



Кафедра
Биоинженерии
Биологического факультета МГУ

ДИЗАЙН ПРОГРАММИРУЕМЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ

Дипломную работу выполнил

Фескин Павел Григорьевич

Научный руководитель:

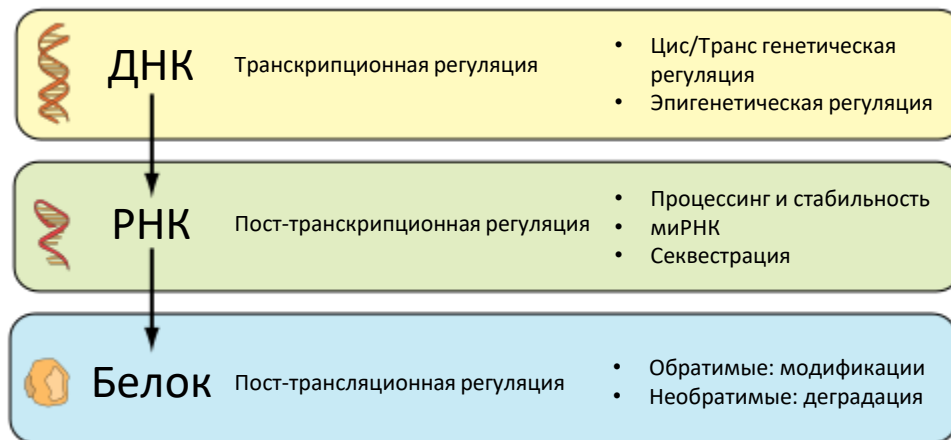
профессор, д-р ф.-м. наук, чл.-корр. РАН

Шайтан Алексей Константинович

2025

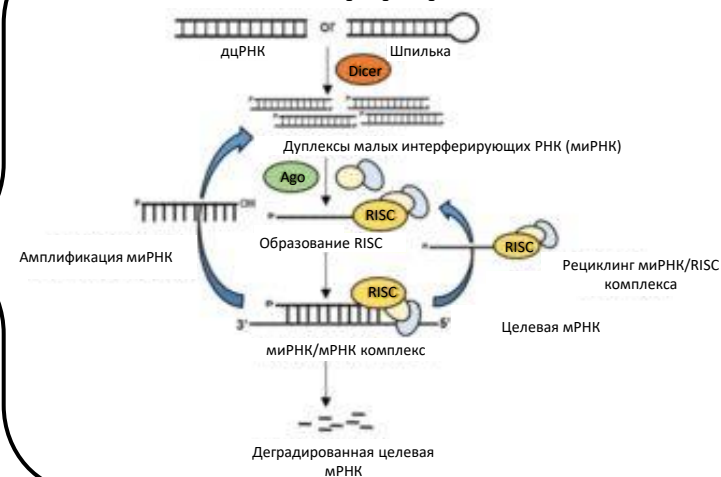
Регуляция экспрессии генов

Центральная догма молекулярной биологии

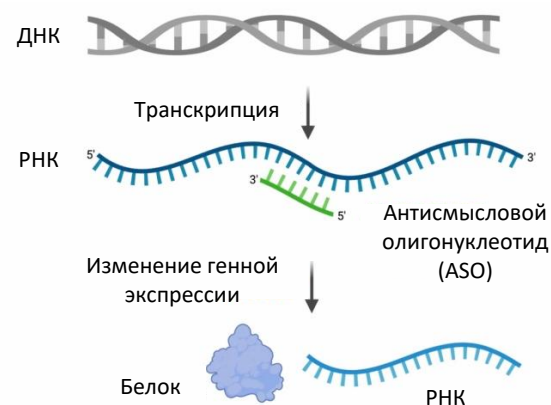


[Веб-сайт WIKIMEDIA COMMONS](#)

РНК-интерференция



[Веб-сайт MICROBIOLOGY NOTES](#)

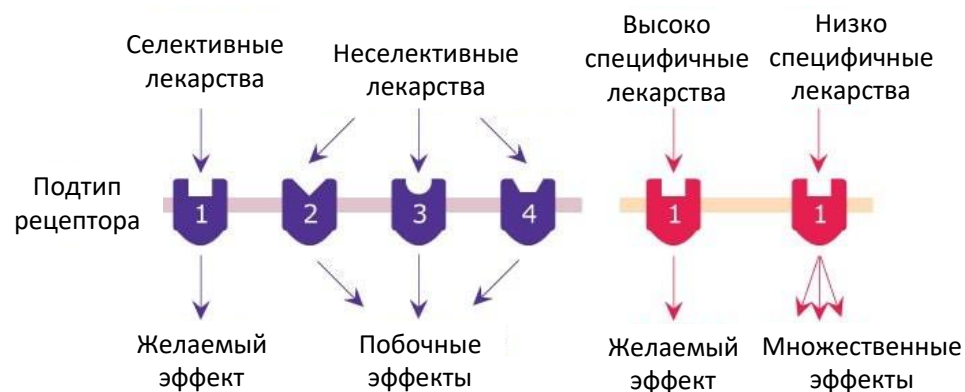


[Веб-сайт MiSciWriters](#)

Антисмысловые олигонуклеотиды как лекарственный препарат

Нанотехнологии в терапии

Идеальное лекарство должно быть селективным и специфичным



[Веб-сайт Sigma-Aldrich](#)

