

РОЛЬ АПТОМЕРОВ В МЕДИЦИНЕ, ФАРМАЦЕВТИКЕ И БИОЛОГИИ

Мухаммаджон Абдувалиевич Мустафакулов

Ташкентский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток, кандидат биологических наук, доцент
mmustafakulov@bk.ru

Адыл Ахмедович Ибрагимов

Ташкентский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток, доктор биологических наук

Абдурахмон Акбаралиевич Ашуров

Ташкентский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток, кандидат фармацевтических наук, доцент

АННОТАЦИЯ

Одной из наиболее актуальных проблем в биологии и медицине является разработка новых диагностических и терапевтических методов, основной целью которых является идентификация и нацеливание на определенные молекулярные маркеры для достижения желаемого терапевтического воздействия на них. Идентификация молекулярных маркеров, идентификация и сравнение нормальных и патологических состояний, определение статистической значимости, определение качественных и количественных различий в содержании белка и исследование идентифицированных биомаркеров.

Ключевые слова: ДНК, РНК, аптомеры, маркер, нуклеотид, рекомбинант, мутация.

ABSTRACT

One of the most pressing problems in biology and medicine is the development of new diagnostic and therapeutic methods, the main purpose of which is to identify and target specific molecular markers to achieve the desired therapeutic effects. Implementation of identification of molecular markers, identification and comparison of normal and pathological conditions, determination of statistical significance, determination of qualitative and quantitative differences in protein content, and examination of identified biomarkers.

Keywords: DNA, RNA, aptomery, marker, nucleotide, recombinant, mutation.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых диагностических и терапевтических методов на основе аптомеров, одной из актуальнейших проблем биологии и медицины является разработка персонализированной медицины, основной целью которой является выявление и таргетирование специфических молекулярных маркеров для определения желаемого терапевтического воздействия на них. Современные технологии идентификации молекулярных маркеров осуществляются рядом зарубежных ученых: [1] выявление и сравнение нормальных и патологических состояний; [2] определение статистической значимости, определение качественных и количественных различий в содержании белка; [3] проводится ряд исследований, направленных на изучение выявленных биомаркеров.

Таким образом, поиск и идентификация молекулярных маркеров представляет собой сложный многоэтапный процесс, но не всегда дает положительные результаты, поскольку поиск маркеров требует качественного и количественного сравнения состава тысяч белков, изучения белков. Присутствуют небольшие количества крупных белков, а в клетках присутствуют специфические белки, обычно в небольших количествах, которые могут быть потеряны при обнаружении. По этой причине количество молекулярных маркеров, успешно используемых в медицине для выявления различных патологий, очень невелико. Другой подход к поиску молекулярных маркеров заключается в следующем: обогащение болезнеспцифических белков с помощью технологии, позволяющей использовать аптамеры для выявления заболеваний, служит их дальнейшей идентификации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Аптомеры

Нуклеиновые кислоты играют важную роль в хранении и хранении генетической информации. Однако в последние десятилетия особое внимание уделяется изучению функциональных нуклеиновых кислот. Нуклеиновые кислоты, содержащие ДНК или РНК с уникальными свойствами, обладают биологическими функциями, формирующими трехмерные структуры и способностью связываться с различными мишенями. Функциональные нуклеиновые кислоты делятся на две основные группы — рибосомы и аптомеры. Рибосомы и дезоксирибосомы представляют собой ферменты-катализаторы, катализирующие, т.е. ускоряющие определенные химические реакции [4].

Аптомеры являются аналогами белковых антител, связанные с ними олигонуклеотиды выступают в роли специфических лигандов. Одной из основных причин этого является то, что нуклеиновые кислоты широко используются в науке, проводятся различные исследования, их легко синтезировать, амплифицировать и модифицировать. Аптомеры представляют собой новый класс адъювантов, позволяющих создавать синтетические лекарственные средства нового вида на основе олигонуклеотидов, полученных *in vitro* или *in vivo*. [5, 6, 7]. Уникальные аптомеры группируются во вторичные и третичные структуры, причем аптамеры обладают более высокой степенью селективности и сродства к своим мишеням [8]. По своей химической природе аптомеры представляют собой короткие одноцепочечные фрагменты ДНК или РНК из 30-80 олигонуклеотидов, образующие объемные структуры и являющиеся лигандами, образованными за счет комплементарного взаимодействия связанных с ними нуклеотидов. Лиганды, состоящие из праймеров и нуклеотидных последовательностей для амплификации константных 20 нуклеотидов, необходимых для сборки олигонуклеотидов [9].

