



叶华, 颜子怡, 王梦媛, 等. 核酸适配体 post-SELEX 技术研究进展[J]. 轻工学报, 2026, 41(4): 1-12.  
YE H, YAN Z Y, WANG M Y, et al. Research progress on aptamer post-SELEX technology[J]. Journal of Light Industry, 2026, 41(4): 1-12. DOI: 10. 12187/2026. 04. 001

# 核酸适配体 post-SELEX 技术研究进展

叶华, 颜子怡, 王梦媛, 李诗洁, 孔德昭

江苏科技大学 粮食学院, 江苏 镇江 212003

**摘要:** 核酸适配体是通过指数富集配体系统进化 (SELEX) 技术筛选获得的 ssDNA 或 RNA 分子, 常作为分子探针应用于食品安全、生物医药等领域。然而, 传统 SELEX 技术筛选获得的核酸适配体在亲和力、特异性、稳定性等方面仍存在一定局限, 近年发展起来的核酸适配体后期优化技术 (post-SELEX) 可通过多维度协同提升核酸适配体的实际应用效能。本文从裁剪技术、化学修饰技术和人工智能技术 3 个类别对 post-SELEX 技术进行归纳, 裁剪技术可显著提升核酸适配体的结合能力, 化学修饰技术可有效增强核酸适配体的稳定性, 人工智能技术可大幅提高核酸适配体定向改造的成功率。然而, 3 种技术各有局限, 如裁剪技术存在破坏关键结合域的风险, 化学修饰技术可能会影响亲和力, 人工智能技术则面临数据匮乏的挑战。尽管如此, 这些技术的应用能有效提升核酸适配体的综合性能, 为拓展其产业化应用提供了重要技术支撑。未来研究将聚焦于裁剪、化学修饰、人工智能等技术的协同策略开发, 核酸适配体构效关系深层机制解析及其专用数据库开发, 以推动核酸适配体产业化应用。

**关键词:** 核酸适配体; post-SELEX 技术; 裁剪技术; 化学修饰技术; 人工智能技术

**中图分类号:** TS207. 3 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2026)04-0001-12

## 0 引言

核酸适配体 (Aptamer, 下文简称适配体) 是一种具有高稳定性、易于化学合成、无免疫原性的分子探针, 在食品安全、生物医学、环境监测等领域受到广泛关注。适配体通常是通过指数富集配体系统进化 (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment, SELEX) 技术筛选获得。该技术最早由 C. Tuerk 等<sup>[1]</sup> 于 1990 年提出, 他们首先创建了 1 个含有 6 万多条随机 RNA 序列的文库, 通过孵育结合、洗脱分离、PCR 扩增、次级文库制备等步骤多轮反复筛选, 成功获得了能特异性结合 T4

DNA 酶的 RNA 序列<sup>[1]</sup>。与此同时, A. D. Ellington 等<sup>[2]</sup> 将通过这种技术筛选获得的序列命名为 aptamer, 该词源自拉丁语“apt”(适当的、恰当的) 和古希腊语“mer”(部分), 意为“适配的部分”, 即适配体。经过三十多年的发展, 很多新型 SELEX 技术被开发出来, 包括磁分离 SELEX、毛细管电泳 SELEX、微流控 SELEX、Capture-SELEX 等<sup>[3-5]</sup>。目前已有上千个 RNA 或 ssDNA 适配体被成功筛选并报道, 大到细菌、细胞、蛋白质, 小到真菌毒素、抗生素和金属离子<sup>[6-7]</sup>。然而, 成功产业化应用的适配体屈指可数, 尤其是在食品安全领域, 适配体仍主要处于理论探索阶段, 用于开发各类生物传感器。要

收稿日期: 2025-05-19; 修回日期: 2025-10-05; 出版日期: 2026-08-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32372417); 国家重点研发项目 (2023YFF1104703-04)

作者简介: 叶华 (1981—), 男, 安徽省池州市人, 江苏科技大学教授, 博士, 主要研究方向为食品安全检测与质量控制。E-mail: huaye@just.edu.cn

推动适配体全面产业化,仍需跨学科协作、标准体系构建及产业链配套升级。

传统 SELEX 技术初筛文库的序列长度一般设计为 80~120 nt,除去两端 PCR 扩增需要的引物区,随机区序列长度约为 40 nt,对应约  $4^{40}$  个序列,虽然保证了文库多样性,但也造成了适配体的结构冗余。此外,如果筛选过程中压力设计不足(如反筛、负筛等次数少)或模拟环境存在偏差,易导致筛选出的适配体亲和力不足、特异性不强、稳定性不好,难以满足复杂实际场景的应用需求<sup>[8-9]</sup>。1997 年, B. E. Eaton 等<sup>[10]</sup>研究发现,对适配体的碱基或核糖体进行化学修饰,可以进一步增强适配体亲和力及其他所需特性,他们将这种改造技术首次称为 post-SELEX 技术。近年来,许多学者采用截短、延伸、劈裂、突变、化学修饰及人工智能等手段,对初筛适配体进行序列优化与功能研究,以阐明其构效关系和识别机制。这些工作旨在克服 SELEX 初筛适配体的潜在缺陷,不断提升适配体的实际应用性能,从而推动其产业化发展<sup>[11-13]</sup>。post-SELEX 技术已经由最初通过化学修饰指导文库的设计扩展到对初筛适配体及文库的改造和设计。基于此,本文拟从裁剪技术、化学修饰技术和人工智能技术 3 个方面对 post-SELEX 技术进行分类(图 1),阐述它们在适配体序列优化与性能提升方面的设计原则,以及在食品安全检测领域的应用进展,以期为研究者提供适配体功能强化的“工具箱”。

## 1 裁剪技术

适配体的序列长度、核苷酸组成和空间结构直接影响其识别性能<sup>[14]</sup>。研究<sup>[15]</sup>表明,初筛适配体序列中存在大量不参与靶标结合的碱基,这些非必需核苷酸可能形成冗余结构,不仅干扰适配体与靶标分子的相互作用,还会影响适配体传感器在检测中的信号传导效率。Y. Tian 等<sup>[6]</sup>研究发现,长序列适配体易紧密吸附于纳米金(AuNPs)上,导致解离不完全,抑制聚集反应并降低信号响应;而裁剪去除结合区外多余碱基后,比色传感器的检测灵敏度提高了 3.3 倍。因此,通过理性设计和科学裁剪去除这些非必需核苷酸,不仅可以缩短适配体的长

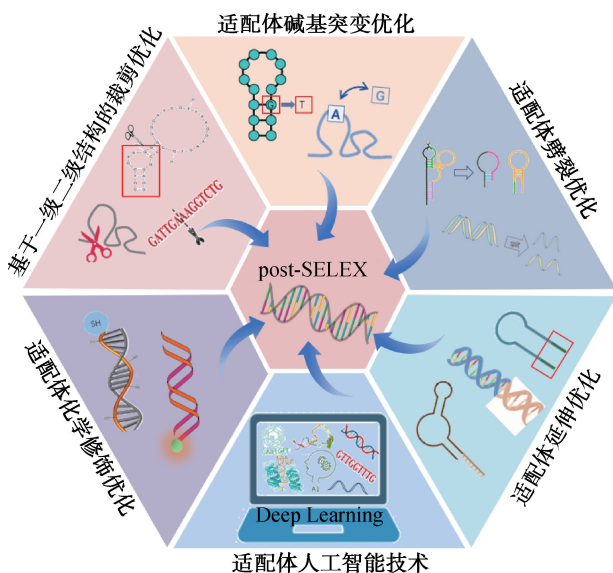


图 1 适配体的 post-SELEX 技术优化方法示意图  
Fig. 1 Schematic diagram of post-SELEX optimization strategies for aptamers