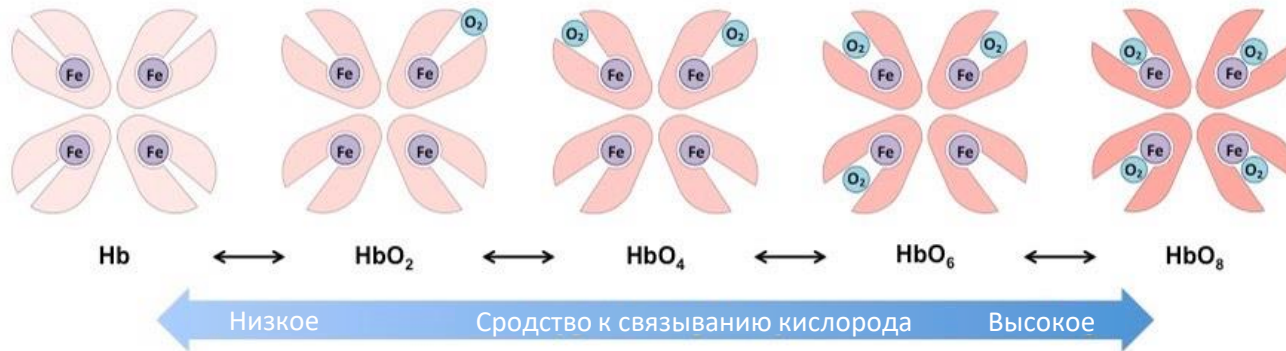
ДНК Нанотехнологии в терапии



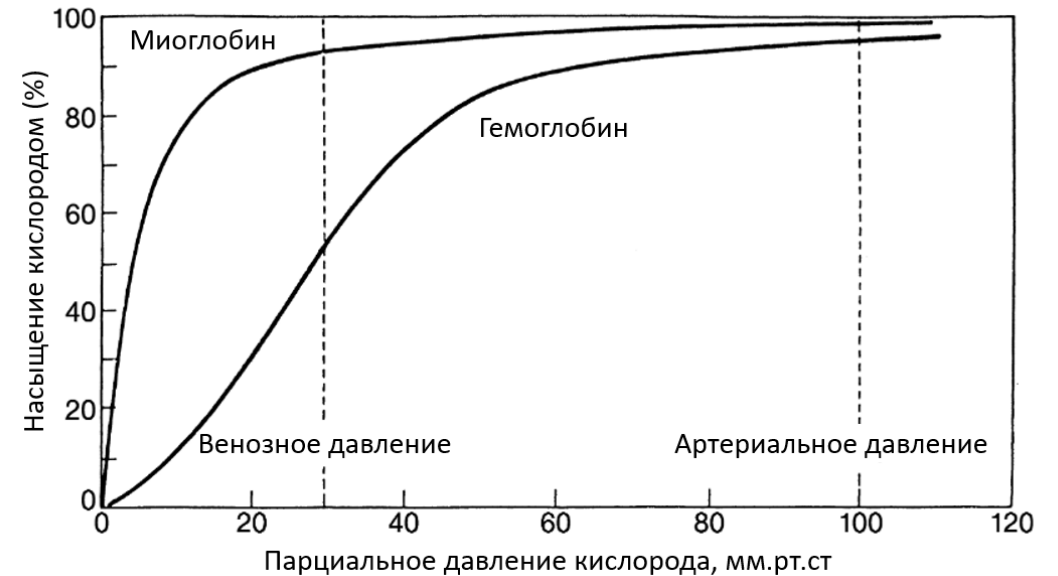
[Chen, 2018](#)

Явление кооперативности

Кооперативное связывание кислорода гемоглобином



[Веб-сайт BioNinja](#)



n – число сайтов

связывания;

$[R]_0$ – начальная
концентрация рецептора;

$[L]$ – концентрация
свободного лиганда;

$[L]_{\text{bound}}$ – концентрация
связанного лиганда;

F – доля связывания.

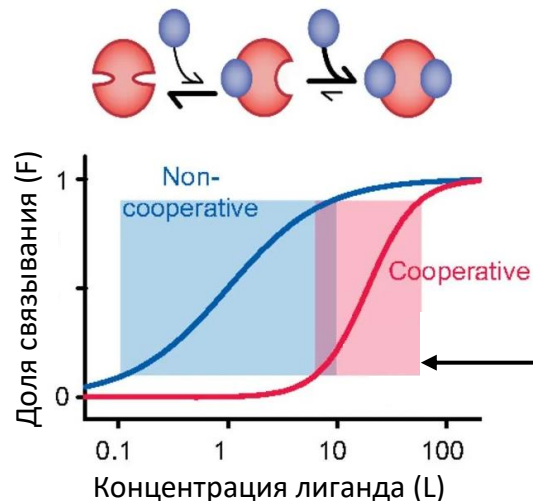
Уравнение Хилла

$$nL + R \xrightleftharpoons[k_-]{k_+} L_nR$$

$$F = \frac{[L]_{\text{bound}}}{n[R]_0} = \frac{[L]^n}{K_d + [L]^n}$$

Чем ниже $L(0.9/0.1)$, тем
выше кооперативность

$$L_{0.9/0.1} = \frac{L(F = 0.9)}{L(F = 0.1)}$$



[Simon, 2014](#)

Цель и задачи работы

Цель работы:

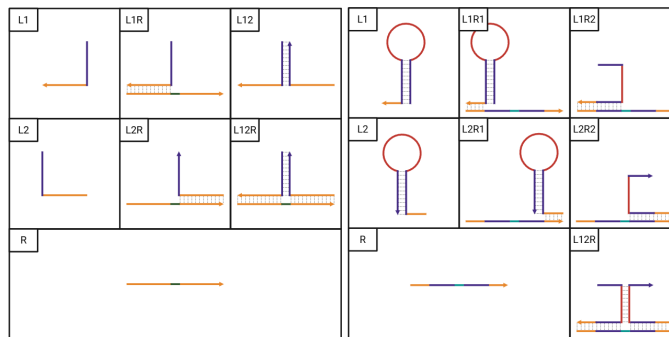
Разработка и исследование усовершенствованных систем регуляции экспрессии генов на основе олигонуклеотидных последовательностей, способных к кооперативным взаимодействиям, и тестирование таких систем экспериментальными методами.

Задачи:

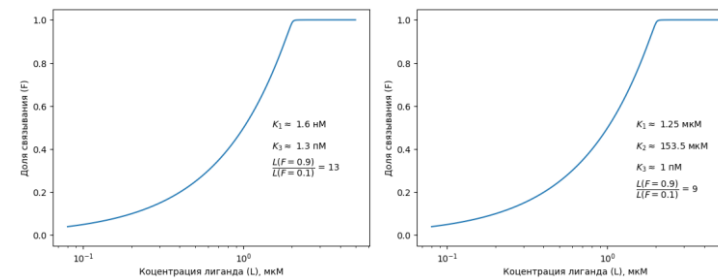
1. Предложить ряд молекулярных систем на основе олигонуклеотидов, при взаимодействии которых проявляются эффекты кооперативности, и провести теоретический анализ методами молекулярного моделирования и химической кинетики поведения данных систем;
2. На основе теоретического анализа разработать систему взаимодействующих олигонуклеотидов, проявляющих эффект кооперативности в заданных диапазонах концентраций и при заданных условиях;
3. Проверить способность спроектированных олигонуклеотидов *in vitro* к кооперативному взаимодействию.

Общий план работы

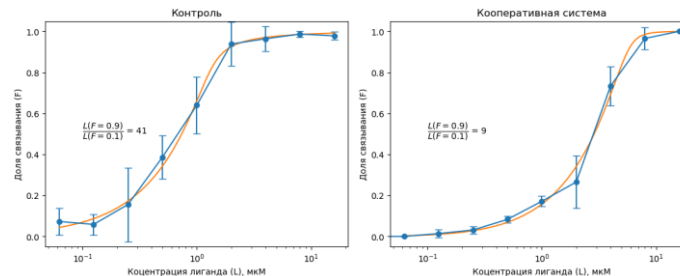
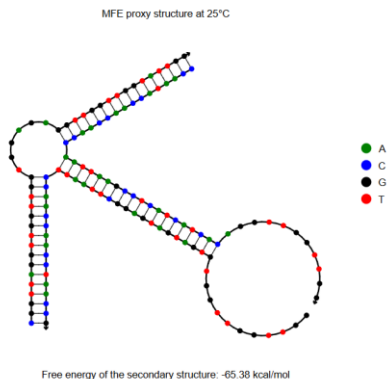
Системы олигонуклеотидов



