

Биоконъюгаты: ПЦР-диагностика, генная терапия и не только

Лаборатория химии биоконъюгатов (ЛХБК) Института физико-органической химии НАН Беларуси возникла как центр разработки синтетических олигонуклеотидов для нужд молекулярной диагностики в 2011 г. Первые проекты были связаны с созданием праймеров и зондов для ПЦР-исследований, что позволило внедрить в практику отечественные реагенты для анализа инфекционных заболеваний и генетических маркеров. Со временем направление расширилось, и сегодня ведутся работы не только в области биоаналитики, но и генной терапии, а также тонкого органического синтеза.

Особое внимание уделяется созданию оригинальных химических реагентов для введения флуоресцентных меток в синтетические олигонуклеотиды. Эти метки улучшают фотофизические свойства зондов и повышают чувствительность аналитических методов. Разработанные в лаборатории реагенты по своим характеристикам не уступают, а порой и превосходят известные мировые аналоги. Созданы также уникальные реагенты-линкеры для конъюгации биомолекул, некоторые из них не имеют аналогов.

Работы в области улучшения фотофизических свойств биоконъюгатов сосредоточены на изучении цианиновых красителей и бифлуорофоров флуорес-

цена, свойства которых зависят не только от их химической структуры, но и от характеристик среды: кислотности, температуры, природы растворителя. Флуоресцеин и цианиновые красители, такие как Су3 и Су5, демонстрируют значительные изменения квантового выхода и яркости исходя из протолитических равновесий и микроокружения, что открывает возможности для тонкой настройки их поведения в биосенсорах. Бифлуорофоры обладают более высоким коэффициентом экстинкции по сравнению с мономерными аналогами и сохраняют интенсивность свечения при конъюгации с белками, что делает их перспективными в биомедицинских исследованиях.



Таким образом, ЛХБК работает на пересечении химии, нанотехнологий, биоорганической химии и биомедицины, создавая уникальные инструменты для диагностики и терапии. Наши инновации не только открывают новые горизонты для практического

применения в отечественной биоаналитике, медицине и фармацевтике, но и укрепляют позиции белорусской науки на международной арене.

Яркий пример научных успехов лаборатории – участие в международном исследовании (результаты которого опубликованы в журнале *Nucleic Acids Research*), посвященном системе редактирования генома CRISPR-Cas12a с так называемыми разделенными РНК-олигонуклеотидами.

В классическом варианте направляющая РНК (crRNA), которая управляет ферментом Cas12a, состоит из двух частей: постоянного «каркаса» и переменного «спейсера», отвечающего за распознавание конкретной последовательности ДНК. Мы показали, что эти две части можно синтезировать и применять отдельно – как самостоятельные короткие РНК-олигонуклеотиды. Фермент Cas12a способен с их помощью столь же точно и избирательно расщеплять целевые участки ДНК, как и при использовании полной направляющей РНК.

Это открытие имеет несколько важных следствий. Во-первых, оно демонстрирует гибкость системы и открывает новые возможности для ее применения в генной терапии: короткие синтетические РНК-олигонуклеотиды

проще и дешевле получать в чистом виде, чем длинные цельные молекулы. Во-вторых, разделение направляющей РНК на части позволяет комбинировать один универсальный «каркас» с множеством различных «спейсеров», что делает возможным тонкую настройку системы.

Для лаборатории это достижение особенно значимо, поскольку оно напрямую связано с ее ключевой компетенцией – синтезом модифицированных РНК- и ДНК-олигонуклеотидов. Именно в ЛХБК разработаны технологии получения нестандартных химических модификаций, которые повышают стабильность и функциональность таких молекул. Участие в работе над split crRNA стало подтверждением того, что белорусские ученые способны не только создавать собственные реагенты мирового уровня, но и вносить вклад в развитие передовых направлений геномной инженерии и молекулярной диагностики. Кроме того, это исследование заложило основу системы редактирования митохондриального генома, что позволит получать средства

терапии заболеваний, вызванных мутациями генома митохондрий. Таким образом научные разработки, осуществляемые в лаборатории, находят применение в глобальных проектах, связанных с будущим медицины – от высокочувствительных диагностических тестов до технологий редактирования генома.

