells Mol Dis*, 2006, **38** (1): 19~24
- Lai E C. RNA sensors and riboswitches: self-regulating messages. *Curr Biol*, 2003, **13** (7): 285~291
- Famulok M. Allosteric aptamers and aptazymes as probes for screening approaches. *Curr Opin Mol Ther*, 2005, **7** (2): 137~143
- Ronald R, Breaker. Engineered allosteric ribozymes as biosensor components. *Biotechnology*, 2002, **13** (1): 31~39
- Najafi-Shoushtari S H, Famulok M. Competitive regulation of

- modular allosteric aptazymes by a small molecule and oligonucleotide effector. *RNA*, 2005, **11** (10): 1514~1520
- 9 Tang J, Breaker R R. Mechanism for inhibition of an ATP-sensitive ribozyme. *Nucleic Acids Res*, 1998, **26** (18): 4214~4221
 - 10 Brackett D M, Dieckmann T. Aptamer to ribozyme: the intrinsic catalytic potential of a small RNA. *Chembiochem*, 2006, **7**(5): 839~843
 - 11 Breaker R R. Engineered allosteric ribozymes as biosensor components. *Biotechnology*, 2002, **13** (1): 31~39
 - 12 Robertson M P, Ellington A D. Design and optimization of effector-activated ribozyme ligases. *Nucleic Acids Res*, 2000, **28** (8): 1751~1759
 - 13 Ferguson A, Boomer R M, Markus K, *et al.* A novel strategy for selection of allosteric ribozymes yields RiboReporter™ sensors for caffeine and aspartame. *Nucleic Acids Research*, 2004, **32** (5): 1756~1766
 - 14 Tan W, Wang K, Drake T J. Molecular beacons. *Curr Opin Chem Biol*, 2004, **8** (10): 547~553
 - 15 Stojanovic M N, de Prada P, Landry D W. Catalytic molecular beacons. *Chembiochem*, 2001, **2** (6): 411~415
 - 16 Frauendorf C, Jaschke A. Detection of small organic analytes by fluorescing molecular switches. *Bioorg Med Chem*, 2001, **9**(10): 2521~2524
 - 17 Harting J S, Najafi-Shoushtari S H, Grune I, *et al.* Protein-dependent ribozymes report molecular interactions in real time. *Nat Biotechnol*, 2002, **20** (7): 717~722
 - 18 Luzi E, Minunni M, Tombelli S, *et al.* New trends in a.nity sensing: aptamers for ligand binding. *Trends in Analytical Chemistry*, 2003, **22** (11): 810~818
 - 19 Tabor J J, Levy M, Ellington A D. Deoxyribozymes that recode sequence information. *Nucleic Acids Research*, 2006, **34** (8): 2166~2172
 - 20 Thompson K M, Syrett H A, Knudsen S M, *et al.* Group I aptazymes as genetic regulatory switches. *BMC Biotechnology*, 2002(2): 21~23
 - 21 Jensen O N. Dification-specificproteomics: characterization of post-translational modifications by mass spectrometry. *Curr Opin Chem Biol*, 2004, **8** (1): 33~41
 - 22 Vaish N K, Dong F, Andrews L, *et al.* Monitoring post-translational modification of proteins with allosteric ribozymes. *Nature Biotechnol*, 2002, **20** (8): 810~815
 - 23 Seetharaman S, Zivarts M, Sudarsan N, *et al.* Immobilized RNA switches for the analysis of complex chemical and biological mixtures. *Nat Biotechnol*, 2001, **19** (4): 336~341
 - 24 Cho S, Kim J E, Lee B R, *et al.* Bis-aptazyme sensors for hepatitis C virus replicase and helicase without blank signal. *Nucleic Acids Research*, 2005, **33** (20): 177~185
 - 25 Rueda D, Walter N G. Fluorescent energy transfer readout of aptazyme-based biosensor. *Methods Mol Biol*, 2006, **335**: 289~310
 - 26 Stojanovic M N, Mitchell T E, Stefanovic D. Deoxyrihozyme- based Logic Gates. *Am Chem Soc*, 2002, **124** (14): 3555~3561
 - 27 Stojanovic M N, Stefanovic D. Deoxyribozyme-based half adder. *Am Chem Soc*, 2003, **125** (22): 6673~6676

Progress in Aptazymes*

ZENG Yan-Li, 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 Aptazymes are a new artificial synzyme, selected from the random oligonucleotide sequence libraries against various of effector molecules. They own the advantages of an aptamer(the receptor site) and the ribozyme (the catalytic active site). Moreover, aptazymes as catalytic molecular beacon provide a new orientation for the quantitative analysis of effector molecules. Aptazymes not only have the application in genomics and proteomics, but also have potential applications in biosensor and DNA AND gate.

Key words aptazymes, allosteric ribozymes, allosteric deoxyribozymes, allosteric selection, catalytic molecular beacon, AND gate

*This work was supported by a grant from Military Medicine Science and Technology Research Foundation (06G038).

**Corresponding author. Tel: 13805013386; Fax: 86-591-83732129, E-mail: lanxp@sina.com.cn

Received: November 21, 2006 Accepted: January 8, 2007