

© ДЫМОВА М. А., КУЛИГИНА Е. В., РИХТЕР В. А., АРТЮШЕНКО П. В., РОГОВА А. В., ЩУГОРЕВА И. А., ТОМИЛИН Ф. Н., КИЧКАЙЛО А. С., ЗАМАЙ Т.Н.

УДК 577.113.6

DOI: 10.20333/25000136-2023-5-95-101

## Получение высокоселективных аптамеров к онколитическому вирусу VV-GMCSF-Lact. Теоретические и экспериментальные подходы

М. А. Дымова<sup>1</sup>, Е. В. Кулигина<sup>1</sup>, В. А. Рихтер<sup>1</sup>, П. В. Артюшенко<sup>2,3,4</sup>, А. В. Рогова<sup>2,3,4</sup>, И. А. Щугорева<sup>2,3</sup>, Ф. Н. Томилин<sup>3,4,5</sup>, А. С. Кичкайло<sup>2,3</sup>, Т.Н. Замай<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск 630090, Российская Федерация

<sup>2</sup>Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

<sup>3</sup>Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр» СО РАН, Красноярск 660036, Российская Федерация

<sup>4</sup>Сибирский федеральный университет, Красноярск 660041, Российская Федерация

<sup>5</sup>Институт физики им. Л. В. Киренского СО РАН, Красноярск 660036, Российская Федерация

**Введение.** Деструкция злокачественных опухолей с помощью онколитических вирусов – один из наиболее эффективных и безопасных способов противоопухолевой терапии. Для получения доступа к опухолевым клеткам вирус должен длительное время циркулировать в кровотоке, избегая действия иммунной системы. Однако при введении вируса в организм он провоцирует выработку вируснейтрализующих антител, снижающих его противоопухолевый эффект. Наиболее эффективным способом защиты вируса от нейтрализующих антител является его экранирование, в частности, с помощью селективных к нему ДНК-аптамеров.

**Цель исследования.** С помощью экспериментальных методов и теоретических расчётов разработать подходящие для создания противоопухолевого препарата на основе онколитического вируса VV-GMCSF-Lact ДНК-аптамеры, эффективно экранирующие вирусы и способные защитить их от вируснейтрализующих антител.

**Материал и методы.** Моделирование вторичных структур аптамеров выполнено в программе для фолдинга нуклеиновых кислот mFold, моделирование соответствующих пространственных полноатомных структур аптамеров – в программах SimRNA и VMD. Расчёты молекулярной динамики проведены в программном пакете GROMACS 2018.8. Кластерный анализ полученных молекулярно-динамических траекторий выполнен в программе VMD. Оценка связывания Су5-модифицированных аптамеров с вирусом проведена с помощью проточной цитометрии на цитофлуориметре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, г. Франклин Лейкс, Нью-Джерси, США).

**Результаты.** Модификация аптамеров, экспериментально полученных с помощью технологии SELEX, позволила получить пять укороченных олигонуклеотидов NV1t\_72, NV4t\_64, NV4t\_53, NV14t\_41 и NV14t\_57, экранирующих онколитический вирус VV-GMCSF-Lact, самым эффективным из которых оказался аптамер NV14t\_57. Теоретические расчёты показали, что аффинность аптамеров определяется их трёхмерной структурой, зависящей от способа модификации.

**Заключение.** Получен высокоселективный аптамер NV14t\_57, который является наиболее перспективным кандидатом для дальнейшей работы по созданию препарата для противоопухолевой терапии онкологических заболеваний на основе онколитического вируса осповакцины VV-GMCSF-Lact.

**Ключевые слова:** аптамеры, SELEX, онколитический вирус VV-GMCSF-Lact, цитофлуориметрия, молекулярная динамика, компьютерное моделирование.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Дымова МА, Кулигина ЕВ, Рихтер ВА, Артюшенко ПВ, Рогова АВ, Щугорева ИА, Томилин ФН, Кичкайло АС, Замай ТН. Получение высокоселективных аптамеров к онколитическому вирусу VV-GMCSF-Lact. Теоретические и экспериментальные подходы. *Сибирское медицинское обозрение.* 2023;(5):95-101. DOI: 10.20333/25000136-2023-5-95-101

## Obtaining highly selective aptamers to the VV-GMCSF-Lact oncolytic virus. Theoretical and experimental approaches

M. A. Dymova<sup>1</sup>, E. V. Kuligina<sup>1</sup>, V. A. Richter<sup>1</sup>, P. V. Artyushenko<sup>2,3,4</sup>, A. V. Rogova<sup>2,3,4</sup>, I. A. Shchugoreva<sup>2,3</sup>, F. N. Tomilin<sup>3,4,5</sup>, A. S. Kichkailo<sup>2,3</sup>, T. N. Zama<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SD RAS, Novosibirsk 630090, Russian Federation

<sup>2</sup> Prof. V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

<sup>3</sup> Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences", Krasnoyarsk 660036, Russian Federation

<sup>4</sup> Siberian Federal University, Krasnoyarsk 660041, Russian Federation

<sup>5</sup> Kirensky Institute of Physics, Krasnoyarsk 660012, Russian Federation

**Introduction.** Destruction of malignant tumours with oncolytic viruses is one of the most effective and safe methods of antitumor therapy. To gain access to tumour cells, the virus must circulate in the bloodstream for a long time, avoiding the action of the immune system. However, when a virus is introduced into

the body, it provokes the production of virus-neutralising antibodies that reduce its antitumor effect. The most effective way to protect a virus from antibodies that neutralise it is to screen it: in particular, using selective DNA aptamers.

