

АПТОМЕРЛАРНИНГ ТИББИЁТ ВА ФАРМАЦЕВТИКАДАГИ ЎРНИ

М. А. Мустафакулов

ЎзР ФА Вакцина ва қон зардоблари институти
mmustafakulov@bk.ru

А. А. Ибрагимов

ЎзР ФА Вакцина ва қон зардоблари институти

А. А. Ашуров

ЎзР ФА Вакцина ва қон зардоблари институти

А. И. Ўралов

Ўзбекистон Миллий университети Жиззах филиали

Ш. Қўзиёв

Ўзбекистон Миллий университети

АННОТАЦИЯ

Аптомерлар асосида янги диагностик ва терапевтик усулларни ишлаб чиқиш, биология ва тиббиётнинг энг долзарб муаммоларидан бири шахсийлаштирилган тиббиётни ривожлантириш, унинг асосий мақсади ўзига хос молекуляр маркерларни аниқлаш ва йўналтириш уларга керакли терапевтик таъсирини аниқлашдан иборат

Калит сўзлар: ДНК, РНК, аптомерлар, маркер, нуклеотид, рекомбинант, мутация.

КИРИШ

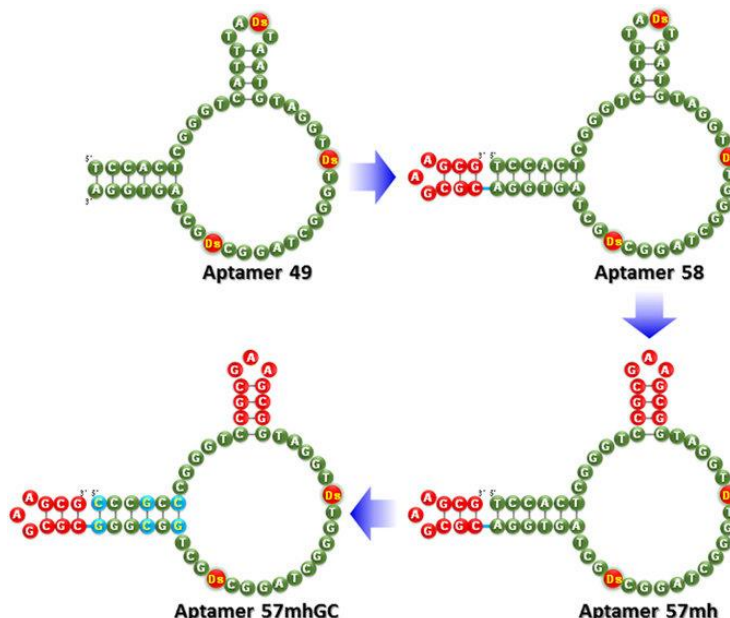
Замонавий технологиялар, молекуляр маркерларни идентификациялаш амалга оширилмоқда қатор чет эл олимлари томонидан: [1] нормал ва патологик ҳолатларни аниқлаш ва таққослаш; [2] статистик аҳамиятни аниқлаш, оқсиллар таркибидаги сифат ва миқдорий фарқларни аниқлаш; [3] аниқланган биомаркерларни текширишга қаратилган қатор тадқиқотлар олиб борилмоқда. Шундай қилиб, молекуляр маркерларни излаш ва аниқлаш - мураккаб кўп босқичли жараён бўлиб, аммо бу ҳар доим ҳам ижобий натижалар

беравермайди, чунки маркерларни қидиришда минглаб оқсиллар таркибни сифатий ва миқдорий жиҳатдан таққослаш, оқсилларни ўрганиш талаб қиланади. Катта миқдордаги оқсилларнинг оз миқдори мавжуд, ва ўзига хос оқсиллар ҳужайраларда, одатда кам миқдорда бўлади ва аниқланганда йўқолиши мумкин. Шу сабабдан тиббиётда муваффақиятли ишлатиладиган молекуляр маркерлар сони турли хил патологияларни аниқлаш бўйича тадқиқотлар жуда кам. Молекуляр маркерларни излашга яна бир ёндашув куйидагилардан иборат: касалликларни аниқлаш учун аптамерлардан фойдаланишга имкон берувчи технология билан касалликларга хос оқсилларни бойитиш уларнинг кейинги идентификацияси учун хизмат қилади.

