**Использование аптамеров к CD133 для детекции поверхностного антигена CD133 в образцах клеток глиом**

***Моисеенко В.Л.1, Антипова О.М.1, Павлова С.А.2, Павлова Г.В.2,3,4,***

***Копылов А.М.1,3***

*Аспирант, 1 год обучения*

*1 Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*2 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

*3 НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Москва, Россия*

*4 Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия*

*E-mail:* *valerian.moiseenko@gmail.com*

Неэффективность стандартных методов терапии и рецидивы глиобластомы (ГБ) – опухоли мозга, связывают с присутствием опухолевых стволовых клеток, которые мало чувствительны к радио- и химиотерапии. Трансмембранный белок CD133 считается маркером одного из ранних этапов дифференцировки клеток. Детекция CD133 возможна с использованием антител, однако на эффективность влияют различные факторы, в том числе гликозилирование белка. «Химические антитела» - аптамеры – отобраны к трансфицированным CD133-экспрессирующим клеткам. [1,2,3]

Методом проточной цитофлуориметрии оценили взаимодействие флуоресцентных ДНК- и РНК-аптамеров анти-CD133 и неаптамерных РНК- и ДНК-олигонуклеотидов (NARO и NADO, соответственно) с клетками стандартных линий и перевиваемых культур ГБ пациентов. На стандартных линиях клеток с антителами и ДНК-аптамерами наблюдается корреляция между средней интенсивностью флуоресценции MFI и количеством мРНК CD133. После инкубации клеток перевиваемых культур ГБ G01 и Sus как с РНК-аптамером А15, так и с неаптамерным NARO, наблюдали сильные сдвиги сигналов MFI, что может быть обусловлено CD133-независимым взаимодействием, опосредованным мембраной. Взаимодействия ДНК-аптамеров с клетками культур ГБ более специфичны, что позволяет выявить популяционную гетерогенность перевиваемых культур ГБ пациентов.

Провели окрашивание образцов клеток перевиваемых культур ГБ антителами, ДНК-аптамерами разного происхождения Cs5 и AP-1-M с флуоресцентной меткой FAM и неаптамерным ДНК-олигонуклеотидом NADO.

Суммарные эффекты взаимодействия аптамеров с клетками, детектируемые проточной цитофлуориметрией, отличаются, по-видимому, за счет различного вклада нецелевого взаимодействия, опосредованного мембраной. По результатам микроскопии с флуоресцентными аптамерами вывод о наличии поверхностного антигена CD133 возможен, если тестируемая культура клеток даёт флуоресцентный сигнал только с аптамерным олигонуклеотидом, но при этом сигнал с неаптамерным олигонуклеотидом должен отсутствовать. Среди исследованных ДНК-аптамеров данным критериям отвечает Cs5. На основании данных проточной цитофлуориметрии и флуоресцентной микроскопии обнаружена интересная и необычная способность клеток некоторых перевиваемых культур (Sus, 1793) захватывать как антитела, так и любые олигонуклеотиды, включая нецелевые, по-видимому, за счёт активности мембраны опухолевых клеток.

*Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2021-1343 от 4 октября 2021 г.).*

**Литература**

1. Shigdar S, Qiao L, Zhou SF et al., RNA aptamers targeting cancer stem cell marker CD133 // Cancer Lett. 2013. Vol. 330(1). P. 84-95.

2. Li W, Wang Z, Gao T, et al., Selection of CD133-targeted DNA aptamers for the efficient and specific therapy of colorectal cancer // J. Mater. Chem. B. 2022. Vol. 10(12). P. 2057-2066

3. Ge MH, Zhu XH, Shao YM, et al., Synthesis and characterization of CD133 targeted aptamer–drug conjugates for precision therapy of anaplastic thyroid cancer // Biomaterials Science. 2021. Vol. 9(4). P. 1313-1324