**Оптимизация синтеза модифицированного фосфоротиоатного олигонуклеотида на автоматическом синтезаторе ДНК.**

***Шляпникова Е.С.,1,2 Гудов В.П.,2 Иванов В.Н. 2***

*Студент, 2 курс магистратуры*

*1МИРЭА-Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий им.М.В.Ломоносова, факультет биотехнологии, Москва, Россия*

*2АО «Генериум», Москва, Россия*

*E-mail:* [*esshlyapnikova@generium.ru*](mailto:esshlyapnikova@generium.ru)

Актуальной проблемой современности в области медицины, лекарственных препаратов и биоинженерии является увеличенная распространённость лечения наследственных заболеваний. Для проведения успешной терапии таких заболеваний как мышечная дистрофия Дюшенна, транстиретиновая семейная амилоидная полинейропатия всё более широко используются препараты на основе антисмысловых олигонуклеотидов [1].

В рамках практической работы была поставлена цель подбора наиболее оптимальных условий проведения синтеза модельного олигонуклеотида твердофазным фосфороамидитным методом с использованием различных реагентов и условий на автоматическом синтезаторе ДНК Oligopilot 100.

Для получения целевого олигонуклеотида с наименьшим количеством критических примесей таких как: n-1, n+1, P=O выполняли оптимизацию синтеза на этапах их получения: активации и конденсации, тионилирования, кэппирования.

На образование примеси n-1 существенное влияние оказывает стадия активации и дальнейшая конденсация фосфороамидита с растущей цепью. Для достижения процентного содержания примеси n-1 в исходном материале менее 2 %, были проведены синтезы с применением различных активирующих реагентов: 5-этилтиотетразол, 5-бензилтиотетразол. Для оптимизации синтеза с целью получения примеси P=O менее 5 % на этапе тионилирования увеличивали время рециркуляции, а также использовали различные тионилирующие реагенты: 3-((N,N-диметиламинометилиден)амино)-3H-1,2,4-дитиазол-5-тион (ДДТТ),  бис(фенилацетил)дисульфид (ФАДС), гидрид ксантана [2]. Для достижения примеси n+1 менее 1,5 % была проведена оптимизация процесса на стадии кэппирования с увеличением времени.

По результатам работы был разработан протокол синтеза модифицированного олигонуклеотида с наилучшими качественными и количественными характеристиками.

*Работа выполнена в рамках проекта АО «Генериум».*

**Литература**

1. Glazier D.A. Chemical Synthesis and Biological Application of Modified Oligonucleotides / Junzhuo Liao, Brett L. R. ,Xiaolei Li, Ka Yang, C.M. Stevens, Weiping Tang // Bioconjugate Chem. -2020, V.31, - P. 1213−1233.

2. Guzaev A. P. Reactivity of 3H-1,2,4-dithiazole-3-thiones and 3H-1,2-dithiole-3- thiones as sulfurizing agents for oligonucleotide synthesis // Tetrahedron Lett.— 2011.— Vol. №52— P. 434—437.