

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

УДК 577.1

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ
АПТАМЕРОВ И ПРИНЦИПЫ ВЫБОРА БИБЛИОТЕК АПТАМЕРОВМаксим Федорович Субач¹, Мария Григорьевна Хренова¹, Мария
Эмильевна Зверева¹¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химиче-
ский факультет**Автор, ответственный за переписку:** Максим Федорович Субач, subach.mf@
gmail.com

Аннотация. Аптамеры перспективны для широкого применения в биомедицине и различных диагностических системах благодаря своим уникальным свойствам селективных лигандов, направленно полученных к выбранной мишени методами искусственной эволюции и комбинаторной химии. Обсуждаются стратегии получения аптамеров *in vitro* и использования их химических модификаций, подходы к дизайну исходных библиотек соединений на основе предструктурирования *in silico*. Сформулированы ограничения и предложено направление развития области получения новых аптамеров.

Ключевые слова: искусственная эволюция, аптамеры, модификация, нуклеино-
вые кислоты, комбинаторная химия

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2024-65-2-78-86

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Междисципли-
нарной научно-образовательной школы Московского государственного универси-
тета имени М.В. Ломоносова № 23-Ш04-45

Для цитирования: Субач М.Ф., Хренова М.Г., Зверева М.Э. Современные мето-
ды химической модификации аптамеров и принципы выбора библиотек аптаме-
ров // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. Т. 65. № 2. С. 78–86.

SCIENTIFIC REVIEW

MODERN METHODS OF APTAMER CHEMICAL MODIFICATION
AND PRINCIPLES OF APTAMER LIBRARY SELECTIONMaxim F. Subach¹, Maria G. Khrenova¹, Maria I. Zvereva¹¹ Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian
Federation**Corresponding author:** Maxim F. Subach, subach.mf@gmail.com

Abstract. Aptamers are promising molecules for a wide range of applications in
biomedicine and various diagnostic systems due to their unique properties as selective
ligands, specifically obtained for a selected target using methods of artificial evolution
and combinatorial chemistry. We discuss strategies of obtaining aptamers *in vitro*
and using their chemical modifications, as well as approaches to design initial compound
libraries based on *in silico* pre-structuring. Limitations are formulated, and a direction
for the development of the field in obtaining new aptamers is proposed.

Keywords: artificial evolution, aptamers, modification, nucleic acids, combinatorial chemistry

Financial Support. The work was carried out with financial support from the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow State University named after M.V. Lomonosov, grant number 23-S04-45.

For citation: Subach M.F., Khrenova M.G., Zvereva M.I. Modern methods of aptamer chemical modifications and principles of aptamer library selection // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. T. 65. № 2. S. 78–86.

Аптамеры – одноцепочечные олигонуклеотиды, которые могут связываться с определенными мишенями, обладающими высокой аффинностью и специфичностью. Благодаря таким свойствам аптамеры называют «химическими антителами» [1]. Свойства аптамеров позволяют использовать их при создании лекарственных препаратов [2], адресных систем доставки препаратов [3], диагностических систем (в качестве узнающих элементов с различными детектирующими модулями) [4, 5], в функционализации ДНК-наноматериалов [6] для их использования в регенеративной медицине [7], а также в комбинации перечисленных приложений [8]. Широкое применение аптамеров требует рассмотрения подходов к их получению и модификации. Чаще всего для этого используют метод комбинаторной химии, основанный на отборе из библиотеки соединений, взаимодействующих специфически с определенным лигандом путем систематической эволюции. Этот метод для получения аптамеров получил название SELEX (от англ. Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) и с 90-х годов используется для получения аптамеров на основе нуклеиновых кислот (НК): дезокси- [9], рибо- [10] или модифицированных НК [11, 12]. Для этого метода, как правило, необходима начальная библиотека из 10^{13} – 10^{15} различных олигонуклеотидных последовательностей, которая инкубируется с целевой молекулой, далее называемой мишенью. Затем убирают последовательности НК, которые не провзаимодействовали, а связавшиеся элюируют и амплифицируют для последующих раундов селекции. Мишень снова подвергается воздействию обогащенной библиотеки, и процесс повторяется в течение 6–15 циклов, после чего пул аптамеров анализируется для установления первичной структуры. Для улучшения связывания с целевой молекулой и увеличения специфичности связывания аптамера можно использовать химические модификации [13]. Их можно вносить в начальную библиотеку НК

перед проведением SELEX, если такие модификации нуклеозидтрифосфатов приемлемы для ферментов, используемых в SELEX, а также после проведения селекции на этапе оптимизации свойств отобранного аптамера [14, 15]. В настоящее время существуют разнообразные модификации метода SELEX и альтернативные подходы для отбора аптамеров на основе конкурентного отбора, отбора в живой клетке и прямого комплексообразования без амплификации [16]. Мы рассмотрим методы получения аптамеров без использования живых систем. В предлагаемом обзоре рассматриваются также методы химической модификации аптамеров (раздел I) и принципы выбора последовательностей исходных библиотек для успешной селекции (раздел II), проведен комплексный анализ существующих подходов и выявлены технологические ограничения развития области получения высокоселективных аптамеров.