Поиск наибольшей кооперативности



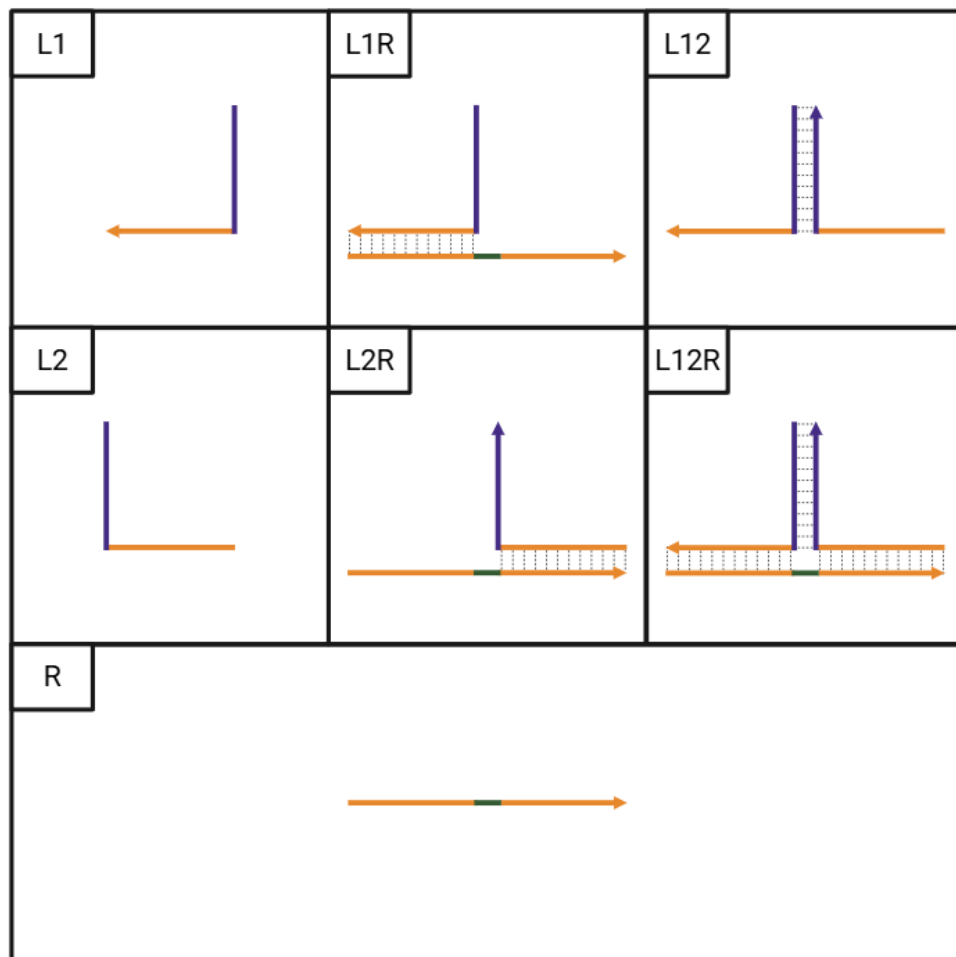
Дизайн олигонуклеотидов



Экспериментальное тестирование

Анализ кинетики поведения систем олигонуклеотидов

Олигонуклеотидные взаимодействия в системе

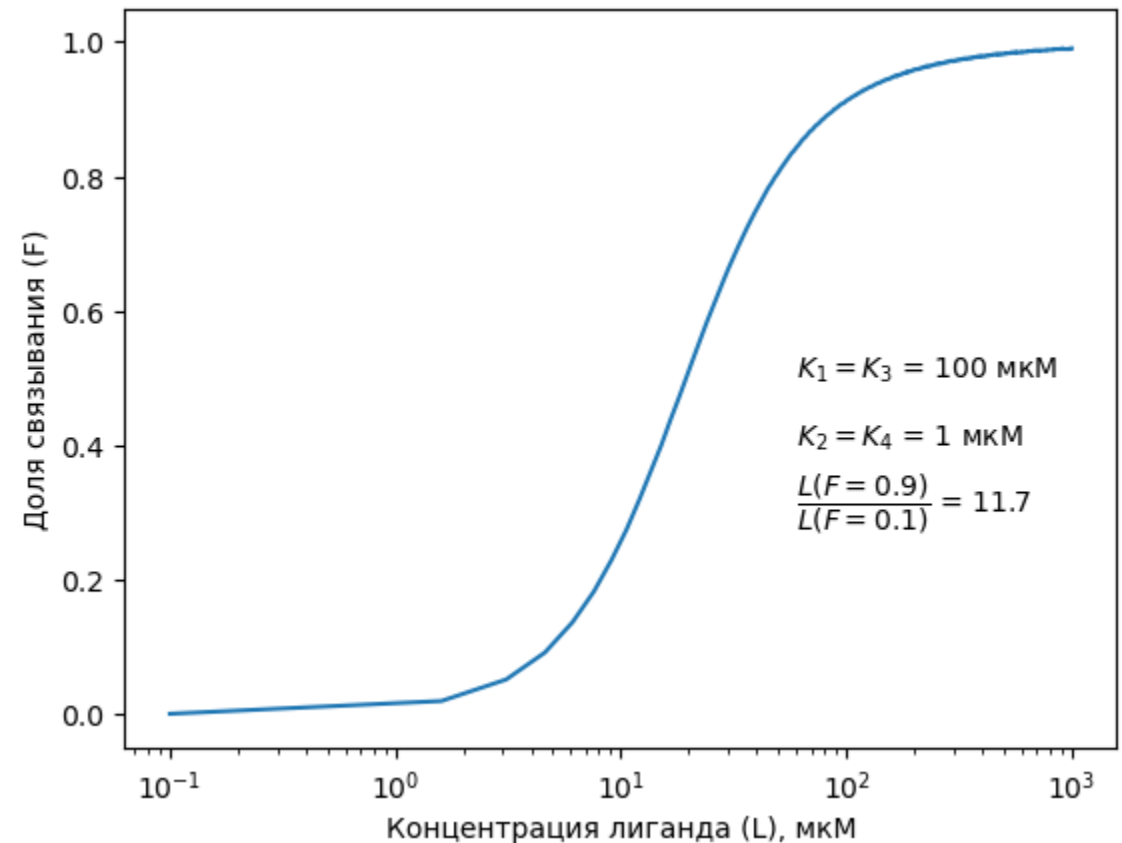
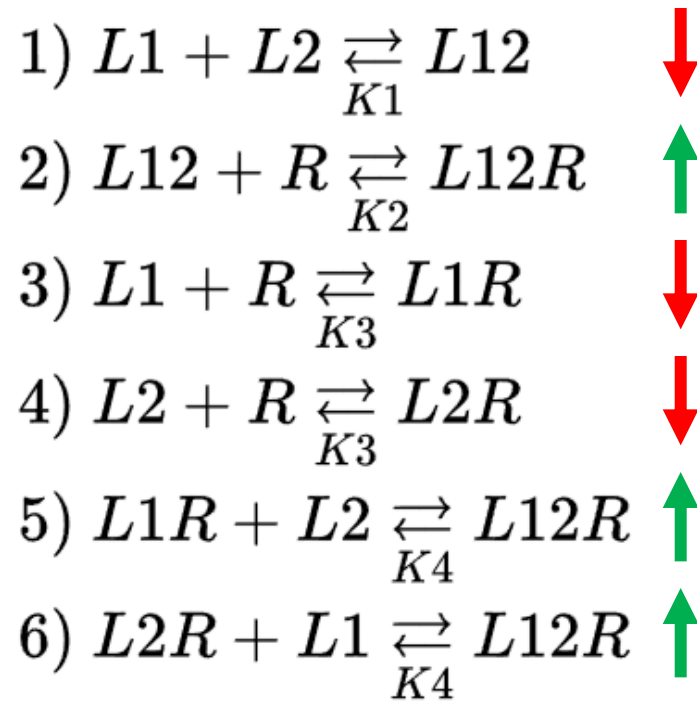