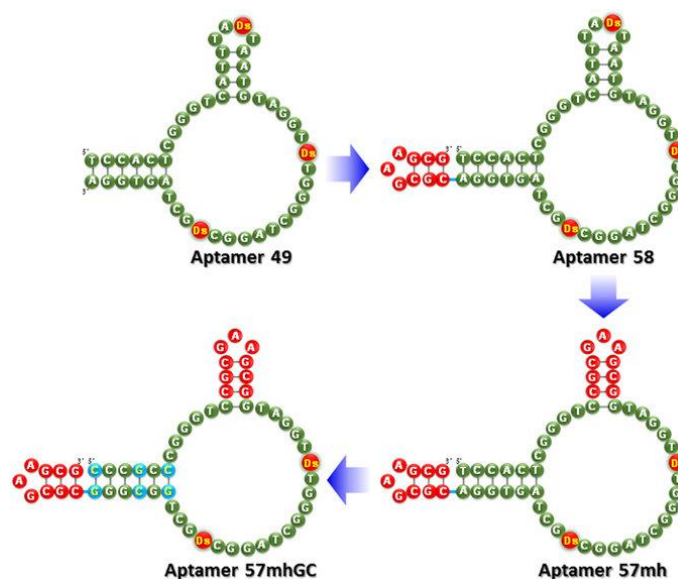


Рис 1. Фрагменты аптамеров по химической природе

Функционально аптамеры являются аналогами белковых антител. Помимо обладающих физико-химическими свойствами и способа получения, он имеет следующие преимущества: высокая удельная чувствительность, стабильность, иммуногенность [9, 11].

Таблица 1.

Различия между аптамерами и антителами

Аптамеры	Антитела
ДНК / РНК олигонуклеотиды	Белок
Длина (15-80 нуклеотидов, 5-25 кДа)	Молекулярная масса (150 кДа)
Стабильный	Нестабильный
Химически синтезированный	Немного сложно синтезировать, требуются восприимчивые животные
Легко изменить	Неизменный
Слабый иммуноген.	Иммуногены
Очень чувствительный	Очень чувствительный

Мишени аптомеров

При отборе аптамеров методом селекции *in vitro* используют поверхностные белки рекомбинантной клетки-мишени или целые клетки. Первые эксперименты по подбору аптамеров были выполнены с использованием небольших органических молекул [10].

Затем было обнаружено, что аптамеры могут быть адаптированы к белкам и целым клеткам, но исследования для более крупных объектов остались безрезультатными.

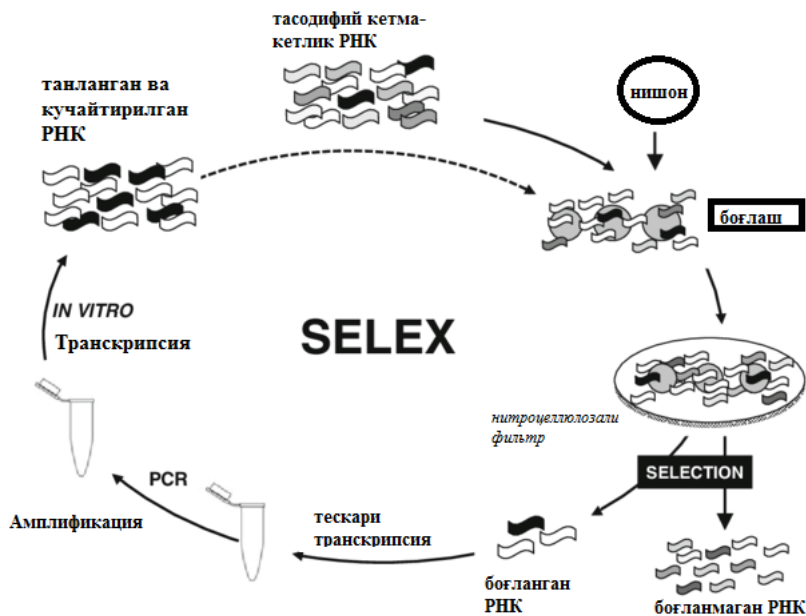


Рис 2. Разработка аптомеров на основе метода Selex.