度,克服冗余结构带来的不利影响,还可以有效提高适配体传感器的性能。

### 1.1 基于一级结构的裁剪

经 SELEX 技术筛选获得的多条候选适配体序列通常具有一定的同源性。研究<sup>[7]</sup>表明,这些同源区域中的保守序列可能在靶标-适配体结合过程中发挥关键作用。因此,通过比对和分析候选适配体序列的同源性,从一级结构序列角度对适配体进行裁剪设计,可以提升适配体性能。如 Y. S. Kwon 等<sup>[8]</sup>对土霉素(OTC)候选适配体进行同源性分析,发现其随机区在第 8~15 位碱基高度保守,并据此设计了 2 条含 8 个碱基的短序列 A1 和 A2,且截短后二者的亲和力均高于全长适配体。此外,A2 不仅能识别 OTC,还能识别四环素、土霉素、金霉素等其他 3 种四环素类抗生素,具有较高的广谱识别能力。M. C. Cowperthwaite 等<sup>[9]</sup>通过生物信息学分析发现,大多数适配体的恒定引物区对靶标结合贡献都很小,可尝试直接去除两端引物,仅保留随机区进行优化。H. J. Gu 等<sup>[12]</sup>将大田软海绵酸(OA)适配体两端的引物区裁剪后,亲和力略有提高,序列长度缩短了 50%,降低了合成成本并有利于信号传导。然而,基于一级结构的裁剪方法虽操作简单,但改造结果随机性较强,难以预期。

## 1.2 基于二级结构的裁剪

具有一级序列的适配体通常通过碱基配对或非配对形成茎环、发夹等二级结构,这些结构决定了适配体的三维构象,直接影响其亲和力和特异性。因此,预测和分析二级结构可为适配体裁剪设计及性能优化提供指导<sup>[12]</sup>。目前已有多款软件可用于预测适配体的二级结构,如 Mfold、NUPACK 等<sup>[16]</sup>。W. Cui 等<sup>[17]</sup>利用 Mfold 软件对全长 79 nt 的谷胱甘肽 S-转移酶(GST)适配体 Seq3 进行二级结构分析,将其划分为 3 个区域,经逐步裁剪优化,最终获得长度仅 39 nt 且亲和力保持良好的 Seq3-3。Y. Q. Chen 等<sup>[18]</sup>利用 Mfold 对邻苯二甲酸酯(PAE)适配体进行结构预测并在不同位点截短,去除侧翼核苷酸后获得 24 nt 适配体,亲和力提高了 1.5 倍。H. Ye 等<sup>[19]</sup>基于二级结构,通过逐个裁剪茎或环的形式,将脂多糖(Lipopolysaccharides, LPS)适配体长度从 80 nt 成功缩短至 27 nt。缩短后的适配体能广谱识别多种细菌来源的 LPS,且亲和力提高了 4.8~29.0 倍。E. H. Lee 等<sup>[20]</sup>对预测的双酚 A 适配体二级结构进行剪裁优化,获得了一条性能更优、长度仅为 24 nt 的短适配体。以此作为分子探针构建的适配体生物传感器,检测限低至 0.17 pg/mL,比基于全长适配体的传感器灵敏度提高了约 3300 倍。这种基于二级结构的裁剪方法不仅能够获得高效、经济、高亲和力的适配体,还为优化多种分子靶标的适配体提供了一种通用策略。

## 1.3 适配体延伸

基于二级结构的裁剪加深了研究者对适配体-靶标结合机制的理解。除裁剪外,对序列进行延伸设计,如添加天然碱基以形成微发夹、三螺旋等特定结构或支撑位点,同样能改善适配体的热稳定性、核酸酶抗性、亲和力等特性<sup>[21]</sup>。M. Kimoto 等<sup>[22]</sup>为提高 VEGF165 适配体的亲和力与热稳定性,利用 GC 碱基对的稳定性特点对其末端进行延伸改造。他们在 Stem 1 末端增加 1 个 GC 碱基对和 1 个 GGGAAGC 微发夹结构,同时将 Stem 2 上的 AT 碱基对替换为 GC 碱基对。结果表明,该延伸策略显著提升了适配体的稳定性和亲和力。L. H. Zhao 等<sup>[23]</sup>设计了 1 个三螺旋结构,将其连接在溶菌酶适

配体上,并固定其 2 个末端,这种延伸设计使亲和力和提高了近 10 倍。Y. L. Bai 等<sup>[24]</sup>研究发现,在  $\alpha$ -凝血酶适配体 Apt15 的 3' 端延伸不同长度的 poly T 尾巴可显著影响其亲和力。当 poly T 长度 > 18 nt 时,适配体亲和力明显提升的同时还表现出高选择性。相较于基于一级或二级结构的裁剪策略,这种基于特定结构的延伸设计目标更明确,不仅突破了裁剪策略的思维局限,还能通过延伸实现适配体亲和力、稳定性等特定性能的定向改造。

## 1.4 适配体碱基突变

适配体碱基突变是指通过定点或随机替换核苷酸序列中的碱基,以提升适配体的亲和力或特异性<sup>[25]</sup>。L. Gao 等<sup>[26]</sup>通过碱基突变研究发现,双靶标适配体 OBA3 第 15 位 T 碱基对赭曲霉毒素 A 的识别至关重要,将其突变为 C 碱基后,适配体失去赭曲霉毒素 A 结合能力,但对诺氟沙星的特异性显著增强。Y. D. Qin 等<sup>[27]</sup>将地塞米松适配体 Apt-T2 中的个别非 G 碱基突变为 G 碱基,以诱导形成 G-四链体结构,获得突变体 Apt-M13。该突变体对地塞米松的特异性提高,亲和力也提升了约 2.2 倍,表明碱基突变可有效增强适配体与靶标的亲和力,但不同突变位点的效果存在差异。J. Canoura 等<sup>[28]</sup>报道,ATP 与适配体的 2 个结合位点由位于双链小沟的 G·G 和 A·G 错配构成。为提升其特异性,对结合域相邻位点进行点突变,发现 A23T 和 G10T-A23G 突变体的特异性和亲和力均显著增强。由此可知,通过合理碱基突变可有效提升适配体性能,使其在传感应用中具有更高的灵敏度与选择性。然而,碱基突变改造也面临一定挑战:关键碱基的突变可能导致适配体无法正确折叠而失去亲和力;若涉及过多突变,则需重新合成序列进行实验验证,耗时费力。尽管如此,碱基突变改造不仅能有效避免传统 SELEX 筛选的自然局限性,还有助于揭示结合机理,提升适配体生物传感器设计的科学性。

## 1.5 适配体劈裂

适配体劈裂是指将 1 个完整的适配体分割成 2 个或多个片段。在无靶标分子存在时,这些片段保持分离状态;而当靶标分子出现时,它们通过互补配对重新组装,协同作用于靶标,实现特异性结