Уравнения, описывающие систему олигонуклеотидов

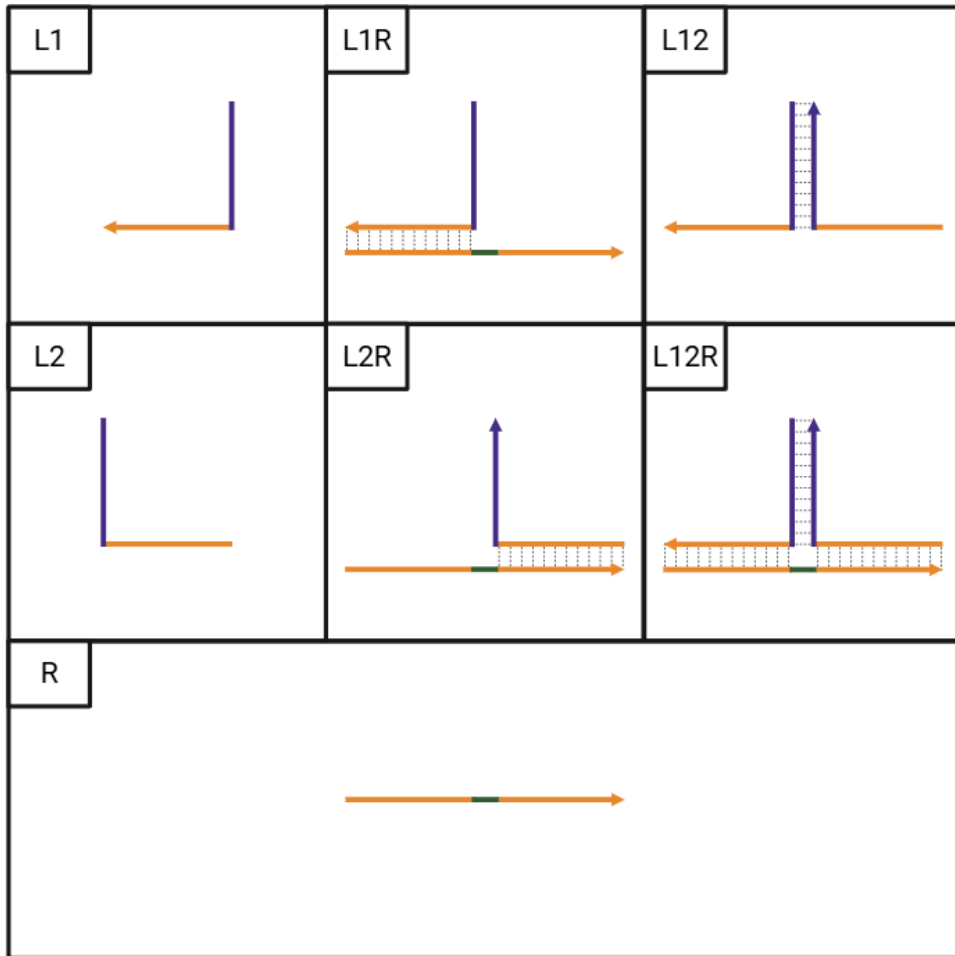
- 1) $L1 + L2 \xrightleftharpoons{K1} L12$
- 2) $L12 + R \xrightleftharpoons{K2} L12R$
- 3) $L1 + R \xrightleftharpoons{K3} L1R$
- 4) $L2 + R \xrightleftharpoons{K3} L2R$
- 5) $L1R + L2 \xrightleftharpoons{K4} L12R$
- 6) $L2R + L1 \xrightleftharpoons{K4} L12R$

Эффект кооперативности в системе олигонуклеотидов

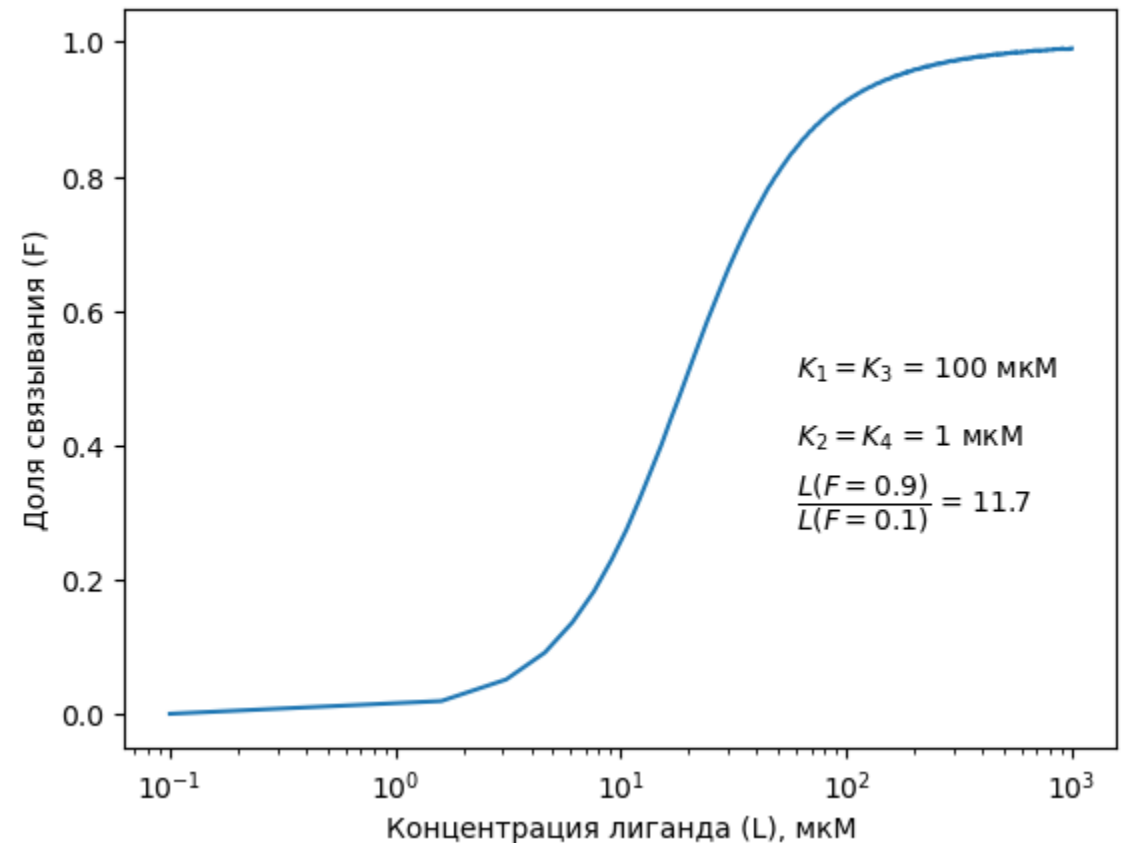
Кривая связывания R L1 и L2 для случая наибольшего эффекта кооперативности



Эффект кооперативности в системе олигонуклеотидов

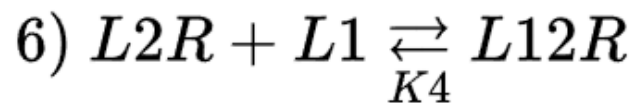
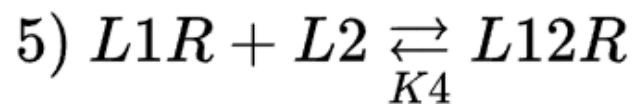
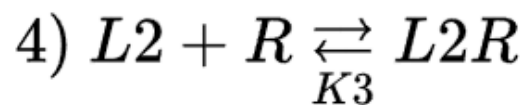
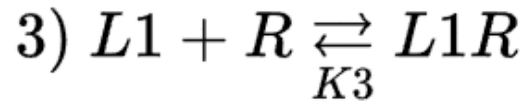
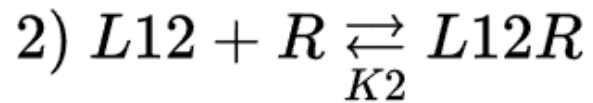
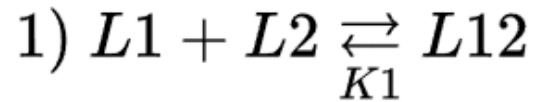