Реагенты для введения GalNAc-модификаций в si RNA

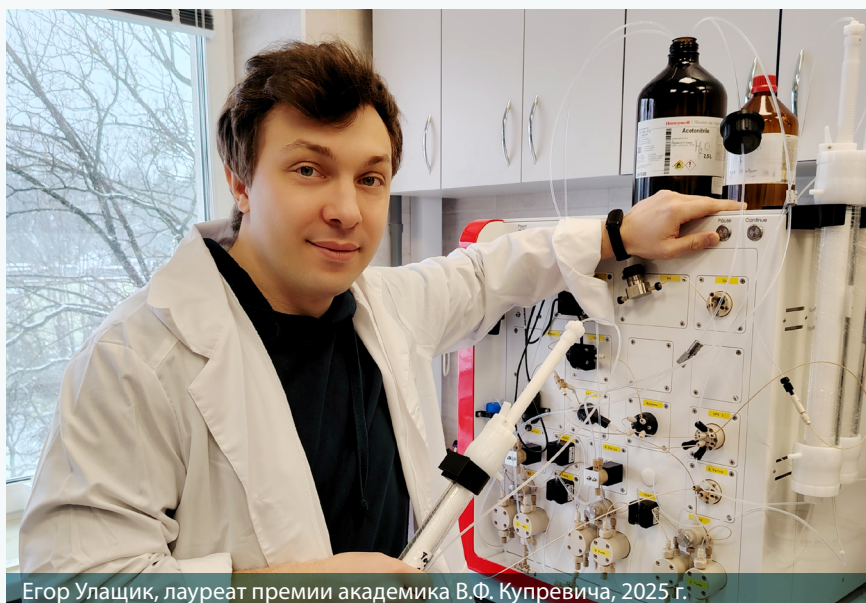
Одним из наиболее значимых направлений работы ЛХБК стало создание реагентов для введения модификаций на основе N-ацетилгалактозамина (GalNAc) в малые интерферирующие РНК (siRNA). Эта технология считается золотым стандартом для доставки терапевтических нуклеиновых кислот в клетки печени.

Идея заключается в том, что GalNAc-кластеры специфически распознаются асиалогликопротеиновыми рецепторами (ASGPR), которые экспрессируются на поверхности гепатоцитов. Благодаря этому siRNA, конъюги-

рованные с GalNAc, эффективно захватываются клетками печени и реализуют свой терапевтический потенциал при очень низких дозах.

Компания Alnylam Pharmaceuticals первой внедрила технологию на базе GalNAc-кластеров в клиническую практику. Их терапевтические препараты Givosiran и Inclisiran показали, что GalNAc-модифицированные siRNA могут быть безопасно и эффективно использованы для лечения наследственных заболеваний печени и сердечно-сосудистых патологий. Эти успехи стали основой целого класса новых лекарственных средств, которые активно исследуются и выводятся на рынок.

Сотрудники ЛХБК разработали собственные реагенты для введения GalNAc-модификаций в синтетические олигонуклеотиды. В отличие от классических подходов, где GalNAc-кластеры вводятся через ограниченный набор линкеров, нами представлена серия оригинальных химических соединений, позволяющих варьировать структуру и плотность углеводных фрагментов. Это дает возможность тонко регулировать баланс между стабильностью, биодоступностью и эффективностью доставки. Результаты испытаний показали, что данные реагенты по эффективности не уступают мировым аналогам, в том числе компании Alnylam. При этом сгенерированные нашими учеными оригинальные мономерные блоки позволяют оперативно конструировать сложные мультивалентные системы как в процессе автоматического синтеза, так и при постсинтетической модификации, делая создание терапевтических конструкций более быстрым и гибким.



