

Клик-химия как инструмент модуляции свойств аптамеров

Научный руководитель – Головин Андрей Викторович

Смородина Ева Геннадьевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: forevatag@gmail.com

Аптамеры — короткие синтетические молекулы (олигонуклеотиды или пептиды), обладающие сложной пространственной структурой, определяющей их способность избирательно связываться практически с любой мишенью [1]. Аптамеры из нуклеиновых кислот являются функциональными аналогами моноклональных антител, но обладают рядом преимуществ: относительно небольшими размерами, быстрым синтезом, высокой стабильностью и множественными циклами ренатурации [2].

Тем не менее, применение аптамеров в клинической практике сдерживается рядом факторов, наиболее важным из которых является низкое разнообразие алфавита нуклеиновых кислот по сравнению с аминокислотным. Этот недостаток может влиять на аффинности аптамеров к мишеням.

Низкое разнообразие нуклеиновых кислот можно исправить внесением модификаций в нуклеотиды, но, к сожалению, эта стратегия редко ассоциируется с успехом, поскольку подобные модификации могут мешать взаимодействию между аптамером и его мишенью. Однако успешные примеры известны, и они часто связаны с аптамером, связывающим тромбин (15ТВА). Модификации 15ТВА улучшали аффинность аптамеров, участвовали в молекулярном узнавании, повышали нуклеазную устойчивость и стабильность аптамеров или же способствовали образованию их пространственной структуры [3].

Данная работа посвящена разработке на основе тромбин-связывающего аптамера *in silico* способа отбора модификаций нуклеиновых кислот, способных улучшить физико-химические свойства аптамеров.

Основным способом увеличения структурного и химического разнообразия нуклеиновых кислот является модификация гетероциклических оснований (введение заместителей на место С5-атома пиримидинового азотистого основания). В нашем случае тимины исходного ДНК аптамера, участвующие в связывании с мишенью, были заменены на С5-этинил-2'-дезоксирибоурацильными остатками (EdU). Для присоединения модификаций был использован подход «клик-SELEX» [4], который позволяет получать аптамеры или «кликмеры» с модифицированными гетероциклическими основаниями, используя реакцию циклоприсоединения производных азидов к алкину. Она является одной из основных в клик-химии группе химических реакций, приспособленных для быстрого и надёжного получения химических веществ посредством соединения между собой отдельных составляющих.

Библиотека азидов для проведения *in silico* реакция азид-алкинового циклоприсоединения была собрана из веществ, представленных в базе данных «PubChem». Для проверки аффинности полученных модификаций был проведен гибкий докинг в программе «AutoDock Vina» [5], учитывающий конформационную подвижность только в модифицированной части заданного нуклеотида. Полученные после докинга результаты были использованы для выявления посредством методов машинного обучения структурных фрагментов, вносящих наибольший вклад в силу связывания.

Были предсказаны заместители, улучшающие аффинность аптамера к мишени. Наилучшей модификацией по результатам экспериментальной проверки стал кумарин, увеличивший аффинность аптамера к тромбину в 2,5 раза.

Источники и литература

- 1) Ellington, A. D., & Szostak, J. W. (1990). In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*, 346(6287), 818–822.
- 2) Chen, C., Zhou, S., Cai, Y., & Tang, F. (2017). Nucleic acid aptamer application in diagnosis and therapy of colorectal cancer based on cell-SELEX technology. *Npj Precision Oncology*, 1(1).
- 3) Latham, J. A., Johnson, R., & Toole, J. J. (1994). The application of a modified nucleotide in aptamer selection: novel thrombin aptamers containing -(1 -pentynyl)-2'-deoxyuridine. *Nucleic Acids Research*, 22(14), 2817–2822.
- 4) Tolle, F., Brändle, G. M., Matzner, D., & Mayer, G. (2015). A Versatile Approach Towards Nucleobase-Modified Aptamers. *Angewandte Chemie International Edition*, 54(37), 10971–10974.
- 5) Trott, O.; Olson, A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* (2010) 31, 455–461

Иллюстрации

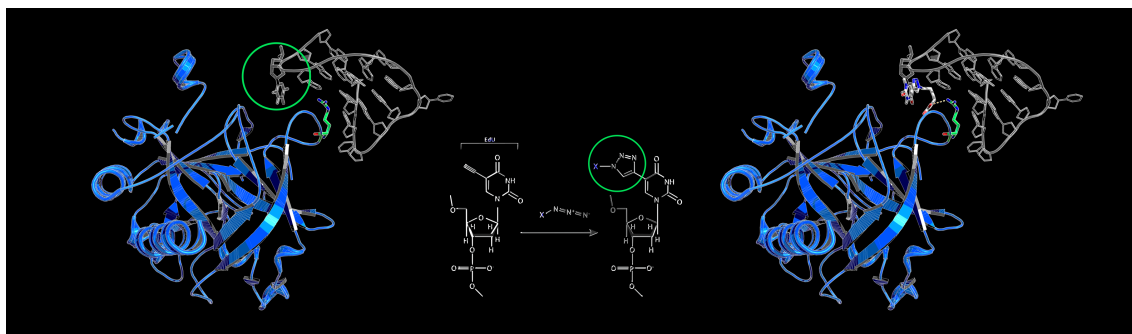


Рис. 1. In silico реакция азид-алкинового циклоприсоединения