合<sup>[29]</sup>。该策略可减少假阳性信号,提高检测可靠性。此外,劈裂可以通过减少空间位阻来优化空间结构<sup>[30]</sup>,进而提高适配体与靶标分子的结合性能。目前报道的劈裂适配体多基于茎环型、发夹型或三通型结构进行设计。这些简单结构的适配体在关键碱基明确的情况下更容易劈裂成功。因此,在设计劈裂适配体之前,通常需要对其结构和功能进行分析,裁剪掉不参与结合的非必需碱基,形成简单的发夹或茎环结构,再进行劈裂位点设计。但劈裂位点的选择需要避开适配体与靶标结合的关键区域,确保劈裂后的短片段仍能通过自组装恢复结合活性。C. Santa 等<sup>[31]</sup>通过评估万古霉素适配体二级结构中的多个劈裂位点,确定茎环位置第 27 位腺嘌呤(P27)为最佳劈裂位点。将适配体在此位点劈裂为 2 个片段(split-1 和 split-2),并基于表面等离子体共振(Surface Plasmon Resonance, SPR)技术构建无标记实时检测体系,发现劈裂后的适配体对万古霉素的亲和力和灵敏度均显著提高,检测限低至 0.14  $\mu\text{mol/L}$ 。C. C. Chang 等<sup>[32]</sup>将具有茎环结构的雌二醇适配体劈裂为 2 个片段( $C_1$  和  $C_2$ ),构建了基于金纳米颗粒的比色检测体系,研究发现高自由能的劈裂片段( $C_1/C_2$ )构建的检测体系性能优于低自由能片段,检测限低至 6.7 nmol/L,证实适配体劈裂后片段间的协同效应可显著提升检测性能。W. J. Wang 等<sup>[33]</sup>将茎环结构的双酚 A 适配体劈裂为 2 个片段,并采用双末端标记构建了无酶扩增检测体系,结果表明,双末端标记探针的性能优于劈裂前的单末端标记探针,检测限低至 0.89 ng/mL,灵敏度提高了 24 倍。P. Zhu 等<sup>[34]</sup>在截短的发夹型 T2 毒素适配体 T40 基础上,于发夹环顶部的 G 碱基附近设计了 2 个劈裂位点,获得的 2 组劈裂适配体亲和力均显著提升。A. D. Kent 等<sup>[35]</sup>在设计三通型适配体劈裂位点时,考虑到结合口袋的重要性,将劈裂位点设于远离结合口袋的位置,并将适配体分裂为 2 个短片段。该方法不仅保留了原有的亲和力与特异性,还提升了结合效率,并成功用于  $\beta$ -雌二醇(BE)的检测。郑业坤等<sup>[36]</sup>为避免破坏 AFM1 适配体已知的结合口袋,将劈裂位点设于第 30~35 位的非保守环区域,并将适配体等分劈裂为 2 段(S1、

S2),电化学传感器的假阳性信号得到显著降低。目前,成功通过劈裂策略优化的适配体数量仍然有限。在已发现的 100 多种小分子结合适配体中,仅有少数被有效劈裂<sup>[37]</sup>。这一限制主要归因于现有的劈裂方法及后续改性技术尚不完善,导致劈裂位点的设计难以精准到位。若劈裂发生在发夹结构的结合口袋等不适当位置,可能会严重破坏适配体的关键结合区域或二级结构,最终导致适配体劈裂失败。上述研究表明,通过理性设计适配体劈裂,能够突破传统完整适配体的性能局限;精准控制分裂位点及片段组合,可显著提升检测体系的灵敏度、特异性和稳定性。

综上所述,基于一级结构的裁剪操作简便、成本低廉,能快速获得缩短的序列,但设计盲目性大,极易因破坏关键碱基而导致功能丧失。基于二级结构的裁剪能在一定程度上识别功能域,显著提高成功率和亲和力,但其效果高度依赖于结构预测软件的准确性。延伸与碱基突变能够定向增强适配体的稳定性、亲和力或特异性,但需更科学地设计延伸长度与碱基突变位点,否则不当突变可能破坏其空间构象。此外,适配体劈裂策略虽能大幅降低生物传感器的背景信号并实现超高检测灵敏度,但技术门槛高,劈裂位点的选择极为苛刻,一旦破坏结合口袋将直接导致适配体劈裂失败。这些方法的应用场景也各有侧重:对于抗生素、毒素等小分子靶标,通常可采用裁剪、劈裂等策略以减少空间位阻;而对于蛋白质等大分子靶标,由于其三维结构界面复杂,更适合采用二级结构指导的精确设计,或通过延伸增强结构稳定性,甚至借助碱基突变精准优化结合位点。因此,实际应用中需根据靶标特性选择适配体裁剪优化策略。

## 2 化学修饰技术

化学修饰是指对适配体的末端、碱基或核苷酸骨架等进行改造,例如引入特定的化学基团或功能分子,以提升其稳定性、亲和力或选择性,同时赋予其新的功能特性(如增强抗酶降解能力),从而改善其在复杂生物环境中的综合性能。经修饰的适配

体在生物传感、药物递送与诊断等领域具有广阔的应用前景<sup>[38-39]</sup>。I. V. Varizhuk 等<sup>[40]</sup>在 15 nt 长的凝血酶适配体上设计修饰了三肽侧链,显著增强了其抗凝血活性。该修饰适配体对凝血酶诱导凝血的抑制效果较修饰前提升了约 6 倍,证实了化学修饰可有效提升适配体在复杂生物环境中的稳定性。

## 2.1 末端修饰

末端修饰通常是指在适配体序列的 5'或 3'末端引入生物素、巯基、氨基、聚乙二醇、荧光分子等功能基团,以提升其亲和力、特异性、稳定性等性能并拓展应用范围<sup>[41]</sup>。G. Ge 等<sup>[42]</sup>在适配体末端修饰荧光分子,构建了荧光适配体传感器,实现了对黄曲霉毒素 M1 和 B1 的同时定量检测,检测限分别达 6.24 pg/mL 和 9.0 pg/mL。这种适配体末端荧光修饰策略不仅增强了靶标识别信号,也为生物传感和分子成像提供了新思路。C. Da. Pieve 等<sup>[43]</sup>在 MUC1 适配体 3'末端修饰聚乙二醇,5'末端修饰钨螯合剂 MAG2,研究发现双末端修饰未影响适配体对 MUC1 的结合力,但显著延长了其半衰期,证实聚乙二醇修饰可提高适配体的稳定性。末端修饰是适配体化学修饰常见方法之一,通常可根据应用需求设计修饰类型,广泛应用于食品安全检测、诊断治疗、分子成像等领域。然而,部分大分子功能基团的修饰可能影响适配体的折叠,降低其亲和力,因此在修饰后需对适配体性能进行多方位评估。

## 2.2 碱基修饰

碱基修饰通常是指对适配体序列中的碱基进行定点或全局改造,如引入非天然碱基,以提高其亲和力、特异性和稳定性。以凝血酶适配体 TBA 为例,该适配体含 15 个碱基的 DNA 序列(5'-GGTTGCTGTGCTTGG-3'),可折叠成 G-四链体结构,其中 T-T 环和 T-G-T 环对靶标亲和力至关重要。R. Dolot 等<sup>[44]</sup>为提高 TBA 的亲和力,合成了 1 种 T 类似物的非天然碱基 W,用于替换 TBA 中的单个或成对 T 碱基。结果表明,第 4 位带有 W 碱基的适配体亲和力提高了约 3 倍;而同时替换 T4 和 T12 的适配体亲和力则提高了近 10 倍。此外他们还合成了