Егор Улащик, лауреат премии академика В.Ф. Купревича, 2025 г.

Таким образом, лаборатория не только подтвердила возможность воспроизведения ключевых мировых технологий, но и предложила собственные решения, расширяющие потенциал GalNAc-модифицированных siRNA. Это открывает перспективы выпуска отечественных препаратов на основе РНК-терапии, конкурентоспособных на международном рынке.

Одно из стратегических направлений работы ЛХБК – создание технологии синтеза модифицированных нуклеозидтрифосфатов (нтф) – ключевых строительных блоков для работы ферментов, синтезирующих нуклеиновые кислоты. Эти соединения применяются в самых разных областях: от фундаментальных исследований до медицинской диагностики и терапии.

В традиционных биотехнологических подходах нуклеозидтрифосфаты получают с использованием ферментов бактерий *E.coli*. Однако такой метод сопряжен с риском контаминации продукта остаточной бактериальной ДНК, что критично в отношении пре-

паратов для терапии и высокоточной диагностики.

Разработанная в ЛХБК технология основана на чисто химическом синтезе модифицированных нуклеозидтрифосфатов. Это принципиально исключает возможность попадания бактериальной ДНК в конечный продукт и обеспечивает высочайший уровень чистоты реагентов. Такой подход не только гарантирует безопасность и воспроизводимость результатов, но и открывает путь к созданию новых типов модифицированных нуклеотидов, которые невозможно получить биотехнологическими методами. По сути, лаборатория предложила решение одной из ключевых проблем современной молекулярной биологии – обеспечение чистоты и надежности исходных реагентов для диагностики и терапии.

ЛХБК реализует несколько перспективных проектов, один из которых связан с разработкой разветвленных олигонуклеотидов особой структуры, способных эффективно распространяться по нервной ткани и использоваться

для лечения неврологических заболеваний.

Классические линейные олигонуклеотиды обладают ограниченной проникающей способностью: они плохо диффундируют в плотных тканях и быстро подвергаются деградации. Разветвленные структуры, напротив, обеспечивают более равномерное распределение и демонстрируют повышенную устойчивость к нуклеазам, что делает их особенно перспективными для доставки терапевтических молекул в головной и спинной мозг.

Примером служат изыскания профессора А. Хворовой из UMass Chan Medical School (США), показавшей, что разветвленные олигонуклеотиды могут использоваться для коррекции экспрессии генов, связанных с нейродегенеративными процессами. В работах ученой описаны конструкции, способные проникать в клетки нервной ткани и сохранять активность в течение длительного времени, что открывает возможности для терапии таких недугов, как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз и другие патологии центральной нервной системы.

Совместные исследования с коллегами из Красноярска направлены на получение нового класса терапевтических олигонуклеотидов, объединяющих химическую стабильность, высокую биодоступность и способность к распространению в сложных тканевых матрицах. В лаборатории разрабатываются оригинальные реагенты-линкеры для синтеза таких разветвленных структур, а также методы их модификации для повышения эффективности взаимодействия с клеточными мишенями. То есть текущая работа лаборатории ориентирована на получение молекул,



Егор Улащик и Вадим Шманай с делегацией из КНР в ИФОХ НАН Беларуси

которые могут стать основой для новых терапевтических средств против неврологических заболеваний, где традиционные подходы пока не дают достаточного эффекта.

С 2026 г. начинается международное сотрудничество в рамках конкурса «БРФФИ-РНФ» с Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), в рамках которого планируется создать высокотехнологичную платформу, позволяющую управлять свойствами малых интерферирующих РНК с помощью химических и структурных модификаций. Для этого будут задействованы оригинальные разработки авторов проекта: новые химические модификации, сокращающие до минимума использование токсичных фосфотиоатов, и новые патентно-чистые компоненты для синтеза транспортных молекул.

