

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-220

# ОЛИГОНУКЛЕОТИД-СОДЕРЖАЩИЕ НАНОКОМПОЗИТЫ, АКТИВНЫЕ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСОВ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТИПОВ\*

## OLIGONUCLEOTIDE-CONTAINING NANOCOMPOSITES ACTIVE AGAINST HERPES SIMPLEX VIRUSES OF THE FIRST AND SECOND TYPES

М. Е. Ребус<sup>1</sup>, Е. В. Макаревич<sup>1</sup>, М. А. Проценко<sup>1</sup>, Е. И. Филиппова<sup>1</sup>,  
М. Н. Репкова<sup>2</sup>, В. Ф. Зарытова<sup>2</sup>, А. С. Левина<sup>2</sup>, Л. Н. Шишкина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

M. E. Rebus<sup>1</sup>, E. V. Makarevich<sup>1</sup>, M. A. Protsenko<sup>1</sup>, E. I. Filippova<sup>1</sup>,  
M. N. Repkova<sup>2</sup>, V. F. Zarytova<sup>2</sup>, A. S. Levina<sup>2</sup>, L. N. Shishkina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo

<sup>2</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

✉ rebus\_me@vector.nsc.ru

### Аннотация

Исследована активность наноконкомпозитов на основе наночастиц анатаза, несущих антисмысловые олигонуклеотиды, нацеленные на различные участки вирусных геномов, в отношении вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типов (ВПГ1 и ВПГ2). Наиболее эффективные наноконкомпозиты снижали репродукцию ВПГ1 и ВПГ2 *in vitro* на 3,5 и 2,0 lg соответственно.

### Abstract

The activity of nanocomposites based on anatase nanoparticles carrying antisense oligonucleotides targeting various regions of the viral genomes has been studied against herpes simplex virus types 1 and 2 (HSV1 and HSV2). The most effective nanocomposites reduced HSV1 and HSV2 reproduction *in vitro* by 3.5 and 2 log<sub>10</sub>, respectively.

Борьба с герпес-вирусными инфекциями является актуальной задачей, поскольку вирус простого герпеса (ВПГ) широко распространен среди населения и вызывает большой спектр заболеваний.

Антисенс-технология с использованием фрагментов нуклеиновых кислот, в частности антисмысловых олигонуклеотидов (ОН), является перспективной для борьбы с ВПГ. Успех этой стратегии зависит от системы доставки ОН в клетки, их стабильности в клетках и выбора подходящей мишени.

Антисмысловые ОН изучаются в качестве потенциальных препаратов от различных заболеваний, связанных с «вредными» нуклеиновыми кислотами. ОН способны длительно и эффективно подавлять репликацию вируса простого герпеса в клеточной системе [1] и повышать выживаемость лабораторных животных [2].

Целью работы было использование наноконкомпозитов на основе наночастиц диоксида титана в форме анатаза (Ans), несущих ОН, для подавления репликации ВПГ первого и второго типов (ВПГ1 и ВПГ2).

Ans-наночастицы обеспечивают доставку ОН в клетки и защищают их от клеточных нуклеаз [3]. На основании анализа литературных данных [4] выбрано несколько последовательностей ОН, успешных для подавления репликации ВПГ1 и ВПГ2. В качестве контрольного ОН использовали олигонуклеотид SCR, не комплементарный вирусному геному.

ВПГ1		ВПГ2	
5'-GGCGTCCTCCTTp	ON1	5'-GCCATTGGAACCP	ON5
5'-GCGGGCTCCATGGGGTTCGp	ON2	5'-AGGGCGTTCTCCTGp	ON6
5'-ACGAGGGCGTTCTCCTGCGp	ON3	5'-GCCCCGCTGCGAGp	ON7
5'-ACGTTCTCCTGCGGGAp	ON4	5'-ACGAGCGTGTTACTTCTGCGp	SCR
			(контроль для ВПГ1 и ВПГ2)

\* Исследование выполнено в рамках государственного задания Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (№ 125012300656-5).