АДАБИЁТЛАР ТАҲЛИЛИ ВА МЕТОДОЛОГИЯ

Нуклеин кислоталар сақланишида муҳим рол ўйнайди ва генетик маълумотни сақлайди. Бироқ, сўнгги ўн йилликларда функционал нуклеин кислотасини ўрганишга алоҳида эътибор берилди бошланди. Ўзига хос хусусиятга эга ДНК ёки РНКни ўз ичига олган нуклеин кислоталар уч ўлчовли тузилмаларни ҳосил қилувчи биологик функциялар ва турли мақсадларга боғланиш қобилиятига эга. Функционал нуклеин кислоталар, энг муҳим иккита гуруҳ ажратилади - рибосомалар ва аптомерлар. Рибосомалар ва дезоксирибосомалар катализловчи ферментлардир ўзига хос кимёвий реакцияларни катализлайди яъни тезлаштиради [4]. Аптомерлар - оқсил антикорларининг аналоглари, улар билан боғланган олигонуклеотидлар ўзига хос лигандлар вазифасини бажаради. Бунинг асосий сабабларидан бири нуклеин кислоталардан илмий жиҳатдан кенг фойдаланила бошланди, турли тадқиқотлар олиб борилмоқда, уларни осонликча синтез қилиш, кучайтириш ва ўзгартириш мумкин. Аптомерлар - бу синтетик янги кўринишдаги препаратлар ҳосил қилувчи ёрдамчи ишланмалар янги синфи ёрдамида олинадиган олигонуклеотидларга асосланган *in vitro* ёки *in vivo* шароитларда олиб борилади. [5,6,7,]. Ноёб бўлган аптомерлар иккиламчи ва учинчи тузилмалар, аптамерлар юқори даражага эга уларнинг мақсадларига нисбатан селективлик ва яқинлик каби гуруҳларга ажратилади [8]. Аптомерлар кимёвий табиатига кўра, қисқа 30 дан 80 гача олигонуклеотид бўлган битта ипли ДНК ёки РНК фрагментлари 3D ўлчовли тузилмаларни ҳосил қиладиган ва улар билан боғланадиган нуклеотидлар бир-бирини тўлдирувчи ўзаро таъсир қилиши туфайли ҳосил қилинган лигандлардир. Олигонуклеотидлар йиғилиши учун

зарур бўлган доимий 20 та нуклеотиддан иборат амплификация учун примерлар ва нуклеотидлар кетма-кетлигидан ташкил топган лигандлар [9].



1-расм. Аптамерлар кимёвий табиатига кўра фрагментлари

Функционал жиҳатдан аптамерлар оқсил антикорларининг аналоглари, физик-кимёвий хоссалари ва олиш усули билан эгалик қилиш билан бир қаторда қуйидаги афзалликларга эга: юқори ўзига хос сезувчанлик, барқарорлик, иммуногенлик [9,11].

1-жадвал.