I. Химические модификации НК

Замкнутые нуклеиновые кислоты (LNA)

Замкнутая нуклеиновая кислота, далее LNA (сокращение от англ. Locked Nucleic Acid), представляет собой аналог нуклеиновой кислоты, в котором метиленовый мостик соединяет 2'-атом кислорода и 4'-атом углерода в каждом нуклеотидном остатке [17]. LNA придает модифицированным аптамерам повышенную термостойкость и устойчивость к деградации нуклеазами, а также делает более устойчивыми комплементарные пары оснований в дуплексе к внешним воздействиям [18].

Включение нуклеотидов LNA в цепи ДНК или РНК вызывает увеличение температуры плавления дуплексов на 1–8 °C на каждый модифицированный нуклеотид LNA [19, 20], а также улучшает взаимодействие аптамера с нужной молекулой в десятки раз [19]. Фосфоротиоатные олигонуклеотиды LNA демонстрируют увеличение устойчивости комплексов нуклеиновой кислоты с мишенью [21]. Получены

полимеразы, способные достраивать природную цепь ДНК цепью, состоящей из мономеров LNA, и синтезированы молекулы с модифицированными LNA длиной более 1000 оснований [11]. Существуют LNA-модифицированные аптамеры на малые молекулы, например, на технеций-99m, для использования в качестве противоопухолевого средства [22].

Разомкнутые нуклеиновые кислоты (UNA)

В отличие от LNA, у UNA (сокращение от англ. unlocked nucleic acid) гибкая подвижная структура, так как в рибозном кольце нет 2'-3'-связи C–C [23, 24]. Эта модификация увеличивает биостабильность нуклеиновых кислот и является стабильной при 37 °C [25]. Введение такой модификации снижает стабильность дуплекса ДНК [25]. Иногда модификации LNA снижают связывание аптамера с молекулой, тогда зачастую использование модификации UNA вместо LNA позволяет увеличить связывание, так как UNA и LNA имеют противоположные свойства [26].

Фосфоротиоаты/дитиоаты и альфа-боранофосфаты

Фосфоротиоатная модификация используется для увеличения стабильности аптамеров к деградации нуклеазами *in vivo*, а также для улучшения связывания с мишенью [27, 28]. Немостиковые атомы кислорода фосфодифирного фрагмента аптамеров можно заместить на один или два атома серы, в результате получатся тиоаптамеры с фосфоротиоатными или дифосфоротиоатными связями [29]. Тиоаптамеры можно использовать для терапевтических целей и клеточного имиджинга [30].

Альфа-боранофосфатные аптамеры имеют похожие свойства. Их используют в раковой терапии, так как при лечении рака применяют изотопы бора ^{10}B и ^{11}B , и включение атомов бора в аптамеры помогает решить проблему доставки радиоактивного бора к раковым клеткам [31].

Сомамеры

Сомамерами называют аптамеры, модифицированные, как правило, по 5'-положению пиримидина, что приводит к низкой скорости диссоциации. Название появилось из английского языка благодаря широкому внедрению аптамеров, которые американская компания Soma Logic Inc селективно отбирает из би-

блиотек химически модифицированных нуклеиновых кислот. Чаще всего их получают методами, аналогичными клик-химии (клик-SELEX). Этот метод является разновидностью SELEX, где используются модифицированные нуклеотиды в процессе отбора [32, 33]. В процессе клик-SELEX химические группы «сшиваются» друг с другом с образованием ковалентных связей по аналогии с клик-химией. В основе клик-SELEX лежит реакция модифицированного основания нуклеиновой кислоты с азидом в присутствии катализатора меди(I), в результате чего образуется 1,2,3-триазольное кольцо [34]. Такая модификация может увеличивать (тогда образуются амфифильные аптамеры) или уменьшать гидрофобность аптамера, тем самым улучшая связывание с целевой молекулой. Такие аптамеры часто называют кликмерами [35]. Были проведены эксперименты SELEX с библиотеками ДНК, содержащими два модифицированных основания, что привело к получению аптамеров с более высоким сродством к целевой молекуле [36, 37]. Так, клик-SELEX был использован для отбора нуклеиновых кислот, которые связываются со специфическими молекулами, например Δ^9 -тетрагидроканнабиолом [38].