ЛХБК также планирует представить технологию синтеза интеркалирующих красителей, применяемых для количественного определения ДНК и РНК и позволяющих точно измерять содержание нуклеиновых кислот в образцах, что критически важно для диагностики инфекционных заболеваний, мониторинга качества биопрепаратов и проведения фундаментальных исследований в области геномики.

Не менее значимо создание флуоресцентных терминаторов для четырехцветного секвенирования ДНК, что востребовано как в научных исследованиях, так и в клинической практике – от персонализированной медицины до эпидемиологического контроля.

Важное место занимают разработки FISH-зондов (fluorescence *in situ* hybridization) для визуализации конкретных участков хромосом и РНК прямо в клетках

при диагностике онкологических заболеваний, генетических нарушений и вирусных инфекций, позволяющие врачам и исследователям буквально увидеть молекулярные процессы внутри живых систем.

Отдельное направление связано с дизайном структуры и синтезом липидов для сборки липидных наночастиц (LNP) – ключевых компонентов современных мРНК-вакцин, аналогичных представленным компаниями Pfizer и Moderna для борьбы с COVID-19. Липидные наночастицы обеспечивают защиту матричной РНК от разрушения и ее эффективное проникновение в клетки, что делает возможным реализацию терапевтического эффекта.

Особую значимость приобретает тот факт, что в лаборатории разработаны собственные технологии синтеза нуклеозидтрифосфатов и CAP-структур, необходимых для получения матричных РНК. Это означает, что в Беларуси в краткосрочной перспективе появится полный набор отечественных компонентов для производства мРНК-вакцин – от исходных химических реагентов до систем доставки. Такой комплексный подход открывает возможности для создания национальных биотехнологических решений, независимых от импорта и способных конкурировать на международном уровне.

По данному направлению лаборатория сотрудничает с коллегами с биологического факультета Белорусского государственного университета, что позволяет объединить химическую экспертизу с биологическими и медицинскими исследованиями. Совместные проекты нацелены на разработку новых платформ для вакцин и терапевтических препаратов, которые могут быть вос-

требованы не только в Беларуси, но и за ее пределами.

В ЛХБК синтезированы избирательно модифицированные дейтерием биомолекулы – аминокислоты, нуклеиновые кислоты и полиненасыщенные жирные кислоты. Эти соединения демонстрируют ярко выраженный кинетический изотопный эффект, который приводит к многократному замедлению нежелательных биохимических реакций, связанных с патологическими процессами. Особенно перспективными оказались дейтерированные полиненасыщенные жирные кислоты (D-PUFA). В обычных ПНЖК наиболее уязвимыми являются бис-аллильные позиции, где легко запускаются цепные реакции перекисного окисления липидов. Замена атомов водорода на дейтерий в этих позициях делает молекулы значительно более устойчивыми к окислительному стрессу. В результате мембраны клеток менее подвержены разрушению, а процессы, связанные с повреждением липидов, замедляются.

Исследования российского ученого М. Щепинова и его коллег (в том числе из нашей лаборатории) показали, что даже частичное (около 20%) включение дейтерированных ПНЖК в состав мембран способно существенно подавлять цепные реакции липидного перекисления. Такой подход отличается от традиционного применения антиоксидантов: вместо нейтрализации свободных радикалов он предотвращает саму возможность их возникновения и разрушительного распространения.

Использование дейтерированных биомолекул открывает новые возможности для регулирования жизненно важных физиологических процессов и борьбы с патологиями, связанными с окисли-

тельным стрессом. Это направление объединяет фундаментальную органическую химию, биофизику мембран и прикладную биомедицину, формируя основу для будущих терапевтических решений (основной причиной старения являются процессы, вызванные липидным перекислением).