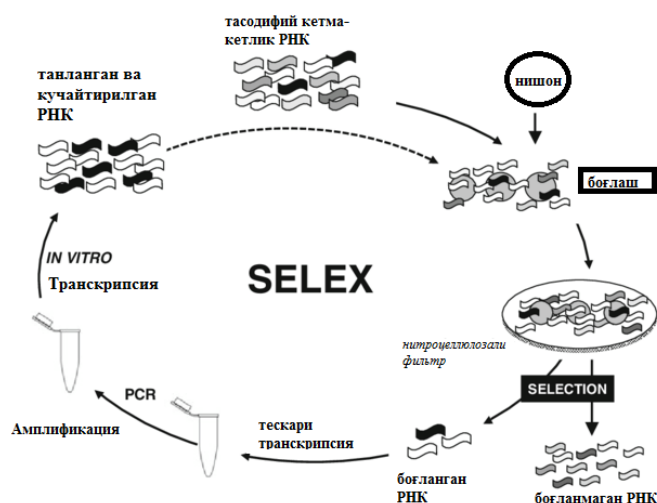
Аптамерлар ва антителанинг фарқлари

Аптамерлар	Антитела
ДНК / РНК олигонуклеотидлари	Оқсил
Узунлик (15-80 нуклеотид, 5-25 кДа)	Молекуляр оғирлик (150 кДа)
Барқарор	Барқарор эмас
Кимёвий усулда синтез қилинган	Синтез қилиш бироз қийин, қабул қилувчи ҳайвонлар керак.
Осон ўзгарувчан	Ўзгармас
Заиф иммунаген	Иммунагенлар
Жудаям сезгир	Жудаям сезгир

Аптомерларнинг мақсадлари

In vitro шароитида танлов орқали аптамерларни танлашда мақсадли рекомбинант ҳужайранинг сирт оқсилларидан ёки бутунлигидан фойдаланинг ҳужайралар. Аптамерларни танлаш бўйича биринчи тажрибалар кичик органик молекулалар орқали амалга оширилган [10].

Кейин аптамерларни оқсилларга ва бутун ҳужайраларга мослаштириш мумкинлиги аниқланди, тадқиқот катта объектларга нисбатан ноаниқ бўлиб қолди.



2-расм. Selex усули асосида аптамерлар ишлаб чиқиш.

Аптамерлар бўйича мақсад қанчалик катта бўлса, у шунчалик функционал гуруҳларга эга ва структуравий шакллар ва водород аптамерлари билан қанчалик кўп ҳосил бўлса, шунчалик барқарор электростатик ҳамда гидрофобик ўзаро таъсирларга эгаллиги билан фарқ қилади [7, 12, 13].

Аптамерларнинг ўзига хослиги

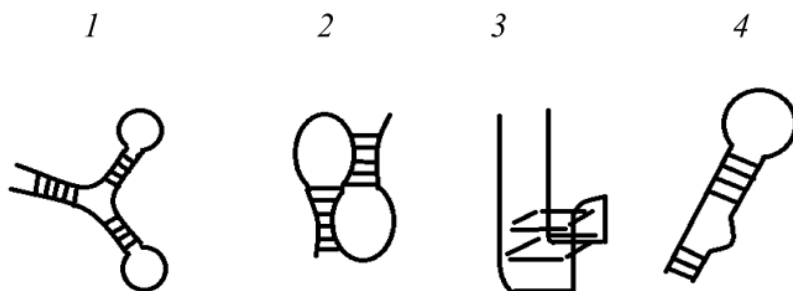
Аптамерларнинг организмга тезда мошлашади ҳамда айрим касалликларни даволашда кенг қўлланилиши билан ажралиб туради. Аптамерларни танлаш учун энг яхши мақсад бу диссоциланиш константалари (Кд) катта бўлган аптамерлар комплексларининг оқсиллари наномоляр ва пикомоляр диапазондаги оқсил нишонлари организм учун муқобил вариант ҳисобланади. Турли хил паст молекуляр оғирликдаги Кд одатда 10^{-6} дан 10^{-7} гача бўлган аптамерларнинг оқсил нишонларига юқори сезгирлиги қуйидагича изоҳланади бундай комплексларда аптамернинг таъсир қилиш майдони билан мақсадли молекула ишлаб чиқади. [3,5].