Циклические аптамеры

Циклические аптамеры очень устойчивы к действию нуклеаз, такая структура также повышает термостабильность аптамера. При создании циклических аптамеров могут использоваться природные нуклеотиды, что позволяет отказаться от их модификации и избежать потенциального вреда для организма. Например, был разработан циклический аптамер для связывания тромбина [39]. Недостатком циклических аптамеров является сложность процесса циклизации исходных линейных аптамеров.

Димерные и многомерные аптамеры

Многомерный аптамер представляет собой конструкцию, состоящую из двух или более аптамерных мотивов, которые совместно взаимодействуют с одним или более сайтами целевой молекулы, что позволяет значительно улучшить связывание. Часто в результате проведения SELEX получают аптамеры, содержащие повторяющиеся участки нуклеиновой кислоты, что свидетельствует о получении многомерных аптамеров. Однако для целенаправленного получения многомерного аптамера комбинируют несколько одиночных аптамеров,

которые связываются с разными частями молекулы и могут обладать разной гидрофобностью и химическими модификациями [40, 41].

Шпигельмеры

Шпигельмеры (L-аптамеры) являются зеркальными отражениями обычных D-аптамеров. Так как природные нуклеазы стереоселективны, то шпигельмеры стабильны к их действию [42]. По той же причине шпигельмеры стабильны в крови. Процесс SELEX для получения шпигельмеров отличается от обычного. Сначала проводят нормальный SELEX для зеркального отображения целевой молекулы, после чего на основании полученной последовательности D-аптамера делают шпигельмер. Интересно, что связывание шпигельмера с целевой молекулой совпадает с таковым для зеркальной молекулы и D-аптамера [43]. Однако шпигельмеры редко используют для связывания малых молекул, обычно их мишенями являются белки, например грелин и амилин [42].

Амфифильные аптамеры

Подходы к синтезу и химические модификации, придающие аптамерам свойства амфифильности, рассмотрены в обзорной работе [44]. Для

амфифильных аптамеров свойства структуры, разделяющей последовательность аптамера и гидрофобной группы, имеют решающее значение для способности сохранять способность взаимодействия с мишенью. Амфифильные аптамеры без спейсеров или с гидрофильными спейсерами могут также образовывать глобулярные мицеллы. Формирование наноструктур такого типа повышает их стабильность в биологических системах [45]. Амфифильные аптамеры со спейсерами полиэтиленгликолевой, алкильной или олигонуклеотидной природы обладают более высоким сродством к связыванию в зависимости от длины линера [46]. Такие химические модификации позволяют закрепить в мембране внеклеточные везикулы и использовать аптамеры как направляющие молекулы для доставки лекарств [47].

Минимизация длины аптамеров после SELEX

После процесса SELEX получается аптамер с отобранной последовательностью длиной 30–50 нуклеотидов, ограниченной фиксированными последовательностями, обеспечивающими сайты связывания праймеров, необходимых для амплификации [48]. Обычно фиксированные

