

Влияние структуры малых интерферирующих siРНК на накопление и биологическую активность *in vitro* и *in vivo*

Научный руководитель – Черноловская Елена Леонидовна

Карелина Ульяна Александровна

Студент (магистр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия
E-mail: uljana@ngs.ru

Малые интерферирующие РНК (siРНК) являются наиболее перспективным типом терапевтических олигонуклеотидов, поскольку они могут быть использованы в качестве индукторов РНК-интерференции для подавления экспрессии генов. Ген *MDR1* является важной терапевтической мишенью, поскольку его повышенная экспрессия приводит к появлению у опухолевых клеток синдрома множественной лекарственной устойчивости и снижает эффективность химиотерапии. Поэтому разработка и оптимизация структуры siРНК, направленных на подавление экспрессии этого гена, является важным этапом создания лекарственных средств для лечения опухолевых заболеваний.

Целью данной работы являлось изучение влияния структуры холестеринных конъюгатов анти*MDR1*-siРНК на накопление в клетках и эффективность подавления экспрессии гена-мишени *in vitro* и *in vivo*. В работе изучались конъюгаты нуклеазоустойчивых канонических siРНК (21 п.н.), тримерных TsiРНК (63 п.н.) и супрамолекулярных тримерных STsiРНК, содержащих 2'-O-метильные модификации в нуклеазочувствительных сайтах. Влияние структуры siРНК на её интерферирующие свойства *in vitro* оценивали по эффективности подавления экспрессии гена-мишени на клеточной линии KB-8-5-MDR1-GFP методом проточной цитофлуориметрии. Показано, что увеличение длины дуплекса повышает биологическую активность конъюгатов TsiРНК по сравнению с siРНК при доставке в клетки с помощью трансфекционного агента. Однако, при доставке холестеринных конъюгатов без носителя эффективность накопления и биологическая активность при увеличении длины дуплекса снижается. В экспериментах *in vivo* на мышах линии SCID с ксенографтной опухолью KB-8-5 было показано, что холестеринные конъюгаты TsiРНК более эффективно накапливаются в клетках опухоли по сравнению с конъюгатом канонической siРНК; однако, повышенное накопление не обеспечивает эффективное ингибирование экспрессии гена-мишени. Для преодоления этой проблемы, был сконструирован новый тип индукторов РНК-интерференции - STsiРНК - дуплекс, состоящий из 3 молекул антисмысловой цепи и двух полуторных смысловых цепей, содержащих LNA модификации для увеличения стабильности. Было показано, что в отличие от TsiРНК, STsiРНК эффективно накапливаются в клетках и проявляют высокую биологическую активность *in vitro* при доставке конъюгатов без носителя, что может быть обусловлено более высокой гибкостью супрамолекулярного дуплекса.

Использование этого подхода позволит присоединять различные функциональные лиганды к супрамолекулярному дуплексу siРНК, а также одновременно подавлять экспрессию нескольких терапевтически важных генов.

Исследование было поддержано грантом РФФ № 19-14-00251.