Кривая связывания R L1 и L2 для случая наибольшего эффекта кооперативности

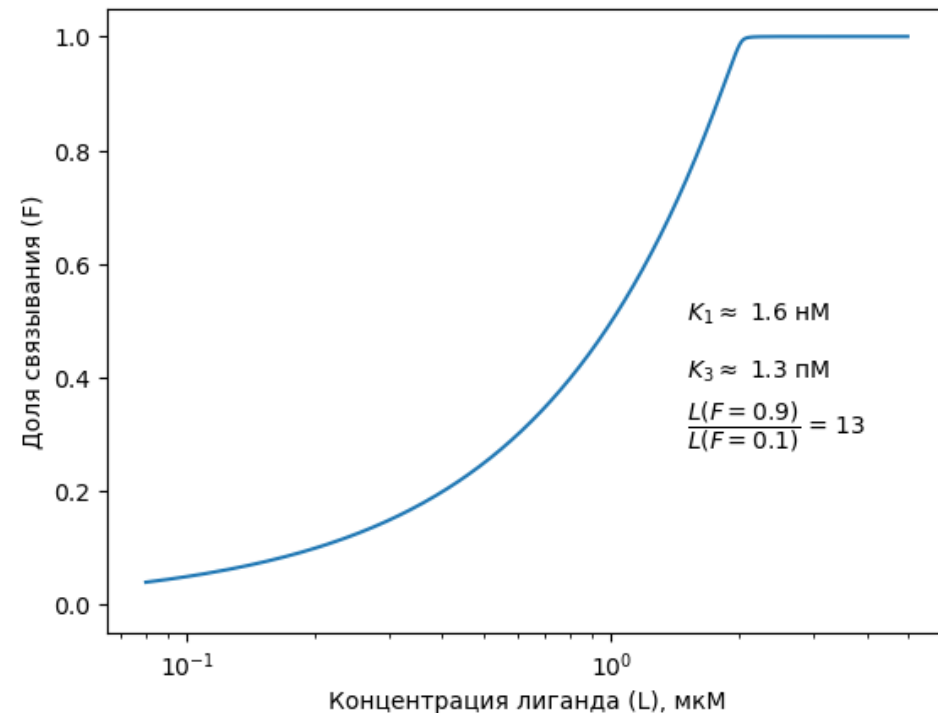


Эффект кооперативности в системе олигонуклеотидов

Эффект кооперативности наблюдается при низких значениях K_1 и K_3 , причем $K_1 > K_3$

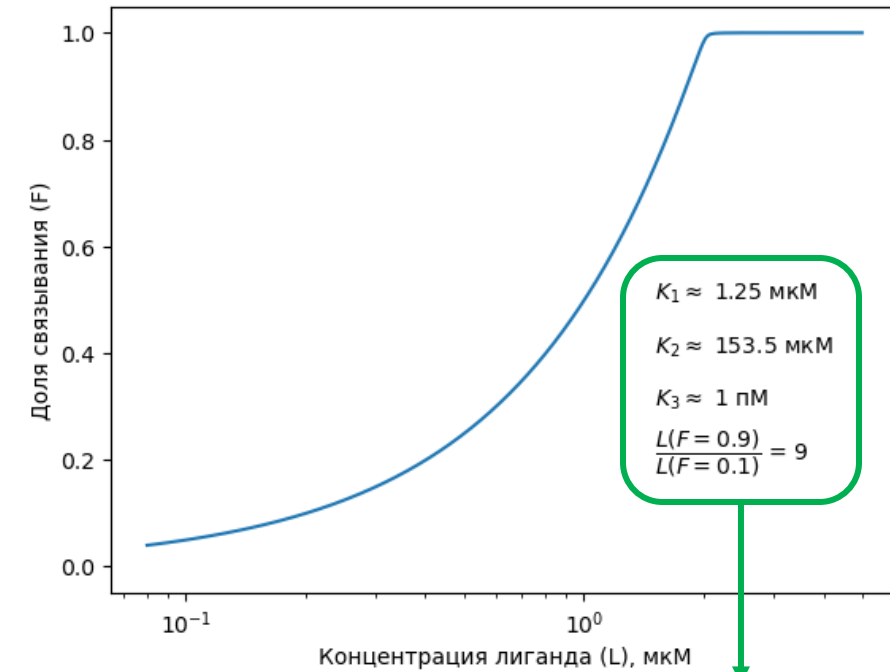
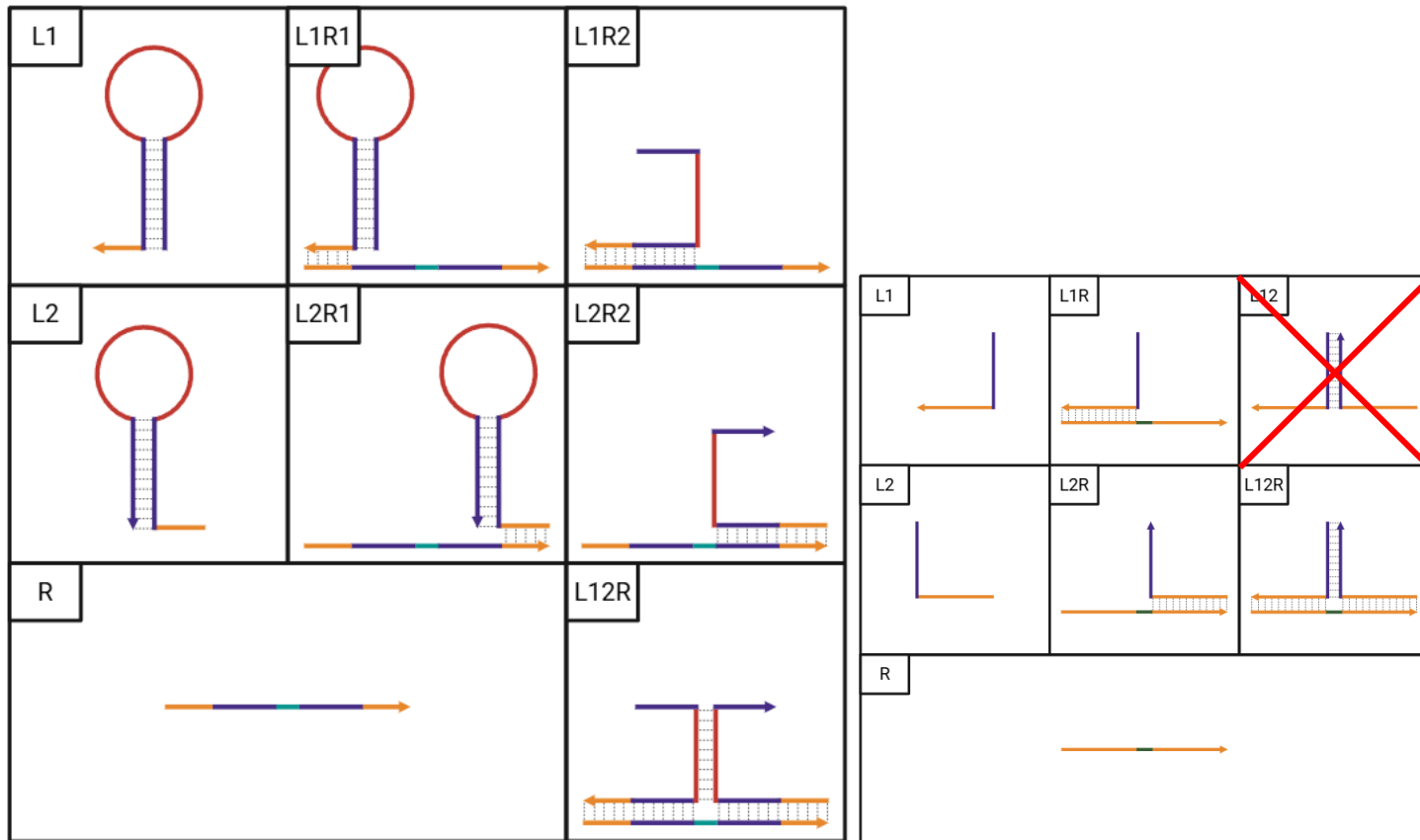