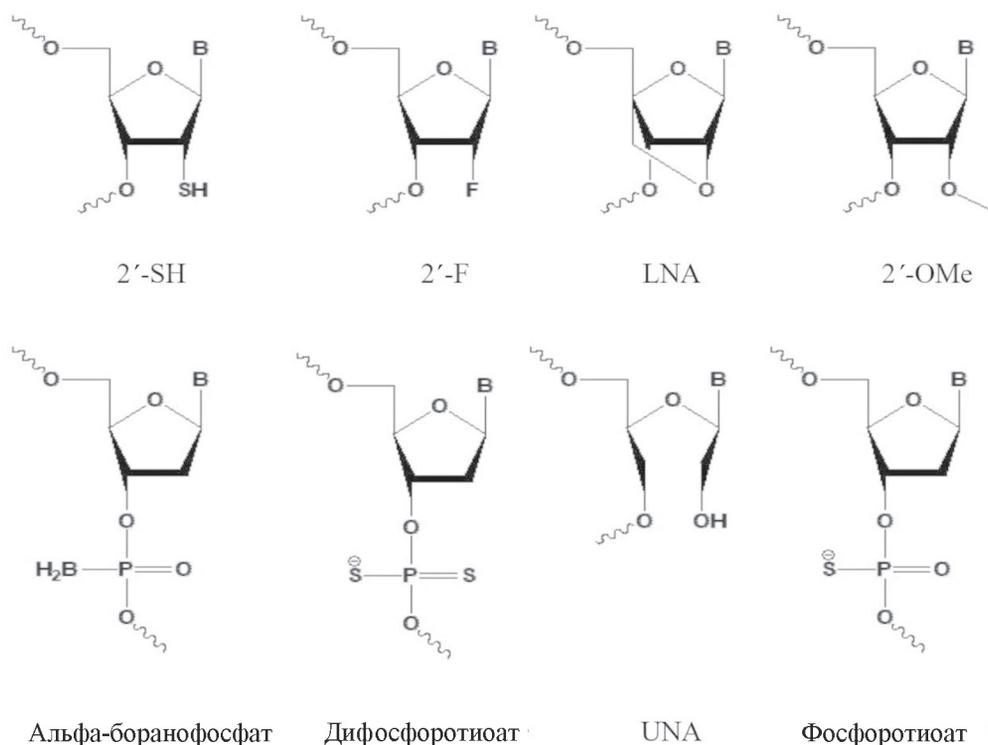


Рис. 1. Химические модификации нуклеиновых кислот

последовательности не улучшают связывания аптамера с молекулой, так как не участвуют в образовании вторичной структуры. Было показано, что минимизация длины последовательности аптамера может улучшать связывание с целевой молекулой. Такая минимизация может быть полезна также при создании многомерного аптамера [49]. С помощью компьютерных программ, таких как RNAfold или Mfold, можно предсказать вторичную структуру аптамера и еще больше минимизировать структуру аптамера, вырезая участки, которые не образуют вторичную структуру, способную связываться с целевой молекулой.

II. Создание библиотек аптамеров

В любом методе отбора аптамеров на первом этапе получают библиотеку различных последовательностей НК (рис. 2, *a*, *б*). В настоящем обзоре рассмотрены только подходы *in vitro*, основанные на химическом синтезе библиотек соединений. В классическом методе SELEX создается библиотека из случайных последовательностей НК, содержащих N (длина обычно 30–70 нуклеотидов) нуклеотидных остатков (н.о.), ограниченных известными последовательностями для амплификации ПЦР. Число последовательностей в такой библиотеке составляет 4^N , если используются 4 природных

нуклеозидтрифосфата для синтеза библиотеки. Основная проблема заключается в низком выходе при химическом многостадийном синтезе аптамеров большой длины. Другой проблемой является низкая эффективность ПЦР (или ПЦР, сопряженной с обратной транскрипцией) для некоторых матриц при амплификации [50]. Преимущество получают те матрицы, где не происходит остановки синтеза ДНК из-за сложностей прохождения пространственной структуры матричной цепи полимеразой. Следующим проблемным этапом при отборе ДНК-аптамеров является получение одной цепи ДНК (ssDNA) из двойной после раунда амплификации, что решается различными стратегиями, а именно: асимметричным ПЦР [51], аффинным выделением [52], прямым анализом одной цепи без амплификации (ферментативным добавлением) [53].

В работе [54] предложена платформа для скрининга лигандов с усилением конкуренции, которая помогает устранить обеднение некоторыми последовательностями в библиотеке при ПЦР-амплификации. Для реализации такого подхода аликвоту библиотеки сначала инкубировали с мишенями и собранный комплекс ssDNA–мишень не подвергали ПЦР, а снова инкубировали с другой аликвотой исходной библиотеки. Посредством повторяющейся

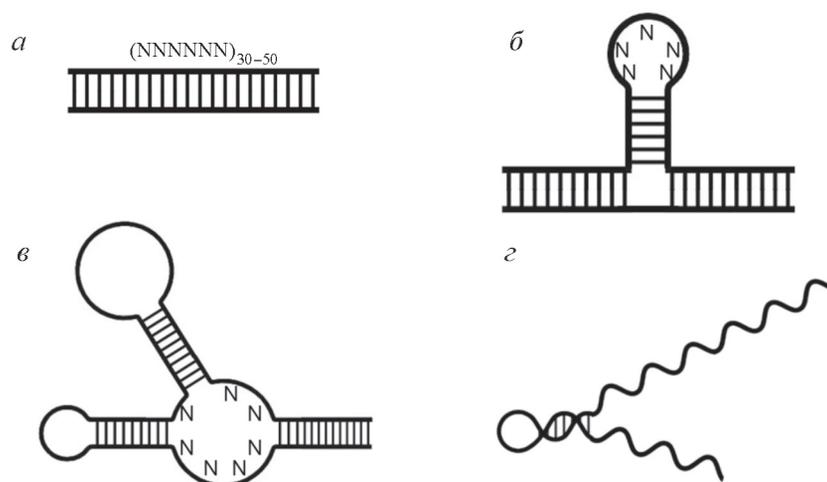


Рис. 2. Различные возможные библиотеки для отбора аптамеров: *a* – стандартная схема библиотеки аптамеров, *б* – предструктурированная библиотека с центральной шпилькой длиной 10–20 нуклеотидов, *в* – предструктурированная библиотека трехлучевой ДНК с двумя структурообразующими шпильками, *г* – возможный вид шпилек, образующихся в предструктурированной библиотеке N-N₁-N-N₁-N-N₁-N-N₁-N₂-N₂-N₂-N₂-N-N₁-N-N₁-N-N₁-N-N₁-N-N₁-N₂-N₂-N₂-N-N₁-N-N₁, соотношение A/C/G/T для N = 45:05:45:05; N₁ = 05:45:05:45; N₂ = 25:25:25:25, серым выделены участки с повышенной вероятностью формирования шпилек