Чем крупнее мишень в аптомерах, тем больше в ней функциональных групп, а чем больше структурных форм и водорода образуется с аптамерами, тем более стабильны

электростатические и гидрофобные взаимодействия [7, 12, 13].

Специфичность аптамеров

Аптамеры быстро адаптируются к организму и широко используются при лечении некоторых заболеваний. Наилучшей мишенью для выбора аптамеров являются белки аптамерных комплексов с большими константами диссоциации (K_d), белковые мишени в наномолярном и пикомолярном диапазоне являются альтернативным вариантом для организма. Высокая чувствительность различных низкомолекулярных аптамеров к белковым мишеням, обычно в пределах от 10^{-6} до 10^{-7} , объясняется тем, что в таких комплексах развивается молекула-мишень с площадью воздействия аптамера. [3, 5].

Способность аптамеров разделять сходные белки определяют следующим образом. Если аптамер свяжется с белком, молекула белка изменит форму, и тогда взаимодействие будет сильнее. Например, белок вируса ВИЧ-1 отбирается белком вируса ВИЧ-2, эти белки вариабельны только до 65% [7]. Аптамеры протеинкиназы С взаимодействуют с близкородственной изоформой фермента, отличаясь всего на 4% [10]. Некоторые аптамеры изменяют свои нуклеотиды в результате воздействия мутировавшего тромбина [5], участвуют в репликации вируса гепатита С [12] и обратной транскриптазы ВИЧ-1. Аптамер конформациялари

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Характерной особенностью аптамеров является формирование их вторичной структуры, которую изучают с помощью анализа консервативных мотивов, компьютерного моделирования и ферментативного тестирования. Взаимодействие аптамеров с липосомами осуществляется неспаренными участками олигонуклеотидов. В местах с устойчивой вторичной структурой элементарная единица аптамеров формируется на основе частей (олигонуклеотидов), необходимых для обеспечения взаимодействия. [4, 7, 15]. При этом многие сайты аптамеров подтверждают, что они являются носителями информации, с которыми только после связывания в ткань отправляется мишень со стабильной конформацией [8, 11]. Аптамер обычно появляется в одной или двух структурных формах. Аптамеры характеризуются большим разнообразием конформаций (шпильки, псевдоузлы и G-квартеты) (рис. 3), олигонуклеотидов, функциональных групп, участвующих в формировании конформаций путем переноса ионов водорода, а также электростатических и ван-дер-итовых концов с

взаимодействие с функциональными группами на основе сил Ваальса, происходящих на молекулярном уровне. [11, 16].

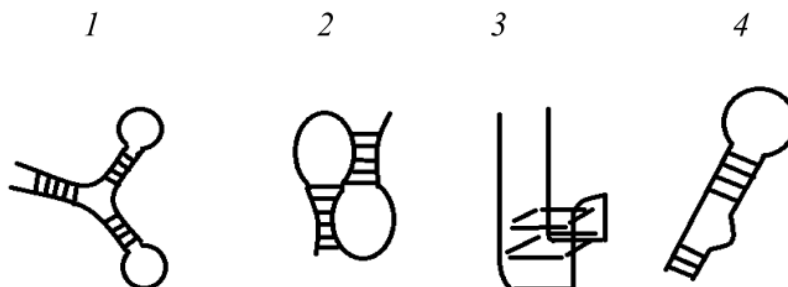


Рис 3. Вторичные структуры, образованные аптамерами: 1,4 - шпилька, 2 - ложный узел, 3 - G-квартет.

Белковые аптамеры узнают специфические внешние участки, такие аптамеры называют эпитопами [12]. На основе расположения белков, состояния белков, присутствующих в них, и трехмерных моделей белков, которые могут содержать распознаваемый аптамерами эпитоп, были разработаны аптамеры [14], а белки, легко подвергающиеся денатурации, также образуют аптамеры [15].]. Большинство выделенных последовательностей являются одними и теми же, имеют псевдоузловую структуру, и один и тот же класс взаимодействующих аптамеров имеет природный РНК-связывающий центр фермента. Исследования показали, что аптамеры используются в качестве векторов для разработки новых лекарств.

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 Мухаммад 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 one 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 б.