另一种非天然碱基 K,发现 K4 适配体的亲和力提高了 7 倍。I. Smirnov 等<sup>[45]</sup>对凝血酶适配体 HD1 上特定胸腺嘧啶碱基的 N3 位进行碱基修饰,定点修饰碱基 T3 和 T12 后,适配体与凝血酶的结合界面扩大,其亲和力和抗凝血活性均提高。

## 2.3 核糖修饰

核糖修饰是指对核酸分子中糖环部分进行化学修饰,通常在核糖的 2'位羟基(2'-OH)上引入 2'-O-甲基化、锁核酸等取代基<sup>[46]</sup>,以改变其化学或生物学性质。适配体在生理环境中容易被核酸酶降解,导致其稳定性和功能受损。对适配体糖环进行化学修饰是解决上述问题的一种常见策略<sup>[47]</sup>。在糖环上引入修饰基团,不仅可以促进双链形成及二级结构稳定性,还能增强修饰后序列对核酸酶的抵抗力。M. Nicolai 等<sup>[48]</sup>研究了 2'-O-甲基化修饰对 RNA 寡核糖核苷酸(ORN)调控 Toll 样受体 7(TLR7)和 Toll 样受体 8(TLR8)功能的影响。结果表明,该修饰策略可将 RNA 适配体从 TLR7/TLR8 双重适配体转变为特异性靶向 TLR8 适配体。其中,RNA63M3 被鉴定为最优 TLR8 适配体,其特定 2'-O-甲基化位点和序列特征使其能够有效激活 TLR8,同时完全抑制 TLR7 活性,这一发现对开发靶向 TLR8 的治疗性适配体具有重要意义。L. J. Dai 等<sup>[49]</sup>对 DEK 靶向适配体(DTAs)的核糖 2'位点进行甲氧基修饰,发现该修饰策略可在保持适配体亲和力的同时,显著提升其稳定性。G. E. Maio 等<sup>[50]</sup>针对白血病细胞的 KH1C12 适配体,通过 5'/3'端逐步裁剪去除冗余序列,明确其核心结合区域;随后,在裁剪序列两端引入 2'-O-甲基 RNA 修饰,显著增强了对核酸酶的抗性,且基本未影响其亲和力。该策略由于裁剪后适配体结构更为简洁,修饰能够精准作用于核心区域,避免了冗余序列对结合性能的干扰。

锁核酸(Locked Nucleic Acid, LNA)是一种核苷酸类似物,其糖环的 2'-O 与 4'-C 之间存在额外的化学键,使获得的杂交体具有非常稳定的构象。因此,LNA 修饰可增强适配体的抗酶解能力及热稳定性。G. Q. Ying 等<sup>[51]</sup>在凝血酶适配体的多个位置引入 LNA 修饰,发现位于 TGT 环 T7 位点的 LNA 修饰

可增强适配体的热稳定性,且不破坏其整体结构,这一发现为通过 LNA 修饰优化适配体的热稳定性提供了新思路。然而,LNA 修饰也可能带来一些潜在问题。其刚性结构可能会限制 LNA 修饰序列的灵活性,从而在一定程度上影响适配体的二级结构和功能。特别是当 LNA 修饰位于适配体中与靶标结合相关的特殊环或隆起区时,适配体与靶标之间的亲和力可能受到影响<sup>[52]</sup>。

## 2.4 骨架修饰

骨架修饰是对核酸(如 DNA 或 RNA)分子中磷酸二酯键骨架进行的化学修饰。天然核酸骨架由磷酸基团和糖基(核糖或脱氧核糖)交替连接而成,修饰通常通过改变磷酸基团或糖基的结构来实现,例如对磷酸骨架进行硫代或甲基化修饰<sup>[53-54]</sup>。这类修饰可提高适配体对核酸酶的抵抗能力,延长其半衰期,从而提高其在复杂环境条件下的稳定性<sup>[55]</sup>。最常用的骨架修饰方法是用硫代磷酸酯(PS)类似物替代 DNA 中的磷酸二酯键。由于磷酸二酯键是核酸酶消化适配体的主要位点,对其进行骨架修饰能有效防止适配体在体内被降解。J. Wu 等<sup>[56]</sup>研究发现,BC15-31 是一种特异性靶向异质核糖核蛋白 A1(hnRNP A1)的 DNA 适配体,经 PS 骨架修饰后,其与 hnRNP A1 的结合能力显著提升。同时,其在 20%胎牛血清中的稳定时间显著延长。这表明 PS 骨架修饰能够同时增强适配体的靶标亲和力与血清稳定性,为其进一步的临床应用奠定了基础。U. Flierl 等<sup>[57]</sup>研究发现,经 PS 骨架修饰的 DNA 寡核苷酸 ODN2395 能够特异性激活血小板,且该修饰能显著增强 ODN2395 与血小板的结合能力。这一发现表明,骨架修饰可显著提升适配体与靶标的亲和力,为新型抗血栓药物的开发提供了重要参考。

上述化学修饰不仅能显著提高适配体抵抗核酸酶降解的稳定性,还可对其亲和力与特异性产生积极影响,并且可根据改造需求联合使用多种修饰技术。2004 年美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的首款适配体药物派加他尼(Macugen),在其 5' 端偶联了 40 kPa 的 PEG,3' 末端连接 1 个反向脱氧胸苷;同时,其 27 个

碱基的 RNA 主体部分采用 2'-F(嘧啶)与 2'-OMe(嘌呤)修饰,从而改善了其药代动力学特性<sup>[58]</sup>。需要注意的是,部分修饰技术成本较高,在实际应用中,需根据实验目的与经济成本,合理选择 1 种或多种化学修饰技术组合进行改造。另外,在 SELEX 过程之后引入的任何修饰都可能影响适配体的亲和力,某些修饰甚至可能改变适配体的折叠方式,对靶标结合产生负面影响。此外,化学修饰还可能引发毒性、过敏反应等不容忽视的问题<sup>[59]</sup>。总体而言,化学修饰技术为适配体的功能优化与实际应用提供了强有力的工具,展现出广阔的发展前景。

## 3 人工智能技术

随着计算机和信息技术的飞速发展,人工智能技术正逐步成为 post-SELEX 技术中适配体研究的革命性工具,为提高适配体优化效率和性能提供了新路径。广义上,人工智能技术通过分子对接、分子动力学模拟、深度学习等算法,结合生物信息学与化学数据,可理性预测适配体序列的优化位点、修饰效果及构象动态变化,从而指导实验,提升适配体改造的效率和成功率。

### 3.1 分子对接技术

分子对接利用分子间的空间构型和能量互补性,预测 2 个分子之间的最佳结合方式,并确定其相互作用的可能结合位点、结合方式及结合力。该方法对于提升适配体性能、揭示其互作机制具有重要意义。常见的分子对接软件包括 AutoDock、HADOCK、NPDock 等。其中 AutoDock 常用于核酸适配体的对接研究,其核心基于半柔性对接算法,采用 Lamarckian 遗传算法进行构象搜索<sup>[60]</sup>,并根据结合自由能进行评分。