Таким образом, прикладные разработки ЛХБК охватывают широкий спектр современных молекулярных биомедицинских технологий – от диагностики и секвенирования до создания терапевтических систем на основе РНК. Это делает лабораторию одним из ключевых игроков в области биоконъюгатов и биомолекулярной инженерии, а ее достижения формируют основу для будущего отечественной биомедицины.

Перспектива видится нам в поступательном развитии уже заложенных направлений, совершенствовании технологий синтеза олигонуклеотидов, модифицированных нуклеотидов и систем доставки. Не менее важен аспект укрепления школ тонкого органического синтеза и биоорганической химии, которые формируются вокруг лаборатории. Подготовка молодых специалистов, вовлечение студентов и аспирантов в реальные исследовательские проекты обеспечат преемственность и устойчивость научных результатов.

Лаборатория активно сотрудничает с коллегами из Беларуси и зарубежных научных центров, и в будущем международные контакты будут расширяться. Это позволит не только обмениваться опытом и технологиями, но и включать белорусскую науку в глобальные проекты по молекулярной диагностике и РНК-терапии. В декабре 2025 г. делега-

ция Института физико-органической химии НАН Беларуси во главе с его директором, академиком А.В. Бильдюкевичем посетила Пекинский НИИ аэрокосмических экспериментальных технологий, где состоялось торжественное открытие совместной китайско-белорусской международной лаборатории перспективных химических материалов, образованной на базе ЛХБК. Стороны обсудили содержание договора о научном сотрудничестве, а также заключение контрактов на выполнение заказных работ, касающихся технологий синтеза новых перспективных соединений. Будущее лаборатории связано не столько с громкими прорывами, сколько с последовательным развитием научной школы, подготовкой нового поколения ученых и укреплением международного сотрудничества. Именно это создает основу для долгосрочного вклада в биомедицину и инновации в различных сферах.

Государство в меру возможностей поддерживает материально-техническую базу лаборатории и помогает с приобретением оборудования для научных исследований, что способствует их проведению на достаточно высоком уровне. Вместе с тем для дальнейшего прогресса крайне важно приобретение наноассемблера – прибора для микрофлюидного формирования липидных наночастиц. Кроме того, наличие современных реакторов и хроматографов позволило бы более эффективно синтезировать и выделять сложные и дорогостоящие соединения, что существенно укрепило бы потенциал лаборатории в решении прикладных и фундаментальных задач. Но самая острая проблема ЛХБК, равно как и всех химиков-органиков страны – отсутствие современной

ЯМР-спектрометрии. В Беларуси функционирует лишь один прибор, который до сих пор сохраняется в рабочем состоянии благодаря профессионализму и самоотверженности высококвалифицированных операторов, так как ему уже 20 лет, что в 5 раз больше стандартных сроков эксплуатации. Между тем именно ЯМР-спектроскопия является единственным надежным методом для установления структуры синтезированных органических соединений. Без нее невозможно подтвердить подлинность полученных структур, а значит, под угрозой оказываются все изыскания в данной области. Если существующий прибор выйдет из строя, это станет серьезным ударом по научным разработкам в стране: фактически будет парализована работа целого направления, от фундаментальных исследований до прикладных проектов в биомедицине и фармацевтике. Поэтому приобретение новых ЯМР-спектрометров (одного прибора явно недостаточно) – не просто техническая необходимость, а стратегический шаг, без которого невозможно дальнейшее развитие всей белорусской органической химии. ■

Ольга Шарко,
ведущий научный сотрудник лаборатории
химии биоконъюгатов Института
физико-органической химии
НАН Беларуси, кандидат химических наук

Егор Улащик,
старший научный сотрудник лаборатории
химии биоконъюгатов ИФОХ
НАН Беларуси, кандидат химических наук

Юлия Бекиш,
старший научный сотрудник лаборатории
химии биоконъюгатов ИФОХ
НАН Беларуси, кандидат химических наук

Вадим Шманай,
завлабораторией химии биоконъюгатов
ИФОХ НАН Беларуси, кандидат
химических наук, доцент