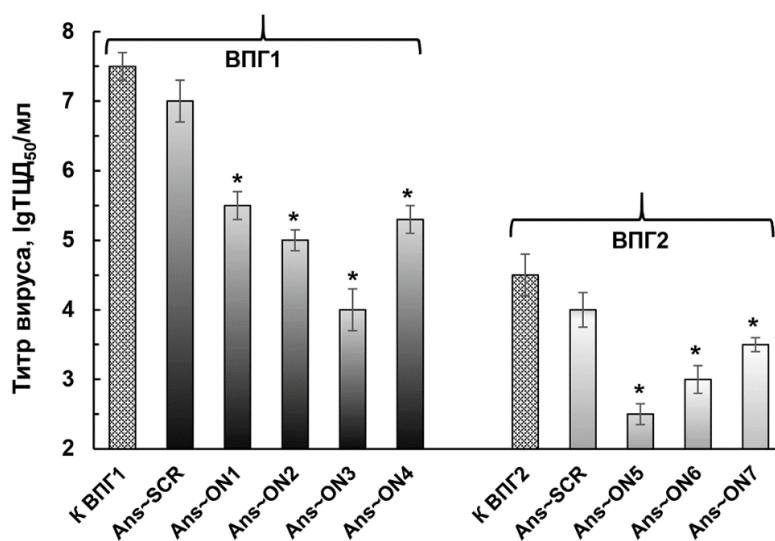
© М. Е. Ребус, Е. В. Макаревич, М. А. Проценко, Е. И. Филиппова, М. Н. Репкова, В. Ф. Зарытова, А. С. Левина, Л. Н. Шишкина, 2025

Полилизин-содержащие конъюгаты PL-ON иммобилизовали на наночастицах Ans и получали нанокомпози́ты Ans/PL-ON (далее Ans~ON) [5].

Для Ans~ON оценены значения максимально переносимой концентрации (МТC = 0,75 мг/мл) и 50%-й цитотоксической концентрации ( $CC_{50}$  = 1,3 мг/мл) для клеток Vero.

Противовирусную активность Ans~ON в клетках Vero, зараженных ВПГ1 и ВПГ2, изучали при нетоксических концентрациях (0,1 мг/мл, что соответствует концентрации ON в нанокомпозитах 2 мкМ). Эксперименты проводили так же, как описано в [6].

Все исследованные нанокомпозиты подавляли репликацию вирусов на 1,5–3,5 lg (см. рисунок). Наиболее активными были ON3 для ВПГ1 и ON6 для ВПГ2. Примечательно, что Ans~SCR был практически неактивен в обоих случаях.



Противовирусная активность образцов в отношении ВПГ1 и ВПГ2.  
К — титр вируса в клетках без добавления образца. Концентрация ON в нанокомпозитах = 2 мкМ. Результаты представлены в виде средних значений и стандартных отклонений. \* — отличие от контроля (без образца) по методу Спирмена — Кербера,  $p \leq 0,05$

Показано, что нанокомпозиты Ans~ON не проявляют вирулицидных свойств в бесклеточных экспериментах в отношении ВПГ даже при высокой концентрации (1 мг/мл), на порядок превышающую рабочую концентрацию. Это означает, что наночастицы не разрушают вирусную оболочку, и только внутри клетки вирусный геном уязвим для антисмысловых ON.

Таким образом, показано, что нанокомпозиты Ans~ON являются эффективными агентами для ингибирования ВПГ1 и ВПГ2. Полученные результаты указывают на антисмысловый эффект олигонуклеотидов, нацеленных на вирусную мРНК. В связи с этим антисмысловая технология может быть перспективной для разработки антигерпетических препаратов.

### Литература

- Shoji Y., Norimatsu M., Shimada J. et al. Limited use of cationic liposomes as tools to enhance the antiherpetic activities of oligonucleotides in Vero cells infected with herpes simplex virus type 1 // *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 1998. Vol. 8. P. 255–263.
- Moerdyk-Schauwecker M., Stein D.A., Eide K. et al. Inhibition of HSV-1 ocular infection with morpholino oligomers targeting ICP0 and ICP27 // *Antiviral Res.* 2009. Vol. 84. P. 131–141.
- Levina A. S., Repkova M. N., Shikina N. V. et al. Pronounced therapeutic potential of oligonucleotides fixed on inorganic nanoparticles against highly pathogenic H5N1 influenza A virus in vivo // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2021. Vol. 162. P. 92–98.
- Левина А. С., Репкова М. Н., Зарытова В. Ф. и др. Терапевтические нуклеиновые кислоты против вирусов простого герпеса // *Биоорг. химия* 2023. Т. 49 (6). С. 591–610.
- Levina A., Ismagilov Z., Repkova M. et al. Nanocomposites consisting of titanium dioxide nanoparticles and oligonucleotides // *J. Nanosci. Nanotech.* 2012. Vol. 12. P. 1812–1820.
- Репкова М. Н., Зарытова В. Ф., Мазурков О. Ю. и др. Эффективное ингибирование репликации вируса простого герпеса 1-го типа *in vitro* с помощью олигонуклеотид-содержащих нанокомпозитов // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология.* 2024. Т. 79 (4). С. 338–345.