конкуренции реализовали эволюционный отбор. Этот подход получил развитие в отборе аптамеров к наночастицам золота [55]. Однако реакцию ПЦР не исключали полностью, используя при первоначальной подготовке большого избытка библиотеки и после заключительного этапа сбора, что позволяет не игнорировать полностью влияние ПЦР на процесс селекции. Были разработаны другие альтернативные подходы к обогащению селективными к мишени последовательностями без повторяющихся реакций ПЦР за счет интеграции библиотек с гранулами [56], различных типов центрифугирования [57], проведения эмульсионной ПЦР, позволяющей разделять каждую матрицу на отдельные мицеллы с эффективной амплификацией [58].

В недавнем исследовании [59] сообщается о новой модификации SELEX на основе биослойной интерферометрии для создания аптамеров с высоким сродством к мишени. В отличие от традиционного SELEX, он позволяет в режиме реального времени отслеживать увеличение сродства олигонуклеотидов к мишени за счет оценки константы связывания после каждого раунда.

Важным при создании исходных библиотек для отбора является оценка структурного разнообразия последовательностей. Для увеличения такого разнообразия можно использовать неканонические гетероциклические основания НК при создании библиотек, например, включать модифицированные нуклеотиды [60], тогда многообразие можно оценить по формуле (число типов н.о. в степени, соответствующей числу н.о.; также при создании аптамеров можно использовать предструктурированные библиотеки, содержащие определенный структурный мотив, например шпильку или трехлучевую ДНК (рис. 2, б, в). Такие мотивы фиксируют многообразие трехмерных структур аналогично константной части антител. Предструктурированная библиотека обязательно должна содержать варибельный участок (отмечен N на рис. 2). Разнообразие последовательностей библиотеки меньше, но зато уже существующая структура позволяет сформировать «карман» для лучшего связывания с мишенью и использовать модифицированные н.о. именно в варибельном участке. При большой длине олигонуклеотидов в синтезированной библиотеке встречаются не все возможные молекулы, а только часть многообразия, тогда как в предструктурированной библиотеке в наличии будут все возможные молекулы, если библиотека состоит из менее чем 4^{22} индивидуаль-

ных структур [61]. Логично предположить, что структур, которые малоаффинны к целевой молекуле, будет гораздо больше, чем структур, хорошо связывающих молекулу. Значит, в полностью случайной библиотеке вероятность нахождения таких высокоаффинных структур будет низкой. Следовательно, предструктурированная библиотека дает больший шанс нахождения высокоаффинного аптамера [62].

Поскольку многие аптамерные вторичные структуры содержат шпильку, самым простым подходом является создание предструктурированной библиотеки с центральной шпилькой длиной 10–20 нуклеотидов определенной или случайной последовательности для связывания с молекулой и, возможно, с фланкирующими случайными последовательностями [62].

Сложнее создать структуру, способную образовывать не одну, а множество шпилек. Если считать, что образуются пары A–T, G–C и G–T, то при случайной последовательности нуклеотидов вероятность образования N-размерной петли равна $0,375^N$. Если петля образована из 6 нуклеотидов, то такая вероятность равна 0,0028. Если библиотека построена чередованием пар A–T (A) и G–C (B) ABABAB, то вероятность образования шпилеки размером N равна $0,5^N$; при N = 6 она равна 0,016, что в 3 раз выше, чем в случайной библиотеке. Если чередовать пиримидины (Py) и пурины (Pu) в олиготуклеотиде из 6 н.о. (Py–Pu–Py–Pu–Py–Pu), то вероятность равна $(3 \times 0,5 \times 0,5)^N = 0,18$ (при N = 6), что в 32 раза больше, чем в случайной библиотеке. Для образования множества шпилек можно использовать предструктурированную библиотеку с чередованием случайных участков и участков пиримидин – пурин $((Py-Pu)_A N_B)_x$, например $(RY)_4 N_4 (RY)_5 N_3 (RY)_5 N_4 (RY)_5 N_3 (RY)_4$, где R = 50:50 A/G и Y = 50:50 C/T [63]. В нашей работе [64] был использован сходный подход и реализована библиотека, которая позволила сохранить или 5'-, или 3'-конец свободным, что привело к успешному отбору аптамера (рис. 2, г).