刘佳等<sup>[61]</sup>通过分子对接确定了 3 条适配体(L14r、P3r、L7r)与蓖麻毒素的结合能力,并明确了活性口袋结合位点,为后续基于结构的精准改造提供了重要依据。Y. Luo 等<sup>[62]</sup>通过分子对接明确了特异性识别烟碱类杀虫剂噻虫嗪的适配体 Thi13 的关键结合碱基为 34G、35A 和 36C,这加深了对适配体-靶标相互作用机制的理解。H. Wei 等<sup>[63]</sup>对 15 nt



的甲硝唑裁剪适配体 AP32-4 进行分子对接,发现 A19、T20、C21、C22、G37、G38、T39、A62 和 G63 共 9 个碱基在结合过程中发挥关键作用,且范德华力和疏水作用是主要的结合作用力。Y. X. Yu 等<sup>[64]</sup>利用分子对接优化玉米赤霉烯酮(Zearalenone,ZEN)适配体性能,在确定碱基 A60、G79、C80 和 C88 是通过氢键和疏水作用与 ZEN 相互作用的基础上,对原始长链适配体进行裁剪和逐步优化,最终获得的新适配体亲和力提高了 3.4 倍。J. J. Nie 等<sup>[65]</sup>通过分子对接确定了妥布霉素适配体的关键结合碱基为 G17、C18、A19 和 C20,并在此基础上进行裁剪设计,获得了一条长度仅为 15 nt 的短适配体。该适配体与妥布霉素的亲和力为 42.12 nmol/L,显著高于原始长链适配体。尽管 AutoDock 等分子对接软件开源易用、适合快速筛选,但仍存在一定局限性,例如需要手动调整参数、对柔性构象的预测能力有限。因此,未来需发展更高精度的计算方法,或与实验验证相结合,以进一步提升预测可靠性。

### 3.2 分子动力学模拟技术

分子动力学模拟基于经典力学,在计算机上研究分子体系在特定条件下的动态行为,常用于分析分子间相互作用及构效关系。目前,该方法在适配体-靶标相互作用等领域已有广泛应用<sup>[66-68]</sup>。常用的分子动力学模拟软件及技术包括 GROMACS、AMBER、CHARMM 等。

分子动力学模拟由于完成速度快、与实验结果一致性高等优点,受到越来越多研究者的关注。例如,Y. C. Xie 等<sup>[69]</sup>利用分子动力学模拟研究了适配体与 ATP 结合的静态和动态超分子结构,发现该适配体刚性较高,结构受 ATP 结合影响很小;相互作用主要来源于 ATP 与 G22 碱基之间的氢键及与 G6 和 A23 碱基之间形成的  $\pi-\pi$  堆积作用。K. M. Peng 等<sup>[70]</sup>利用  $Pb^{2+}$  适配体与多肽合成了新型适配体基识别元件 APC(Aptamer-Peptide Conjugate),并通过分子动力学模拟发现 APC 与  $Pb^{2+}$  存在多个结合位点,揭示了其与  $Pb^{2+}$  高亲和力的原因。X. L. Cui 等<sup>[71]</sup>通过分子动力学模拟揭示了茶碱适配体与茶碱结合过程中的动态构象变化,发现茶碱的存在导致适配体原始结构中 A10 与 U24 碱基配对打开,

使茶碱进入适配体内部;茶碱稳定嵌入适配体空腔后, $C_9$  与茶碱的  $C=O-2$  基团形成氢键,同时  $C_{21}$  与茶碱的 N-7、N-9 和  $C=O-6$  基团也分别形成氢键及  $\pi-\pi$  堆积相互作用,这些作用协同增强了复合物的稳定性。F. Morena 等<sup>[72]</sup>通过分子动力学模拟优化了针对 SARS-CoV-2 主要蛋白酶的 ssRNA 适配体,对筛选出的适配体与 Mpro 蛋白的复合物进行分子动力学模拟,评估其结构稳定性和结合自由能,并确定 MAptapro-IR1 为最佳适配体。分子动力学模拟为适配体研究提供了原子级动态视角,但不同力场各有优劣。例如,GROMACS 支持 AMBER、CHARMM 等多种力场,采用并行计算优化,计算速度快,适合大规模体系,但初始设置复杂,需手动调整参数;AMBER 基于经验力场,专为核酸优化,精度高,但大规模体系计算效率低;CHARMM 采用全原子力场,支持多尺度建模,但计算资源需求大。因此,在实际应用中需根据需求选择合适的力场,以提升适配体分子动力学模拟的效果。

### 3.3 深度学习技术

深度学习通过构建多层神经网络模拟人脑神经元活动,能够自动从复杂数据中学习规律并进行推理<sup>[73-75]</sup>。在适配体研究中,常用的深度学习架构包括递归神经网络(RNN)、卷积神经网络(CNN)、一般回归神经网络(GRNN)等。RNN 模型通常将适配体测序信息作为输入数据送入深度网络进行处理;GRNN 模型以每个样本的径向基神经元平均值进行计算;CNN 模型则根据结构信息预测适配体的结合能力<sup>[76]</sup>。

X. Yang 等<sup>[77]</sup>提出的 DeepAptamer 是一种结合 CNN 和双向长短期记忆网络(LSTM)的混合深度学习模型,其在预测准确性上优于现有模型,并能有效识别靶标结合的关键核苷酸。该研究进一步推动了适配体设计的自动化和高效化,为后续适配体开发提供了有力的技术支持。I. Shin 等<sup>[78]</sup>提出了基于 Transformer 神经网络架构的 AptaTrans 模型,在预测适配体与蛋白质相互作用方面表现出更高的准确性。AptaTrans 与 AptamCTS 结合后,能够生成与目标蛋白亲和力更高的候选适配体序列。该模型不仅提高了适配体的预测准确性、生成质量和亲

和力,还降低了筛选时间与成本,为药物发现领域带来了新的突破。N. Emami 等<sup>[79]</sup>提出了基于深度神经网络的 Aptanet 模型,利用适配体数据库中的训练数据,并采用多层感知器优化特征选择,有效提高了适配体的预测性能,并进一步验证了深度学习在适配体预测中的潜力,为未来适配体设计提供了新思路。X. Yu 等<sup>[80]</sup>基于 GRNN 开发了定量构效关系模型,通过整合适配体及其靶标蛋白的特征,实现了对适配体-蛋白质相互作用的预测,并有效改善了适配体亲和力。T. Asachi 等<sup>[81]</sup>利用深度学习平台 RaptGen 获得了 26 nt 超短序列,并在关键核苷酸位点引入硫代磷酸酯修饰,实现了裁剪及化学修饰的双重优化。以上研究表明,深度学习在适配体预测设计领域展现出巨大潜力,不仅推动了适配体设计的自动化和高效化,也为药物发现和生物医学研究提供了新工具和新方法。

然而,DeepAptamer、AptaTrans 等深度学习模型虽已用于适配体优化,但其成功率缺乏大规模实验数据支撑,仅在部分靶蛋白测试中体现优势,泛化性尚待验证。此外,这些模型存在潜在的假阳性问题:一方面,训练数据可能含有 SELEX 实验带来的 PCR 扩增偏倚,导致模型学习到虚假的结合特征;另一方面,模型在生成序列时对适配体与靶标非特异性结合的区分能力有限,可能推荐实际结合能力弱的候选序列。目前,这些模型的假阳性率尚无明确的量化数据。在计算资源需求方面,AptaTrans 处理百万级适配体文库时需训练 Transformer 编码器,大规模筛选依赖分布式计算框架,资源成本较高。但其在适配体优化与应用落地中仍展现出显著且不可替代的潜力,能够突破传统实验方法的瓶颈,为适配体在诊断、治疗、药物研发等领域的应用提供关键支撑。