$$+ \begin{aligned} K_2 &= K_3^2 \\ K_4 &= K_1 * K_3 \end{aligned}$$



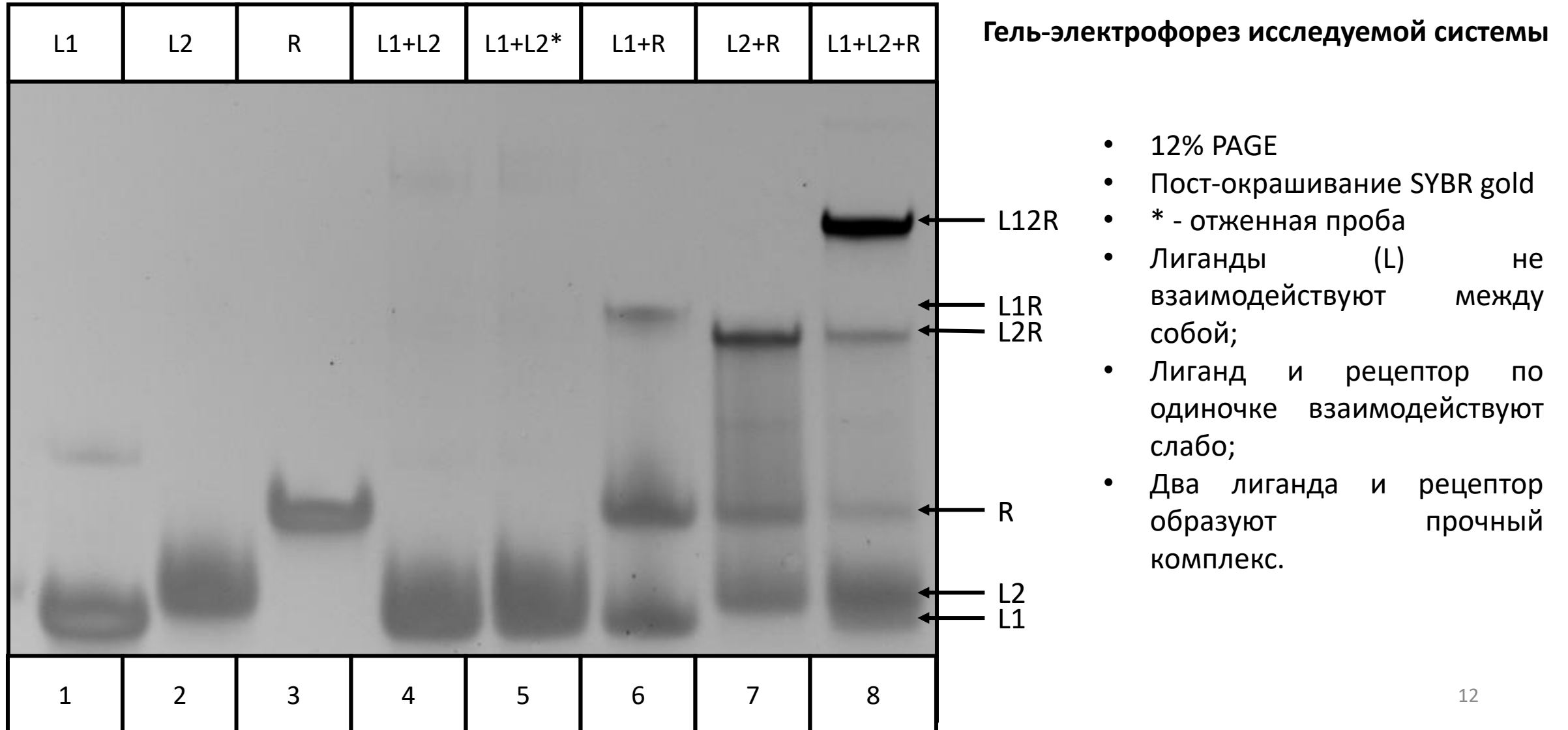
Дизайн олигонуклеотидов с усиленным эффектом кооперативности

Олигонуклеотидные взаимодействия в системе



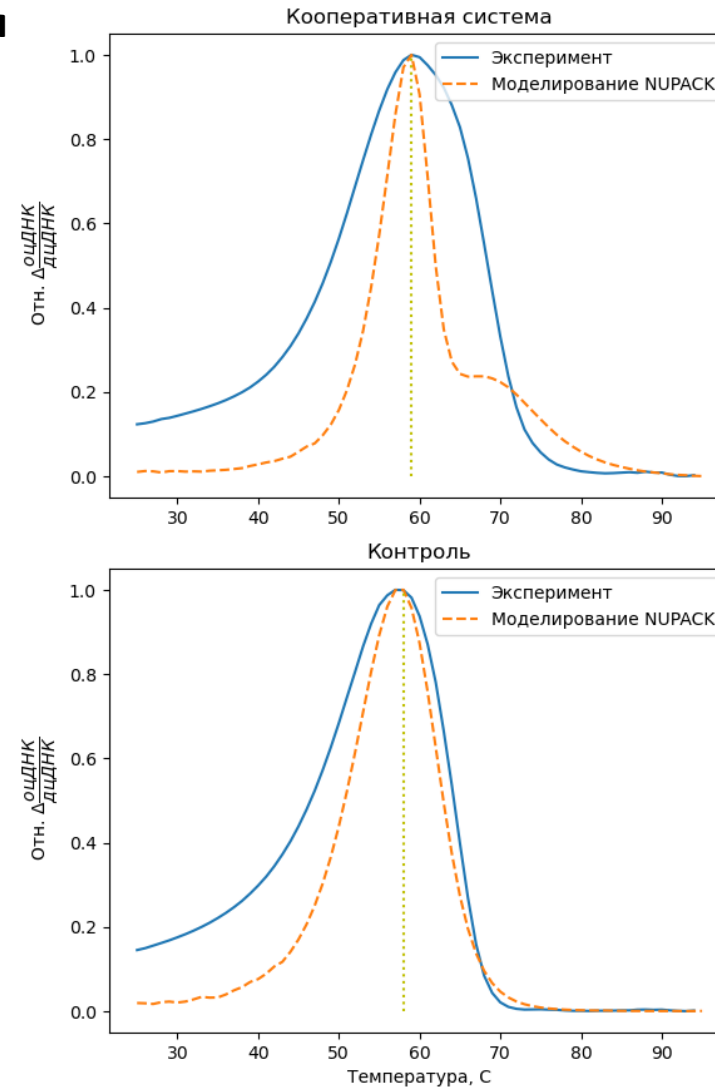
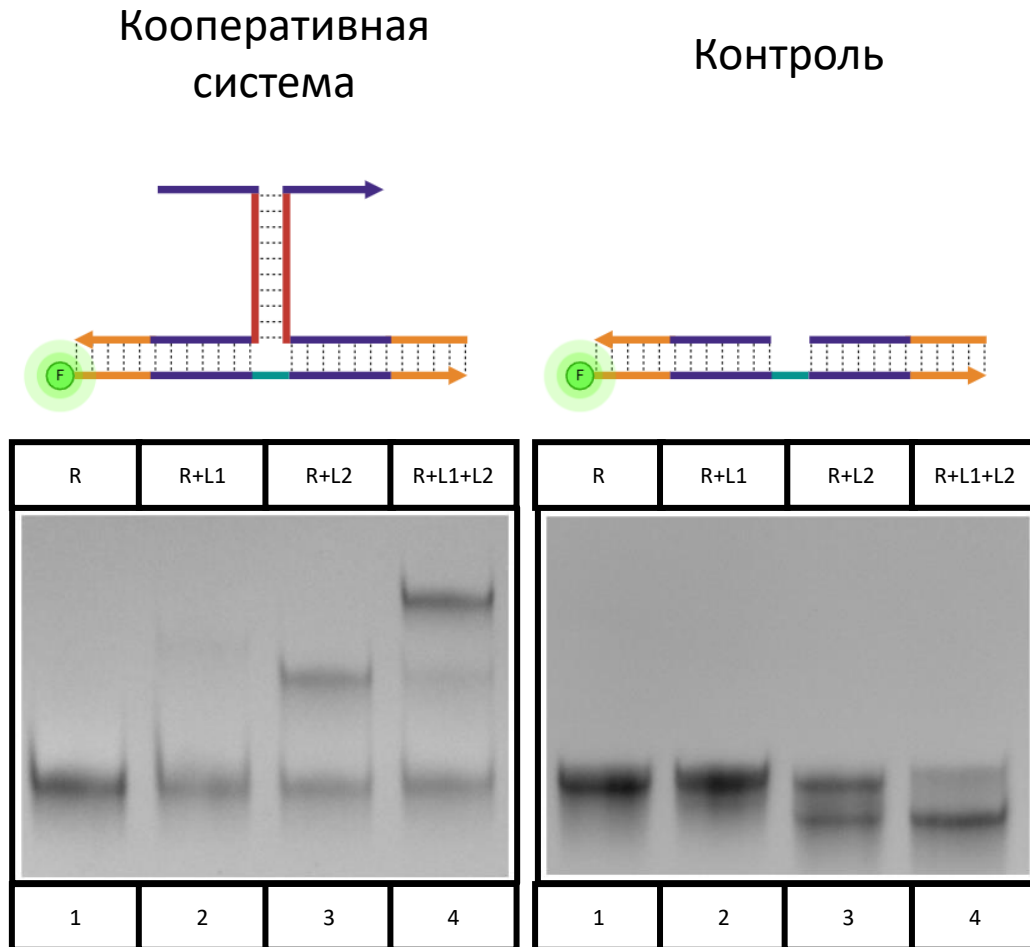
Параметры
смоделированной
системы
олигонуклеотидов в
NUPACK