Для отбора аптамеров в растворе можно использовать трехлучевые аптамеры, с варибельной частью в точке расхождения двойных спиралей (рис. 2, в). Их закрепляют к твердой фазе с помощью короткого фрагмента ДНК, комплементарного закрепленному на носителе. При связывании с малой молекулой в растворе происходит изменение конформации аптамера и открепление от твердой фазы. Устройство таких

трехлучевых аптамеров подразумевает наличие двух шпилек, главным критерием которых является стабильность и структурообразование, они не обязательно образуют элемент, непосредственно взаимодействующий с малой молекулой. Также в библиотеку входит N рандомных н.о., число которых зависит от цели эксперимента. В работе [61] использовалось 8 случайных нуклеотидов в аптамере, чтобы при химическом синтезе была возможность получения всех возможных вариантов последовательностей ($4^8 = 65536$). Можно использовать и большее число нуклеотидов для получения большего числа уникальных последовательностей.

В последние годы стали использоваться компьютерные методы для рационального создания предструктурированных библиотек нуклеиновых кислот. Одним из таких методов является метод случайной фильтрации (random filtering). Суть данного метода заключается в отборе нуклеиновых кислот, содержащих определенный мотив, например пятилучевую ДНК. Везде, где в нуклеиновой кислоте нет двойной спирали, помещаются случайные нуклеотиды. Таким образом, получается библиотека с большим числом пятилучевых ДНК.

Метод “genetic filtering” позволяет еще больше увеличить разнообразие нуклеиновых кислот в библиотеке. В этом методе подготавливается библиотека с нужным содержанием определенных видов структур, например по 25% 2-, 3-, 4- и 5-лучевых ДНК. При использовании этого метода увеличивается структурное разнообразие библиотеки [65].

Заключение

Рассмотренные подходы к химической модификации аптамеров (раздел I) и принципы создания последовательностей исходных библиотек

для успешной селекции (раздел II) позволяют заключить, что в настоящее время существует большой выбор подходов. Два раздела обзора связаны между собой тем, что именно число используемых модификаций и предварительное структурирование библиотеки исходных соединений повышают структурное разнообразие молекул, участвующих в отборе, что способствует успешному отбору и улучшению свойств аптамера. Осуществление энзиматических реакций для увеличения числа НК в отборе является ограничивающим фактором в использовании всего многообразия возможных химических модификаций, так как не все модифицированные нуклеотиды могут быть субстратами для ферментов из-за обеднения библиотеки при энзиматической амплификации. Это обстоятельство привело к разработке в последние годы новых безамплификационных подходов, что хорошо перекликается с новым вектором развития области анализа НК без амплификации [66]. Так как именно структурное многообразие исходной библиотеки обеспечивает успешную селекцию специфических лигандов к мишени, то именно комбинация «константной» части с вариабельной при увеличении числа типов мономеров в ней является наиболее перспективной с точки зрения развития методологии получения аптамеров. Ограничением на этом пути является сложность определения, в каком именно положении и какую модификацию несут отобранные селекцией последовательности. Преодоление этого ограничения может привести к очередному ускорению отбора аптамеров с нужными свойствами и их более широкому использованию, аналогично антителам, в качестве молекулярно-узнающего элемента (понятие введено А.М. Копыловым [67]).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhu C. et al. // *Talanta*. 2023. Vol. 266. P. 124998 (DOI: 10.1016/j.talanta.2023.124998).
2. Razlansari M. et al. // *Mol. Cell. Biochem.* 2023. Vol. 478. P. 1573 (DOI: 10.1007/s11010-022-04614-x).
3. He S. et al. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2023. Vol. 238. P. 124173 (DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124173).
4. Sun D. et al. // *J. Pharm. Anal.* 2023. Vol. 13. P. 340 (DOI: 10.1016/j.jpha.2023.03.001).
5. Chen W. et al. // *Mol. Biol. Rep.* 2023. Vol. 50. P. 1 (DOI: 10.1007/s11033-023-08410-8).
6. Bekkouche I. et al. // *Nanomaterials*. 2023. Vol. 13. P. 2449 (DOI: 10.3390/nano13172449).
7. Abpeikar Z. et al. // *Mol. Biotechnol.* 2023 (DOI: 10.1007/s12033-023-00737-8).
8. Shishparenok A.N., Furman V.V., Zhdanov D.D. // *Cancers*. 2023. Vol. 15. P. 2151 (DOI: 10.3390/cancers15072151).
9. Beutel B.A., Gold L. // *J. Mol. Biol.* 1992. Vol. 228. P. 803 (DOI: 10.1016/0022-2836(92)90865-h).
10. Tuerk C., MacDougall S., Gold L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1992. Vol. 89. P. 6988 (DOI: 10.1073/pnas.89.15.6988).
11. Hoshino H. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* 2020. Vol. 142. P. 21530 (DOI: 10.1021/jacs.0c10902).
12. Ruckman J. et al. // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 20556 (DOI: 10.1074/jbc.273.32.20556).
13. Chen Z. et al. // *Front. Cell Dev. Biol.* 2023. Vol. 11. P. 1091809 (DOI: 10.3389/fcell.2023.1091809).