在人工智能技术指导的适配体优化中,分子对接能快速预测关键作用位点,为理性设计提供结构基础,但其对柔性体系的预测存在偏差且精度有限;分子动力学模拟可精确解析动态结合过程与构象稳定性,提供接近真实的结合机制分析,然而计算资源消耗巨大且对力场选择高度敏感;深度学习通过从海量数据中学习规律,实现高通量序列生成

与性能预测,显著提升开发效率,但其性能严重依赖数据质量与数量。未来,三者组合有望突破单一方法的局限性。在实际应用中,需根据靶标特性、数据基础和计算资源进行合理配置,方能实现适配体开发效率与成功率的系统提升。

## 4 结语

适配体作为一类具有高亲和力、特异性和稳定性的分子识别元件,其性能优化是突破实际应用瓶颈的核心挑战。传统 SELEX 技术受限于筛选过程中的生物学偏差与实验条件限制,导致适配体存在结构冗余、亲和力不足、稳定性不强等问题。近年来,以裁剪技术、化学修饰和人工智能技术为核心的 post-SELEX 策略,通过多维度协同赋能,显著提升了适配体的综合性能。裁剪技术通过裁剪、劈裂等理性设计去除冗余序列,在提升综合性能的同时降低合成成本;碱基修饰、核糖修饰等化学修饰技术可从分子层面增强适配体的抗酶解能力、靶标结合强度和特异性;深度学习驱动的序列生成、亲和力预测、分子动力学模拟等人工智能技术则突破了传统试错法的低效性,实现了适配体设计与优化的智能化和高通量化。三类技术相辅相成,形成了“结构精简-功能强化-智能迭代”的全链条性能提升体系,为适配体在复杂环境中的应用奠定了基础。尽管 post-SELEX 技术已取得一定进展,但其未来发展仍面临多重挑战,例如技术协同性亟待加强、适配体构效关系深层机制仍需深入解析、人工智能技术需要依赖大量适配体专用数据库等。随着科技的发展、人工智能技术的深度融合和多学科交叉合作的推进,通过科研人员的持续努力,适配体技术有望突破当前瓶颈,实现“序列-结构-功能”的精准调控,进而在食品安全、生物医药等领域得到广泛应用。

## 参考文献:

- [1] TUERK C, GOLD L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase [J]. Science, 1990, 249(4968): 505-510.
- [2] ELLINGTON A D, SZOSTAK J W. *In vitro* selection of RNA molecules that bind specific ligands [J]. Nature,



- 1990,346(6287):818-822.
- [3] BAYAT P, NOSRATI R, ALIBOLANDI M, et al. SELEX methods on the road to protein targeting with nucleic acid aptamers[J]. *Biochimie*, 2018, 154:132-155.
- [4] ZHANG S K, ZHANG Y M, NING Z Y, et al. Design and application of microfluidics in aptamer SELEX and aptasensors[J]. *Biotechnology Advances*, 2024, 77:108461.
- [5] VU C Q, ROTKRUA P, TANTIRUNGROTECHAI Y, et al. Oligonucleotide hybridization combined with competitive antibody binding for the truncation of a high-affinity aptamer[J]. *ACS Combinatorial Science*, 2017, 19(10):609-617.
- [6] TIAN Y, WANG Y, SHENG Z, et al. A colorimetric detection method of pesticide acetamiprid by fine-tuning aptamer length[J]. *Analytical Biochemistry*, 2016, 513:87-92.
- [7] 陈瑞鹏, 孙云凤, 霍冰洋, 等. 真菌毒素多重检测技术研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(17):267-274.
- CHEN R P, SUN Y F, HUO B Y, et al. Progress in multiple detection technologies for mycotoxins[J]. *Food Science*, 2021, 42(17):267-274.
- [8] KWON Y S, AHMAD RASTON N H, GU M B. An ultra-sensitive colorimetric detection of tetracyclines using the shortest aptamer with highly enhanced affinity [J]. *Chemical Communications*, 2014, 50(1):40-42.
- [9] COWPERTHWAIT M C, ELLINGTON A D. Bioinformatic analysis of the contribution of primer sequences to aptamer structures[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2008, 67(1):95-102.
- [10] EATON B E, GOLD L, HICKE B J, et al. Post-SELEX combinatorial optimization of aptamers[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 1997, 5(6):1087-1096.
- [11] MUSAFIA B, OREN-BANAROYA R, NOIMAN S. Designing anti-influenza aptamers: novel quantitative structure activity relationship approach gives insights into aptamer-virus interaction [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e97696.
- [12] GU H J, DUAN N, WU S J, et al. Graphene oxide-assisted non-immobilized SELEX of okadaic acid aptamer and the analytical application of aptasensor[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6:21665.
- [13] YANG X J, BING T, MEI H C, et al. Characterization and application of a DNA aptamer binding to L-tryptophan [J]. *Analyst*, 2011, 136(3):577-585.
- [14] YU H, ZHU J X, SHEN G Q, et al. Improving aptamer performance: key factors and strategies[J]. *Microchimica Acta*, 2023, 190(7):255.
- [15] CHEN K R, ZHU L J, LI J, et al. High-content tailoring strategy to improve the multifunctionality of functional nucleic acids [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2024, 261:116494.
- [16] KILGOUR M, LIU T, WALKER B D, et al. E2EDNA: simulation protocol for DNA aptamers with ligands [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2021, 61(9):4139-4144.
- [17] CUI W, LI S P, ZENG J H, et al. A double-stranded aptamer for highly sensitive fluorescent detection of glutathione S-transferases [J]. *Biosensors*, 2024, 14(10):476.
- [18] CHEN Y Q, WANG Z M, LIU S Y, et al. A highly sensitive and group-targeting aptasensor for total phthalate determination in the environment [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 412:125174.
- [19] YE H, DUAN N, GU H J, et al. Fluorometric determination of lipopolysaccharides *via* changes of the graphene oxide-enhanced fluorescence polarization caused by truncated aptamers[J]. *Microchimica Acta*, 2019, 186(3):173.
- [20] LEE E H, LIM H J, LEE S D, et al. Highly sensitive detection of bisphenol A by nanoaptamer assay with truncated aptamer[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(17):14889-14898.
- [21] YANG C Y, DU C Y, SU R F, et al. A signal-on fluorescent aptasensor by sensitized Tb<sup>3+</sup> luminescence for detection of melamine in milk [J]. *Talanta*, 2022, 236:122842.
- [22] KIMOTO M, NAKAMURA M, HIRAO I. Post-ExSELEX stabilization of an unnatural-base DNA aptamer targeting VEGF165 toward pharmaceutical applications[J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44(15):7487-7494.
- [23] ZHAO L H, QI X Y, YAN X C, et al. Engineering aptamer with enhanced affinity by triple helix-based terminal fixation[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141(44):17493-17497.
- [24] BAI Y L, LI Y P, ZHANG D P, et al. Enhancing the affinity of anti-human  $\alpha$ -thrombin 15-mer DNA aptamer and anti-immunoglobulin E aptamer by PolyT extension [J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(17):9467-9473.
- [25] QIAO L, WANG H, HE J L, et al. Truncated affinity-improved aptamers for 17 $\beta$ -estradiol determination by AuNPs-based colorimetric aptasensor[J]. *Food Chemistry*, 2021, 340:128181.
- [26] GAO L, ZHANG Y, CHEN L, et al. Study of dual binding specificity of aptamer to ochratoxin A and norfloxacin and the development of fluorescent aptasensor in milk detection [J]. *Talanta*, 2024, 273:125935.
- [27] QIN Y D, QIN Y N, BUBIAJIAER H, et al. Engineering constructed of high selectivity dexamethasone aptamer based on truncation and mutation technology[J]. *Frontiers*

