

УДК 000.00

**ИССЛЕДОВАНИЕ БИНАРНЫХ АНТИСМЫСЛОВЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, СПЕЦИФИЧНЫХ К
ОДНОНУКЛЕОТИДНОМУ ПОЛИМОРФИЗМУ МАРКЕРНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ**

Дрозд В.С., Недорезова Д.Д. (Институт SCAMT, НИУ ИТМО),

Научный руководитель – к.х.н., профессор Колпашиков Д.М.

(1-Институт SCAMT, НИУ ИТМО; 2- Chemistry Department, University of Central Florida;
3-Burnett School of Biomedical Sciences, University of Central Florida)

В работе обсуждается возможность технологии БиАСО активировать терапевтическое действие (расщепление РНК целевого гена) в ответ на распознавание последовательности маркера с однонуклеотидным полиморфизмом.

Введение. Опухолевые клетки отличаются от нормальных клеток продукцией специфических молекул, сигнализирующих о процессе канцерогенеза - маркеров рака. Маркерами нуклеотидной природы могут выступать микроРНК, длинные некодирующие РНК, мРНК генов с мутациями. Бинарные антисмысловые олигонуклеотиды (БиАСО) объединили в себе сенсорный модуль бинарных зондов и терапевтический модуль антисмысловых олигонуклеотидов. Таким образом, БиАСО способны активировать терапевтическое действие - расщепление РНК целевого гена, только после распознавания маркера нуклеотидной природы. Ранее, экспериментальная модель БиАСО8-10 показала свою эффективность *in vitro* в отношении селективной активации расщепления синтетического фрагмента РНК гена GFP в присутствии маркера фрагмента РНК гена KRAS. В данной работе была продемонстрирована возможность БиАСО распознавать однонуклеотидный полиморфизм (SNP) в последовательности маркера для увеличения специфичности технологии.

Основная часть.

БиАСО представляют собой две олигонуклеотидные цепи АСОа и АСОб. Каждая цепь имеет участок, связывающий РНК целевого гена, и дополнительный участок, связывающий маркер. Оба участка каждой цепи объединены гибким химическим линкером - гексаэтиленгликолем. Для тестирования специфичности БиАСО к SNP маркерной последовательности в качестве маркера использовался фрагмент РНК гена KRAS (29 нуклеотидов) в двух вариантах. В диком типе вариант гена KRAS содержит гуанин в положении 58 (KRAS-G), в мутантном варианте гуанин заменен на аденин (KRAS-A).

Было выявлено, что исходная модель БиАСО8-10 не обладает специфичностью в отношении SNP маркерной последовательности. В отсутствие маркера процент расщепления фрагмента РНК гена GFP было на уровне естественной деградации РНК (~16%), в присутствии мутантного фрагмента маркера KRAS-A процент расщепления составил 52%, в присутствии фрагмента маркера дикого типа KRAS-G - 54%.

Далее участок цепи АСОб, комплементарно связывающий участок маркера с SNP, был укорочен до 10 нуклеотидов для увеличения специфичности БиАСО к фрагменту маркера дикого типа KRAS-G. Использование БиАСО8-10-10 с укороченной цепью АСОб показало высокое расщепление в присутствии маркера KRAS-G (46 %) и значительное снижение активации в присутствии маркера KRAS-A (21%). Этот результат иллюстрирует, что БиАСО технология может обеспечить высокую специфичность распознавания SNP маркера в условиях близких к физиологическим (2 mM Mg²⁺, 37o C) с последующей активацией терапевтического действия.

Выводы. Была продемонстрирована возможность БиАСО активировать расщепление целевой РНК в ответ на распознавание маркерной последовательности с заданной SNP, что может иметь большой потенциал в прикладной онкотерапии.

Дрозд В.С. (автор)

Подпись

Колпашиков Д.М. (научный руководитель)

Подпись