

Мезильная модификация увеличивает длительность действия малых интерферирующих РНК *in vivo*

Научный руководитель – Черноловская Елена Леонидовна

Бачкова И.К.¹, Жуков С.А.²

1 - Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук, Новосибирск, Россия, *E-mail: i.bachkova@g.nsu.ru*; 2 - Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, *E-mail: jsvbsasp@yandex.ru*

Терапевтические препараты на основе малых интерферирующих РНК (siРНК) подавляют экспрессию генов по механизму РНК-интерференции. Для защиты от расщепления нуклеазами организма в состав siРНК включают химические модификации. Мезильная (μ) модификация является перспективным аналогом широко используемой в составе siРНК тиофосфатной модификации (PS), поскольку она обеспечивает большую нуклеазоустойчивость и не проявляет токсичности. Целью данной работы было исследование влияния мезильной модификации на биологические свойства siРНК.

На первом этапе работы был проведён скрининг *in vitro* активности siРНК, содержащих одну μ модификацию в различных положениях дуплекса. Относительную активность (Отн_А) рассчитывали как отношение IC₅₀ контрольной siРНК без модификаций фосфата к IC₅₀ siРНК с модификациями фосфатной группы. Было показано, что одна μ модификация в 28 из 29 исследованных положений дуплекса практически не снижает биологическую активность siРНК (Отн_А = 0.66-2.5). Исключение составила siРНК, содержащая μ в 1 положении антисмысловой цепи, активность которой снижалась в 4 раза (Отн_А = 0.23). На основании этих данных были созданы паттерны μ модификаций с Отн_А = 0.41-0.59, что близко к активности siРНК с общепринятым паттерном концевых PS модификаций (Отн_А = 0.57).

Для исследования биологической стабильности, siРНК инкубировали в гомогенате печени и оценивали количество полноразмерной siРНК с помощью нативного ПААГ-электрофореза. Показано, что количество PS-модифицированной siРНК снижалось до 14% за 7 дней, а количество μ -модифицированных siРНК оставалось высоким даже спустя 11 дней инкубации, составляя 45-78%.

Для исследования кинетики действия siРНК *in vivo*, холестерин-конъюгаты анти-Ttr siРНК вводили мышам внутривенно, уровень ТТР в сыворотке крови определяли с помощью ИФА. На протяжении первых двух недель все siРНК действовали со сходной эффективностью, снижая уровень ТТР в сыворотке до 8-17% от исходного. Однако начиная с 6-й недели и до конца эксперимента на 24-ю неделю μ -модифицированные siРНК действовали эффективнее, чем PS-модифицированная siРНК. Наибольшее различие достигалось на 16-ю неделю, когда действие PS-модифицированной siРНК полностью заканчивалось (уровень ТТР 101%), а μ -модифицированные siРНК продолжали действовать, снижая уровень ТТР до 40%-65%.

Таким образом, мезильная модификация значительно повышает биологическую стабильность siРНК и, при использовании в составе оптимальных паттернов, не нарушает процесс РНК интерференции, что обеспечивает более эффективное и длительное действие конъюгатов siРНК *in vivo*.

Исследование было поддержано грантом РНФ № 25-44-10014.