Аптамерларнинг ўхшаш оқсилларни ажратиш қобилияти қуйидагича аниқланади. Агар аптамер оқсил билан боғланган бўлса оқсил молекуласининг

ўзгарувчан шаклга келади, кейин ўзаро таъсири кўпроқ бўлади. Масалан ОИВ-1 вирусининг оксиллини ОИВ-2 вирусининг оксилли танлаб олади, бу оксиллар фақат 65% гача ўзгарувчан бўлади [7]. Протеинкиназа С аптамерлари ферментнинг чамбарчас боғлиқ изоформаси билан таъсир ўтказади, атиги 4% га фарқ қилади [10]. Айрим аптамерлар мутацияга учраган тромбинга таъсири натижасида уларнинг нуклетидларини ўзгартириш киритади [5], гепатит С вирусининг репликациясида [12] ва ОИВ-1 вирусининг тескари транскриптазасида иштирок этади.

Аптамер конформациялари

Аптамерларнинг характерли хусусияти – уларнинг иккинчи даражали структуранинг шаклланиши консерватив мотивларни таҳлил қилиш ёрдамида, компьютер моделлаштириш ва ферментатив текшириш асосида ўрганилади. Аптамерларнинг липосомалар билан ўзаро алоқаси - бу жуфтлаштирилмаган сайтлар олигонуклеотидлар. Барқарор иккиламчи тузилишга эга бўлган жойларда аптамерларнинг элементар бирлиги ўзаро таъсирини таъминлаш учун зарур бўлган қисмлари (олигонуклеотид) асосида шаклланади. [4, 7, 15]. Бунда аптамерларнинг кўплаб сайтлари маълумот ташиш эканлигини тасдиқлайди, бу билан боғлангандан кейингина барқарор конформацияга эга бўлган нишон тўқимага юборилади [8, 11]. Аптамер одатда битта ёки иккита структуравий шаклларда намоён бўлади. Аптамерларнинг ўзига хос хусусияти жуда хилма-хиллиги билан боғлиқ бўлган конформациялар (соч турмалари, псевдо-тугунлар ва Г-квартетлар) (3-расм), олигонуклеотидларни, функционал гуруҳларни ўзгартириш ҳисобига водород ионларини кўчириш орқали конформациялар ҳосил қилишда иштирок этади ҳамда электростатик ва Ван дер Ваалс кучлари асосида функционал гуруҳлар билан ўзаро таъсири молекуляр даражада содир бўлиши билан яқунланади. [11, 16].



3-расм. Аптамерлар томонидан ҳосил қилинган иккиламчи тузилмалар:
1,4 - соч турмаклар, 2 - сохта тугун, 3 - G-квартет.

ХУЛОСА

Протеинли аптамерлар маълум ташқи майдонларини танийдилар бундай аптомерлар – эпитоплар дейилади [12]. Оксилларнинг жойлашувига кўра аптамерлар, таркибида мавжуд бўлган оксиллар ҳолати ва оксилларнинг аптамерлар томонидан тан олинган эпитопни ўз ичига олиши мумкин бўлган уч ўлчовли моделлари ишлаб чиқилган [14] ва денантурацияга тез кирушувчан оксиллар ҳам аптомер ҳосил қилади [15]. Танланган кетма-кетликларнинг аксарияти битта ва бир хил бўлади ёлғон тугунли тузилишга эга ва ўзаро таъсир қилувчи аптамерларнинг бир хил синфи ферментнинг табиий РНК-боғловчи маркази мавжуддир. Тадқиқотлар шуни кўрсатдики, аптомерлардан янги препаратлар ишлаб чиқишда вектор сифатида фойдаланилади.