- in Bioengineering and Biotechnology, 2022, 10:994711.
- [28] CANOURA J, YU H X, ALKHAMIS O, et al. Accelerating post-SELEX aptamer engineering using exonuclease digestion[J]. Journal of the American Chemical Society, 2021, 143(2):805–816.
  - [29] LI Q, WANG Y D, SHEN G L, et al. Split aptamer mediated endonuclease amplification for small-molecule detection[J]. Chemical Communications, 2015, 51(20):4196–4199.
  - [30] SUN Y Q, YUAN B Y, DENG M T, et al. A light-up fluorescence assay for tumor cell detection based on bifunctional split aptamers[J]. Analyst, 2018, 143(15):3579–3585.
  - [31] SANTA C, PARK S, GEJT A, et al. Real-time monitoring of vancomycin using a split-aptamer surface plasmon resonance biosensor[J]. Analyst, 2025, 150(1):131–141.
  - [32] CHANG C C, YE H C Y. Using simple-structured split aptamer for gold nanoparticle-based colorimetric detection of estradiol [J]. Analytical Sciences, 2021, 37(3):479–483.
  - [33] WANG W J, ZHAI F, XU F P, et al. Enzyme-free amplified and one-step rapid detection of bisphenol A using dual-terminal labeled split aptamer probes [J]. Microchemical Journal, 2022, 183:107977.
  - [34] ZHU P, ASUMADU P, ZHOU S Y, et al. Recognition mechanism of split T-2 toxin aptamer coupled with reliable dual-mode detection in peanut and beer[J]. Food Bioscience, 2024, 60:104268.
  - [35] KENT A D, SPIROPULOS N G, HEEMSTRA J M. General approach for engineering small-molecule-binding DNA split aptamers [J]. Analytical Chemistry, 2013, 85(20):9916–9923.
  - [36] 郑业坤, 杜聪聪, 李泓霖, 等. AFM1 劈裂适配体的识别能力研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(19):296–306.  
ZHEN Y K, DU C C, LI H L, et al. Investigation on the recognition of split aflatoxin M1 aptamer[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(19):296–306.
  - [37] CHEN A L, YAN M M, YANG S M. Split aptamers and their applications in sandwich aptasensors [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2016, 80:581–593.
  - [38] BRISTOW P, SCHANTZ K, MOOSBRUGGER Z, et al. Aptamer-targeted dendrimersomes assembled from azido-modified Janus dendrimers "clicked" to DNA [J]. Biomacromolecules, 2024, 25(3):1541–1549.
  - [39] ZIPERMAN E D, FITZPATRICK K B, NAIR M A, et al. A system for *in vitro* selection of fully 2'-modified RNA aptamers[J]. Organic & Biomolecular Chemistry, 2025, 23(10):2375–2379.
  - [40] VARIZHUK I V, TSVETKOV V B, TOROPYGIN I Y, et al. The regioselective conjugation of the 15-nt thrombin aptamer with an optimized tripeptide sequence greatly increases the anticoagulant activity of the aptamer [J]. Pharmaceutics, 2023, 15(2):604.
  - [41] CAI T J, CHEN M L, YANG J, et al. An AuNPs-based electrochemical aptasensor for the detection of 25-hydroxy vitamin D3 [J]. Analytical Sciences, 2024, 40(4):599–607.
  - [42] GE G, WANG T L, LIU Z H, et al. A self-assembled DNA double-crossover-based fluorescent aptasensor for highly sensitivity and selectivity in the simultaneous detection of aflatoxin M1 and aflatoxin B1 [J]. Talanta, 2023, 265:124908.
  - [43] DA PIEVE C, BLACKSHAW E, MISSAILIDIS S, et al. PEGylation and biodistribution of an anti-MUC1 aptamer in MCF-7 tumor-bearing mice[J]. Bioconjugate Chemistry, 2012, 23(7):1377–1381.
  - [44] DOLOT R, LAM C H, SIERANT M, et al. Crystal structures of thrombin in complex with chemically modified thrombin DNA aptamers reveal the origins of enhanced affinity [J]. Nucleic Acids Research, 2018, 46(9):4819–4830.
  - [45] SMIRNOV I, KOLGANOVA N, TROISI R, et al. Expanding the recognition interface of the thrombin-binding aptamer HD1 through modification of residues T3 and T12[J]. Molecular Therapy Nucleic Acids, 2021, 23:863–871.
  - [46] QI S, DUAN N, KHAN I M, et al. Strategies to manipulate the performance of aptamers in SELEX, post-SELEX and microenvironment [J]. Biotechnology Advances, 2022, 55:107902.
  - [47] ZHOU Y J, KAJINO R, ISHII S, et al. Synthesis and evaluation of (S)-5'-C-aminopropyl and (S)-5'-C-aminopropyl-2'-arabino fluoro modified DNA oligomers for novel RNase H-dependent antisense oligonucleotides[J]. RSC Advances, 2020, 10(68):41901–41914.
  - [48] NICOLAI M, STEINBERG J, OBERMANN H L, et al. Identification of an optimal TLR8 ligand by alternating the position of 2'-O-ribose methylation [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(19):11139.
  - [49] DAI L J, ZHANG J N, WANG X N, et al. Protein DEK and DTA aptamers; insight into the interaction mechanisms and the computational aptamer design [J]. Frontiers in Molecular Biosciences, 2022, 9:946480.
  - [50] MAIO G E, ENWERONYE O, ZUMRUT H E, et al. Systematic optimization and modification of a DNA aptamer with 2'-O-methyl RNA analogues [J]. ChemistrySelect, 2017, 2(7):2335–2340.
  - [51] YING G Q, LU X R, MEI J F, et al. A structure-activity