14. Odeh F. et al. // *Molecules*. 2019. Vol. 25. P. 3 (DOI: 10.3390/molecules25010003).
15. R thlisberger P., Hollenstein M. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2018. Vol. 134. P. 3 (DOI: 10.1016/j.addr.2018.04.007).
16. Zhu C. et al. // *Talanta*. 2023. Vol. 266. P. 124998 (DOI: 10.1016/j.talanta.2023.124998).
17. Vester B., Wengel J. // *Biochemistry*. 2004. Vol. 43. P. 13233 (DOI: 10.1021/bi0485732).
18. Koshkin A.A. et al. // *Tetrahedron*. 1998. Vol. 54. P. 3607 (DOI: 10.1016/S0040-4020(98)00094-5).
19. Doessing H., Vester B. // *Molecules*. 2011. Vol. 16. P. 4511 (DOI: 10.3390/molecules16064511).
20. Jepsen J. S., Wengel J. // *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2004. Vol. 7. P. 188 (pmid: 15603252).
21. Dong L. et al. // *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2018. Vol. 13. P. 376 (DOI: 10.1016/j.omtn.2018.09.013).
22. Schmidt K.S. et al. // *Nucleic Acids Res.* 2004. Vol. 32. P. 5757 (DOI: 10.1093/nar/gkh862).
23. Langkj r N., Pasternak A., Wengel J. // *Bioorg. Med. Chem.* 2009. Vol. 17. P. 5420 (DOI: 10.1016/j.bmc.2009.06.045).
24. Campbell M.A., Wengel J. // *Chem. Soc. Rev.* 2011. Vol. 40. P. 5680 (DOI: 10.1039/c1cs15048k).
25. Agarwal T., Kumar S., Maiti S. // *Biochimie*. 2011. Vol. 93. P. 1694 (DOI: 10.1016/j.biochi.2011.05.036).
26. Shigdar S. et al. // *Sensors*. 2013. Vol. 13. P. 13624 (DOI: 10.3390/s131013624).
27. slam M.A. et al. // *Drug Discov. Ther.* 2016. V. 10. P. 263 (DOI: 10.5582/ddt.2016.01055).
28. Crooke S.T., Vickers T.A., Liang X. // *Nucleic Acids Res.* 2020. Vol. 48. P. 5235 (DOI: 10.1093/nar/gkaa299).
29. Volk D.E., Lokesh G.L.R. // *Biomedicines*. 2017. Vol. 5. P. 41 (DOI: 10.3390/biomedicines5030041).
30. Dong L. et al. // *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2018. Vol. 13. P. 376 (DOI: 10.1016/j.omtn.2018.09.013).
31. Lato S. M. et al. // *Nucleic Acids Res.* 2002. Vol. 30. P. 1401 (DOI: 10.1093/nar/30.6.1401).
32. Pfeiffer F. et al. // *Nature protocols*. 2018. Vol. 13. P. 1153 (DOI: 10.1038/nprot.2018.023).
33. Pfeiffer F. et al. // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2017. Vol. 48. P. 111 (DOI: 10.1016/j.copbio.2017.03.026).
34. Tolle F. et al. // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015. Vol. 54. P. 10971 (DOI: 10.1002/anie.201503652).
35. Pl ckthun O. et al. // *Chem. Sci.* 2020. Vol. 11. P. 9577 (DOI: 10.1039/d0sc01952f).
36. Gawande B.N. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2017. Vol. 114. P. 2898 (DOI: 10.1073/pnas.1615475114).
37. Kraemer S. et al. // *PloS one*. 2011. Vol. 6. Paper e26332 (DOI: 10.1371/journal.pone.0026332).
38. Rosenthal M., Pfeiffer F., Mayer G. // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2019. Vol. 58. P. 10752 (DOI: 10.1002/anie.201903479).
39. Mao Y. et al. // *Nucleic Acids Res.* 2020. Vol. 48. P. 10680 (DOI: 10.1093/nar/gkaa800).
40. Riccardi C. et al. // *Molecules*. 2020. Vol. 25. P. 5227 (DOI: 10.3390/molecules25225227).
41. Vorobyeva M., Vorobjev P., Venyaminova A. // *Molecules*. 2016. Vol. 21. P. 1613 (DOI: 10.3390/molecules21121613).
42. Vater A., Klusmann S. // *Drug Discov. Today*. 2015. Vol. 20. P. 147 (DOI: 10.1016/j.drudis.2014.09.004).
43. Klu mann S. et al. // *Nature Biotechnol.* 1996. Vol. 14. P. 1112 (DOI: 10.1038/nbt0996-1112).