REFERENCES

1. Ashour, M.L. Genus Bupleurum: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action / M.L. Ashour, M.Wink. // J. Pharm. Pharmacol. -2011. -V. 63. - P. 305-321.
2. Barbas, A. S. Aptamer applications for targeted cancer therapy / A. S. Barbas, J. Mi, B. M. Clary, R. R White // Future Oncology. – 2010. – V. 6. – № 7. – P. 1117-1126.
3. Mustafakulov M. A., Ibragimov A. A., Ashurov A. A., Rustamova S.M., Qoziyev Sh.N., Uralov A.I. New RNA aptamers to photoproteinobelin as a universal platform for creation of aptasensors. Farmatsiya, immunitet va vaksina (материалы международной научно практической конференции) «ТАШНИИВС: вчера, сегодня и завтра» № 2. 2021 62-63 б
4. Мустафакулов Муҳаммад Абдувалиевич, Ибрагимов Адил Ахмедович, Ашуров Абдурахмон Акбаралиевич. Аптамеры к фотопротеинуобелину как универсальная платформа для создания аптасенсоров. Farmatsiya, immunitet va vaksina (материалы международной научно практической конференции) «ТАШНИИВС: вчера, сегодня и завтра» № 2. 2021. 64-65 б.
5. Мустафакулов Муҳаммад Абдувалиевич., Ибрагимов Адил Ахмедович., Ашуров Абдурахмон Акбаралиевич. Цифровизация геном-центрированных метаболических процессов живых организмов. Farmatsiya, immunitet va vaksina (материалы международной научно практической конференции) «ТАШНИИВС: вчера, сегодня и завтра» № 2. 2021. 65-66 б.

6. Mustafakulov M, Ibragimov A.A, Ashurov A.A, Rustamova S.M., Kuziyev Sh.N., Uralov A.I. New RNA aptamers to photoproteinobelin as a universal platform for creation of aptasensors. Proceedings of II International Scientific and Practical Conference Vancouver, Canada 6-8 October 2021 (42-44 70%)
7. Mustafakulov M., Tuxtayeva S, Seit-Asan L, Murodova M, Mustafakulova N. The effect of NGF on indicators of the antioxidant system in rat brain tissue. *Universum: Химия и биология* 9 (87). 81-86 80%.
8. Berezovksi, M. Aptamer-facilitated biomarker discovery / M. Berezovksi, M. Lechmann, M.U. Musheev, T.W. Mak, S. N. Krylov // *J. Am. Chem. Soc.* -2008. -V.130. -P.9137-9143.
9. Berezovski, M. Non-SELEX Selection of Aptamers / M. Berezovski, M. Musheev, A. Drabovich, S.N. Krylov // *J. Am. Chem. Soc.*-2006. -V.128. P.1410-1411.
10. Chen, F. Aptamer from whole-bacterium SELEX as new therapeutic reagent against virulent *Mycobacterium tuberculosis* / F. Chen, J. Zhou, F. Luo, A.B. Mohammed, X.L. Zhang // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* -2007. -V. 357. -P. 743-748.
11. Cho, E.J. Applications of aptamers as sensors / E.J. Cho, J-W. Lee, A.D. Ellington // *Annu. Rev. Anal. Chem.* -2009. -V.2. -P.241-264.
12. Codrea, V. In Vitro Selection of RNA Aptamers to a Small Molecule Target / V. Codrea, M. Hayner, B. Hall, S. Jhaveri, A. Ellington // *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry.* -2010.
13. Cruz-Aguado J.A. Determination of ochratoxin a with a DNA aptamer / J.A. Cruz-Aguado, G. Penner // *J. Agric. Food Chem.* -2008. -V. 56, № 22. -P. 10456–10461.
14. Deng Q.P. Cocaine detection by structure-switch aptamer-based capillary zone electrophoresis / Q.P. Deng, C. Tie, Y.L. Zhou, X.X. Zhang // *Electrophoresis.*-2012/ -V. № 9-10. -P. 1465-70.
15. Mustafakulov M.A., Ibragimov A.A., Ashurov A.A., Rustamova S.M., Kuziyev Sh. N., Uralov AI. Prospects of aptamer application in diagnostics of bacterial infections. *Academic research in educational sciences.* Volume-2, 2021 №9 890-900 b.