**Создание библиотеки нуклеиновых кислот, оптимальной для отбора ДНК-аптамеров к низкомолекулярным соединениям**

***Субач М.Ф.***

*Студент, 6 курс специалитета*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,*

*Химический факультет, Москва, Россия*

*E–mail:* *maksim.subach@chemistry.msu.ru*

Разработка высокоспецифичных и аффинных ДНК-аптамеров к малым молекулам представляет собой сложную задачу, имеющую важное значение для биомедицины, аналитической химии и биотехнологии. В отличие от классического SELEX, где отбор осуществляется за счет многократных циклов связывания и элюции, Capture SELEX предлагает принципиально иной подход, позволяющий отбирать аптамеры с высокой специфичностью к малым молекулам [1, 2].

В настоящей работе рассматривается процесс отбора аптамеров к малым молекулам двух типов: (1) молекулы среднего размера (~20 нм), представленные кофакторами окислительно-восстановительных реакций NADH, NAD+, NADP+, NADPH, и (2) малые молекулы размером менее 1 нм, представленные соединениями дофаминового ряда. В отличие от традиционного SELEX, Capture SELEX основан на гибридизации ДНК-библиотеки с линкером, содержащим биотин, что позволяет использовать стрептавидиновые магнитные наночастицы или стрептавидиновую смолу для иммобилизации библиотек для отбора аптамеров. При добавлении раствора, содержащего малую молекулу, происходит открепление одноцепочечных последовательностей ДНК в раствор, если энергия связывания с малой молекулой больше энергии гибридизации.

Одним из ключевых преимуществ предложенного метода является возможность отбора аптамеров к крайне малым мишеням, к которым классический SELEX плохо применим из-за того, что иммобилизация малой мишени чаще всего приводит к закрытию важной функциональной группы. Capture SELEX позволяет значительно повысить эффективность отбора за счёт рационального дизайна библиотек и условий селекции.

При стандартном подходе SELEX, из-за небольшого количества отобранных молекул, требовалось более 30 циклов амплификации, что приводило к образованию неспецифичных продуктов, особенно в сложных библиотеках с большим числом последовательностей. Для решения данной проблемы в нашей работе использовалась эмульсионная ПЦР, что позволило значительно повысить специфичность амплификации и избежать образования побочных продуктов.

Кроме того, были оптимизированы условия асимметрического ПЦР для получения одноцепочечных ДНК, необходимых для следующих раундов отбора. Данный этап играет критически важную роль, так как только одноцепочечные олигонуклеотиды способны эффективно взаимодействовать с мишенью при последующих циклах Capture SELEX.

**Литература**

1. McKeague M., DeRosa M. C. Challenges and opportunities for small molecule aptamer development // Journal of nucleic acids. 2012. Vol. 2012. №. 1. P. 748913.

2. Yu H. et al. Advances and challenges in small‐molecule DNA aptamer isolation, characterization, and sensor development // Angewandte Chemie International Edition. 2021. Vol. 60. №. 31. P. 16800-16823.