44. Gubu A. et al. // *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2023. Vol. 33. P. 144 (DOI: 10.1016/j.omtn.2023.05.022).
45. Wu Y. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010. Vol. 107. P. 5 (DOI: 10.1073/pnas.0909611107).
46. Waybrant B., Pearce T.R., Kokkoli E. // *Langmuir*. 2014. Vol. 30. P. 7465 (DOI: 10.1021/la500403v).
47. Yermeni S.S. et al. // *ACS Nano*. 2019. Vol. 13. P. 10555 (DOI: 10.1021/acsnano.9b04651).
48. Radom F. et al. // *Biotechnol. Adv.* 2013. Vol. 31. P. 1260 (DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.04.007).
49. Zheng X. et al. // *Toxicol.* 2015. Vol. 101. P. 41 (DOI: 10.1016/j.toxicol.2015.04.017).
50. Sharma T.K., Bruno J.G., Dhiman A. // *Biotechnology advances*. 2017. Vol. 35. P. 275 (DOI: 10.1016/j.biotechadv.2017.01.003).
51. Yeoh T.S. et al. // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2022. Vol. 38. P. 31 (DOI: 10.1007/s11274-021-03209-w).
52. Vinod S.P. et al. // *Anim. Biosci.* 2021. Vol. 34. P. 1579 (DOI: 10.5713/ajas.20.0235).
53. Miura F. et al. // *Sci. Rep.* 2023. Vol. 13. P. 13913 (DOI: 10.1038/s41598-023-40890-3).
54. Sullivan R. et al. // *Molecules*. 2019. Vol. 24. P. 1572 (DOI: 10.3390/molecules24081572).
55. Tapp M. et al. // *Langmuir*. 2021. Vol. 37. P. 9043 (DOI: 10.1021/acs.langmuir.1c01053).
56. Kushwaha A. et al. // *Sci. Rep.* 2019. Vol. 9. P. 1 (DOI: 10.1038/s41598-019-43187-6).
57. Kim H.R., Song M.Y., Kim B.C. // *Anal. Biochem.* 2020. Vol. 591. P. 113542 (DOI: 10.1016/j.ab.2019.113542).
58. Chen J. et al. // *Analyst*. 2020. Vol. 145. P. 4130-4137 (DOI: 10.1039/d0an00460j).
59. Mukherjee M. et al. // *J. Agric. Food Chem.* 2022. Vol. 70. P. 6239 (DOI: 10.1021/acs.jafc.2c01591).
60. Rohloff J.C. et al. // *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2014. Vol. 3. P. e201 (DOI: 10.1038/mtna.2014.49).
61. Yang K.A. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* 2012. Vol. 134. P. 1642 (DOI: 10.1021/ja2084256).
62. Davis J.H., Szostak J.W. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002. Vol. 99. P. 11616 (DOI: 10.1073/pnas.182095699).
63. Ruff K.M., Snyder T.M., Liu D.R. // *J. Am. Chem. Soc.* 2010. Vol. 132. P. 9453 (DOI: 10.1021/ja103023m).
64. Khrenova M. et al. // *ChemRxiv*. 2022 (DOI: 10.26434/chemrxiv-2022-d9gcs).
65. Luo X. et al. // *RNA*. 2010. Vol. 16. P. 2252 (DOI: 10.1261/rna.2102210).
66. Писарев Э.К. и др. // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия*. 2021. Т. 62. С. 459 (Pisarev E.K. et al. // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2021. Vol. 76. P. 353) (DOI: 10.3103/S0027131421060079).
67. Копылов А.М. и др. // *Биохимия*. 2021. Т. 86. С. 1217 (Kopylov A.M. et al. // *Biochemistry (Moscow)* 2021. Vol. 86. P. 1012) (DOI: 10.1134/s0006297921080113).

Информация об авторах

Максим Федорович Субач – студент химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (subach.mf@gmail.com);

Мария Григорьевна Хренова – профессор кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. физ.-матем. наук (mkhrenova@lcc.chem.msu.ru);

Мария Эмильевна Зверева – профессор кафедры химии природных соединений химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук (mzvereva@chem.msu.ru).

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 30.10.2023;
одобрена после рецензирования 12.11.2023;
принята к публикации 14.11.2023