- relationship of a thrombin-binding aptamer containing LNA in novel sites[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2019, 27(14):3201–3207.
- [52] FÖRSTER C, ZYDEK M, ROTHKEGEL M, et al. Properties of an 'LNA'-modified ricin RNA aptamer[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, 419(1):60–65.
- [53] 李亚洲. 基于固相合成的化学修饰核酸适体的构建及其应用研究[D]. 长沙:湖南大学, 2022.
- LI Y Z. Construction and application research of chemically modified nucleic acid aptamers based on solid-phase synthesis[D]. Changsha: Hunan University, 2022.
- [54] WATANABE D, TERAUCHI H, OSAWA H, et al. Phosphorothioate-modified DNA aptamer-based PROTACs for targeted degradation of estrogen receptor  $\alpha$  [J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2025, 36(10):2172–2180.
- [55] CAI R F, CHEN X, ZHANG Y T, et al. Systematic bio-fabrication of aptamers and their applications in engineering biology[J]. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 2023, 3(2):223–245.
- [56] WU J, WANG S H, LI X, et al. Selective anti-melanoma effect of phosphothioated aptamer encapsulated by neutral cytidinyl/cationic lipids [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9:660233.
- [57] FLIERL U, NERO T L, LIM B, et al. Phosphorothioate backbone modifications of nucleotide-based drugs are potent platelet activators[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2015, 212(2):129–137.
- [58] ZHOU J H, ROSSI J. Aptamers as targeted therapeutics: current potential and challenges[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2017, 16(3):181–202.
- [59] KAKIUCHI-KIYOTA S, WHITELEY L O, RYAN A M, et al. Development of a method for profiling protein interactions with LNA-modified antisense oligonucleotides using protein microarrays[J]. *Nucleic Acid Therapeutics*, 2016, 26(2):93–101.
- [60] STANZIONE F, GIANGRECO I, COLE J C. Chapter four-use of molecular docking computational tools in drug discovery[M]//WITTY D R, COX B. *Progress in Medicinal Chemistry*. Amsterdam: Elsevier, 2021:273–343.
- [61] 刘佳, 杨志芳, 王闯, 等. 基于分子对接和步进序列群的蓖麻毒素核酸适配体序列优化[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2023, 50(9):2243–2254.
- LIU J, YANG Z F, WANG C, et al. Molecular docking and stepping sequence cluster design prompted sequence optimization of ricin nucleic acid aptamers[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2023, 50(9):2243–2254.
- [62] LUO Y, JIN Z Y, WANG J E, et al. The isolation of a DNA aptamer to develop a fluorescent aptasensor for the thiamethoxam pesticide [J]. *Analyst*, 2021, 146(6):1986–1995.
- [63] WEI H, CAI R F, YUE H, et al. Screening and application of a truncated aptamer for high-sensitive fluorescent detection of metronidazole [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1128:203–210.
- [64] YU Y X, CHEN K R, DU Z H, et al. Magnetic aptamer copper nanoclusters fluorescent biosensor for the visual detection of Zearalenone based on docking-aided rational tailoring[J]. *Food Chemistry*, 2024, 448:139127.
- [65] NIE J J, YUAN L Y, JIN K, et al. Electrochemical detection of tobramycin based on enzymes-assisted dual signal amplification by using a novel truncated aptamer with high affinity[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2018, 122:254–262.
- [66] SALO-AHEN O M H, ALANKO I, BHADANE R, et al. Molecular dynamics simulations in drug discovery and pharmaceutical development[J]. *Processes*, 2021, 9(1):71.
- [67] FILIPE H A L, LOURA L M S. Molecular dynamics simulations: advances and applications [J]. *Molecules*, 2022, 27(7):2105.
- [68] MUKUT K M, ROY S, GOUDELI E. Molecular arrangement and fringe identification and analysis from molecular dynamics (MAFIA-MD): a tool for analyzing the molecular structures formed during reactive molecular dynamics simulation of hydrocarbons [J]. *Computer Physics Communications*, 2022, 276:108325.
- [69] XIE Y C, ERIKSSON L A, ZHANG R B. Molecular dynamics study of the recognition of ATP by nucleic acid aptamers[J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(12):6471–6480.
- [70] PENG K M, LIU X N, YUAN H E, et al. A novel fluorescent biosensor based on affinity-enhanced aptamer-peptide conjugate for sensitive detection of lead (II) in aquatic products [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2023, 415(17):3463–3474.
- [71] CUI X L, SONG M H, LIU Y, et al. Identifying conformational changes of aptamer binding to theophylline: a combined biolayer interferometry, surface-enhanced Raman spectroscopy, and molecular dynamics study[J]. *Talanta*, 2020, 217:121073.
- [72] MORENA F, ARGENTATI C, TORTORELLA I, et al. *De novo* ssRNA aptamers against the SARS-CoV-2 main protease: in silico design and molecular dynamics simulation [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(13):6874.
- [73] BASHIR A, YANG Q, WANG J P, et al. Machine learning guided aptamer refinement and discovery [J]. *Nature Communications*, 2021, 12:2366.



- [74] 郭兴,孙莹,刘树萍,等.深度学习在食品质量与安全检测中的应用进展[J].食品工业科技,2025,46(6):20–29.  
GUO X,SUN Y,LIU S P,et al. Advance in application of deep learning in food quality and safety detection [J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(6): 20–29.
- [75] 丁浩晗,王龙,侯浩珂,等.深度学习在食品安全检测与风险预警中的应用[J].食品科学,2025,46(6):295–308.  
DING H H,WANG L,HOU H K,et al. Application of deep learning in food safety detection and risk early warning[J]. Food Science,2025,46(6):295–308.
- [76] CHEN Z H, HU L, ZHANG B T, et al. Artificial intelligence in aptamer-target binding prediction [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(7): 3605.
- [77] YANG X, CHAN C H, YAO S S, et al. DeepAptamer: advancing high-affinity aptamer discovery with a hybrid deep learning model [J]. Molecular Therapy Nucleic Acids, 2025, 36(1): 102436.
- [78] SHIN I, KANG K, KIM J, et al. AptaTrans: A deep neural network for predicting aptamer-protein interaction using pretrained encoders [J]. BMC Bioinformatics, 2023, 24(1): 447.
- [79] EMAMI N, FERDOUSI R. AptaNet as a deep learning approach for aptamer-protein interaction prediction [J]. Scientific Reports, 2021, 11: 6074.
- [80] YU X, WANG Y, YANG H, et al. Prediction of the binding affinity of aptamers against the influenza virus [J]. SAR and QSAR in Environmental Research, 2019, 30(1): 51–62.
- [81] ADACHI T, NAKAMURA S, MICHISHITA A, et al. RaptGen-assisted generation of an RNA/DNA hybrid aptamer against SARS-CoV-2 spike protein [J]. Biochemistry, 2024, 63(7): 906–912.

## Research progress on aptamer post-SELEX technology

YE Hua, YAN Ziyi, WANG Mengyuan, LI Shijie, KONG Dezhao

*School of Grain Science and Technology, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212003, China*

**Abstract:** Aptamers are single-stranded DNA (ssDNA) or RNA molecules selected through Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment (SELEX). They are widely employed as molecular probes in areas such as food safety and biomedicine. However, aptamers derived from conventional SELEX often show limitations in affinity, specificity, and stability. To overcome these shortcomings, post-SELEX optimization technology developed in recent years enable multidimensional synergistic improvements, thereby enhancing aptamer performance in practical applications. This review classifies and summarizes post-SELEX technology into three main strategies: truncation, chemical modification, and artificial intelligence (AI)-assisted optimization. Studies indicate that truncation can markedly enhance binding affinity, chemical modification effectively improves stability, and AI-assisted approaches substantially increase the success rate of targeted aptamer engineering. However, each technology has inherent limitations. Truncation risks disrupting key binding domains, chemical modification may compromise affinity, and AI-assisted approaches are often challenged by data scarcity. Nevertheless, the application of these technologies has significantly improved the overall performance of aptamers, providing crucial technical support for broadening their industrial applications. Future research will focus on developing integrated strategies that combine truncation, chemical modification, and AI; elucidating the mechanisms underlying aptamer structure-activity relationships; and constructing dedicated aptamer databases, so as to promote the industrial translation of aptamers.

**Key words:** aptamer; post-SELEX technology; truncation technology; chemical modification technology; artificial intelligence technology

[责任编辑:王晓波 李波]