Анализ поведения системы олигонуклеотидов

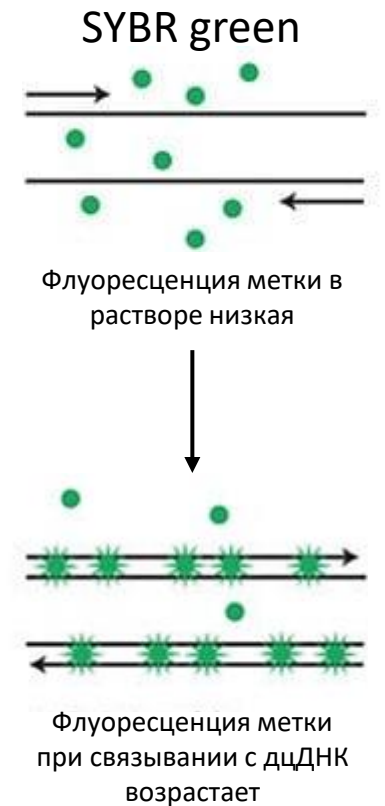


Анализ поведения системы олигонуклеотидов

Гель-электрофорез исследуемой системы и контроля

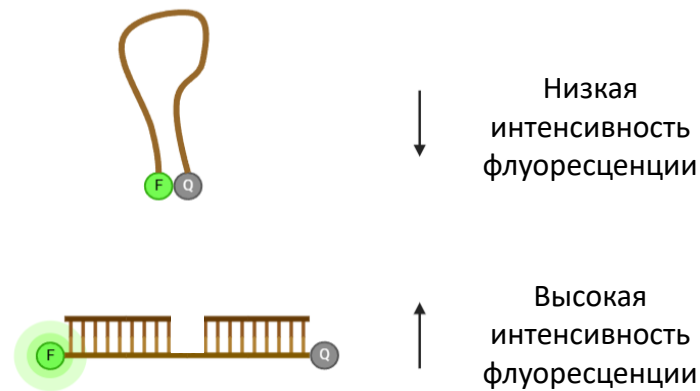


Кривые плавления исследуемой системы и контроля

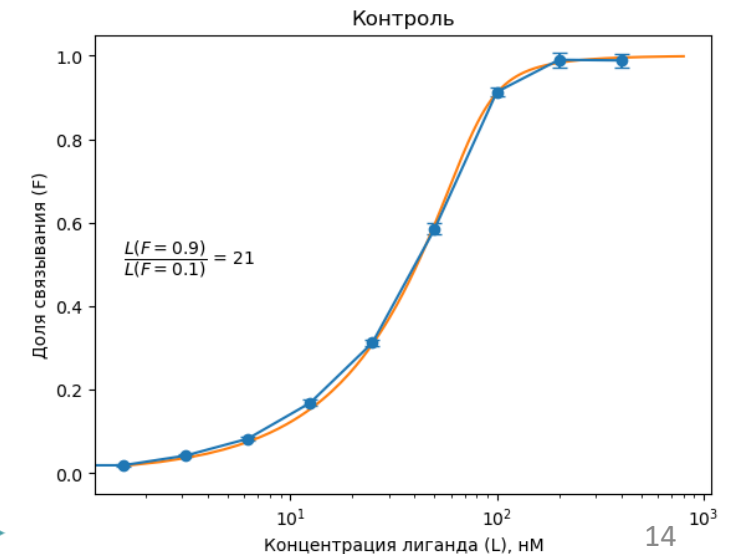
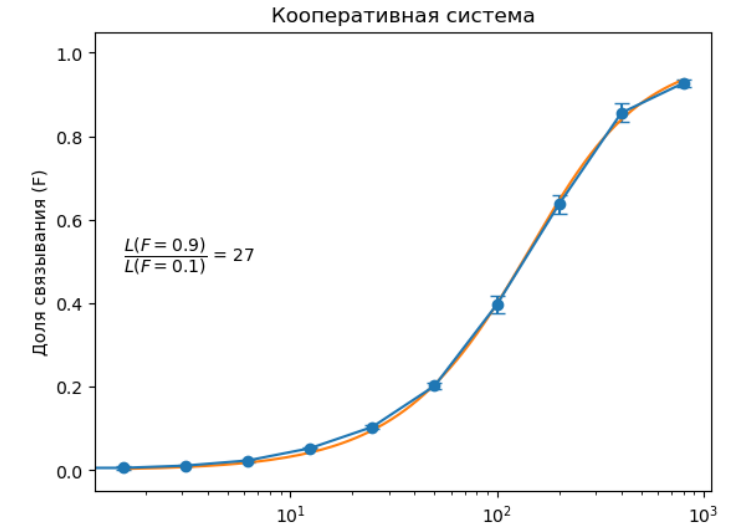
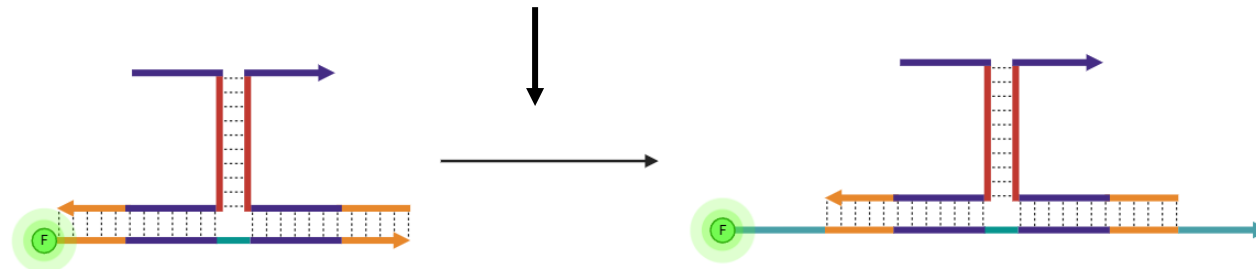


