

**Получение олигонуклеотидов, несущих тиофосфорильные модификации
заданной локализации.**

Лукьянова Т. А., Зайцева М. А., Позмогова Г. Е.

аспирант

Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В.

Ломоносова, факультет Биотехнологии, Москва, Россия

E-mail: gloyat@gmail.com

Несмотря на большое число исследований, свидетельствующих о высоком терапевтическом потенциале фрагментов ДНК и РНК, использование олигонуклеотидов в практической медицине в качестве лекарственных средств весьма ограничено. Одно из наиболее существенных препятствий обусловлено их быстрой биодegradацией. С этой проблемой, в частности, связан интерес к разработке методов синтеза и изучению свойств структурных аналогов олигонуклеотидов, содержащих отличные от природных межнуклеотидные связи или модификации сахаро-фосфатного остова. Наиболее подробно изучены особенности применения и метаболизм тиофосфорильных олигонуклеотидов. Гибридизационные свойства таких аналогов близки природным фосфодиэфирам, в тоже время, они достаточно стабильны в биологических жидкостях, мембранотропны и, вследствие этого, эффективны как антисмысловые олигонуклеотиды. С другой стороны, тиофосфорильные олигонуклеотиды обладают высокой системной токсичностью. В связи с этим ведется поиск эффективных частично модифицированных последовательностей.

Среди методов синтеза олигонуклеотидов наиболее экономичным является амидофосфитный параллельный синтез на многоканальных синтезаторах. При этом для получения локально модифицированных олигонуклеотидов особенно важным является как выбор стратегии синтеза, так и разработка достоверных способов подтверждения их состава. В настоящей работе были оптимизированы приемы параллельного автоматического синтеза олигонуклеотидов, несущих различные локальные тиофосфорильные межнуклеотидные связи, с использованием сборки в «ждущем режиме» и с созданием специальных программных блоков. Для образования O,O,O-триэфиров тиофосфорной кислоты использовали стандартный свежеприготовленный раствор 3Н-1,2-бензодитиол-3-он-1,1-диоксида в ацетонитриле. Найденные схемы организации реакционных циклов могут быть успешно применены в работе современных синтезаторов, а также использоваться для разработки новых моделей. Также были подобраны условия MALDI TOF масс-спектрометрии, позволившие повысить чувствительность метода (1-10 фмоль олигонуклеотида в пробе) и получать достоверные спектры тиофосфорильных аналогов олигонуклеотидов, что создает возможность надежно доказывать наличие заданного числа тиофосфорильных связей в составе синтетических последовательностей. В результате работы был получен ряд олигодезоксирибонуклеотидов - тиоаналогов известного G-квруплексного антитромбинового аптамера - d(GGTTGGTGTGGTTGG).