Анализ кинетики связывания лиганда с рецептором

Экспериментальные кривые связывания исследуемой системы и контроля

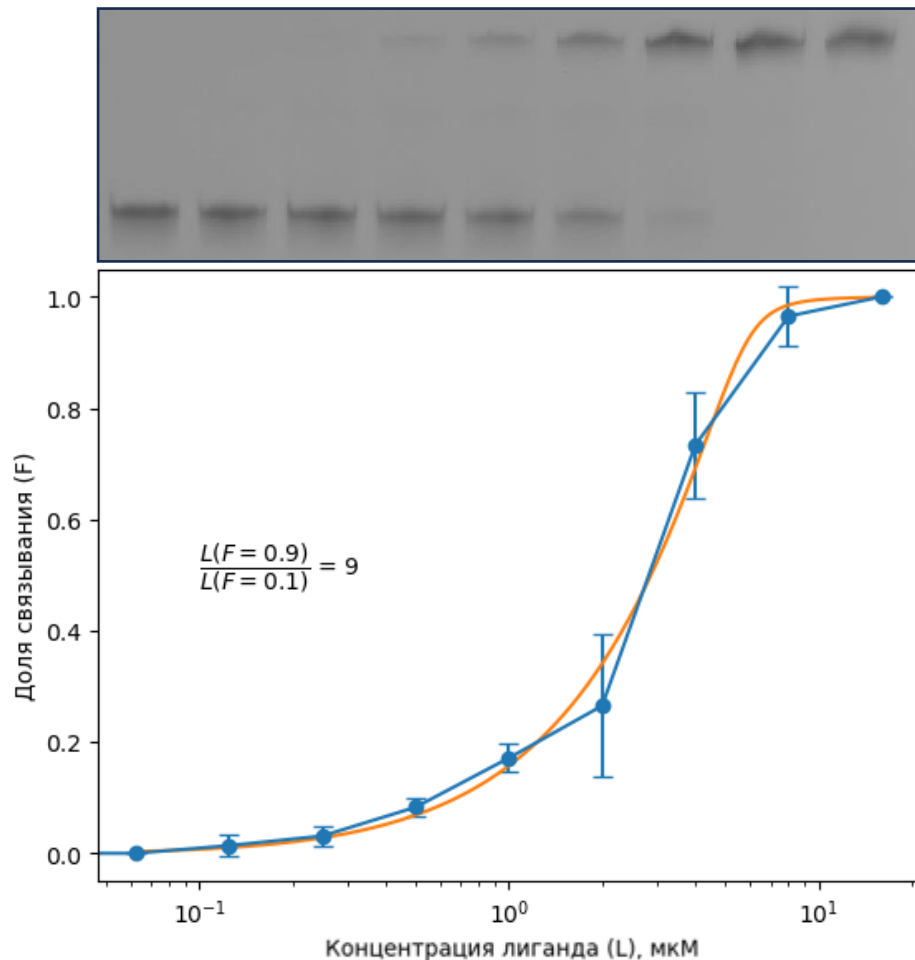


Кооперативный эффект тестируемой системы и контроля практически совпадают, что объясняется кооперативным раскручиванием смежных областей у коротких олигонуклеотидов при гибридизации: Лохов, 1990; Koval, 1999

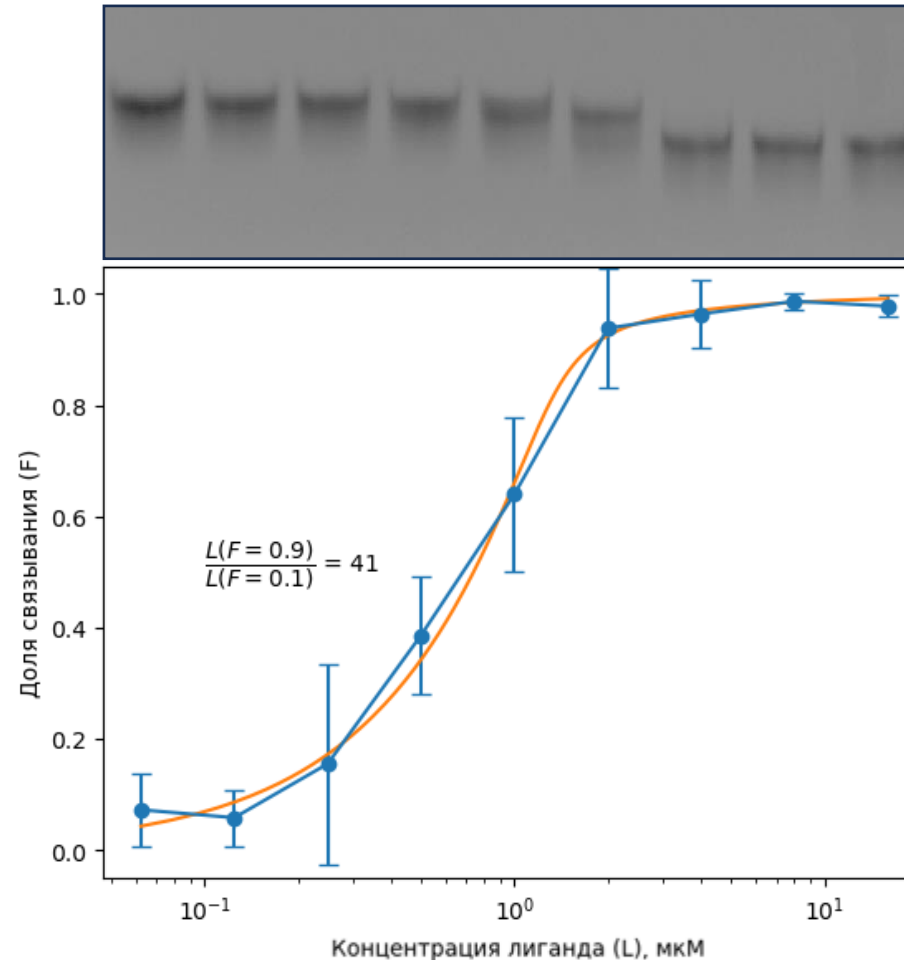


Анализ кинетики связывания лиганда с рецептором

Кооперативная система



Контроль



Кооперативный эффект исследуемой системы значительно превосходит контрольный; При этом наблюдаемый эффект сильнее, чем измеренный с короткой цепью R, что может быть связано с большей гибкостью длинной матрицы
[Rao, 2014](#)

Выводы

- Был проведен теоретический анализ двух молекулярных систем на основе олигонуклеотидов, при взаимодействии которых проявляются эффекты кооперативности;
- На основе проведенного анализа была разработана система олигонуклеотидов, проявляющих кооперативные эффекты в заданном диапазоне концентраций и условий среды;
- Спроектированные олигонуклеотиды были проверены *in vitro* к кооперативному взаимодействию.