**The aim of the research.** Using experimental methods and theoretical calculations, to develop DNA aptamers suitable for creating an antitumor drug based on the VV-GMCSF-Lact oncolytic virus, which effectively screen viruses and can protect them from virus-neutralising antibodies.

**Material and methods.** Modelling of the secondary structures of aptamers was performed using the mFold program for nucleic acid folding, modelling of the corresponding spatial full-atom structures of aptamers was performed using the SimRNA and VMD programs. Molecular dynamics calculations were carried out using the GROMACS 2018.8 software package. Cluster analysis of the obtained molecular dynamic trajectories was performed using the VMD program. Binding of Cy5-modified aptamers to the virus was assessed using flow cytometry on a BD FACSCanto II cytometer (Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, USA).

**Results.** Modification of aptamers experimentally obtained using the SELEX technology made it possible to obtain five truncated oligonucleotides NV1t\_72, NV4t\_64, NV4t\_53, NV14t\_41, and NV14t\_57, which screen the oncolytic virus VV-GMCSF-Lact, the most effective of which was the NV14t\_57 aptamer. Theoretical calculations have shown that the affinity of aptamers is determined by their three-dimensional structure, which depends on the method of modification.

**Conclusion.** A highly selective aptamer NV14t\_57 has been obtained, which is the most promising candidate for further work on the creation of a drug for antitumor therapy of oncological diseases based on the VV-GMCSF-Lact oncolytic vaccinia virus.

**Key words:** aptamers, SELEX, VV-GMCSF-Lact oncolytic virus, cytofluorimetry, molecular dynamics, computer modelling.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

**Citation:** Dymova MA, Kuligina EV, Richter VA, Artyushenko PV, Rogova AV, Shchugoreva IA, Tomilin FN, Kichkailo AS, Zamay TN. Obtaining highly selective aptamers to the VV-GMCSF-Lact oncolytic virus. Theoretical and experimental approaches. *Siberian Medical Review*. 2023;(5):95-101. DOI: 10.20333/25000136-2023-5-95-101

## Введение

Онколитическая виротерапия является перспективным подходом для лечения онкологических заболеваний в связи с селективностью поражения опухолевых клеток, возможностью иммуномодуляции организма пациента и использования совместно с химио- и лучевой терапией. Эволюция трансформированных клеток привела к изменению ключевых сигнальных путей, связанных с пролиферацией, выживаемостью и устойчивостью клеток к повреждающим факторам, инвазией и метастазированием. Эти отличия опухолевых клеток от здоровых на молекулярном уровне могут быть использованы в качестве мишеней для разработки средств адресной терапии.

Поксвирусы (вирусы оспы), в том числе вирус коровьей оспы, удобно использовать в качестве онколитических терапевтических средств, благодаря их стабильности в кровотоке, эффективности в отношении метастазов, быстрому распространению внутри опухолей, удобству получения трансгенных вариантов, а также доказанной безопасностью осповакцины. Репликация и распространение вируса коровьей оспы связаны с сигнальным путем EGFR/MAPK, активированном в большинстве клеток злокачественных опухолей. Связывание вируса коровьей оспы с опухолевыми клетками опосредуется гепарансульфатом, углеводным фрагментом гликопротеинов клеточной мембраны, а проникновение внутрь клетки происходит за счет макропиноцитоза [1]. Онколитические вирусы (ОВ), вводимые внутривенно, могут быть особенно эффективны против метастатического рака, который трудно лечить с помощью обычной терапии.

Онколитический вирус VV-GMCSF-Lact был разработан на базе института ИХБФМ СО РАН совместно с ГНЦ ВБ «Вектор» и изначально показал свою противоопухолевую эффективность в экспериментах *in vivo* в отношении рака молочной железы [2]. В 2019 г. успешно завершены доклинические исследования

VV-GMCSF-Lact как препарата для терапии опухолей молочной железы. Клинические испытания препарата (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05376527) проходят на базе четырех клинических центров Минздрава России (г. Санкт-Петербург и г. Москва). Ранее, в экспериментах на культурах клеток, было показано, что VV-GMCSF-Lact обладает высокой онколитической активностью по отношению к опухолям головного мозга [3]. Для изучения противоопухолевой эффективности вируса в отношении опухолей внутривенной локализации целесообразно исследовать внутривенный способ введения препарата как наименее инвазивный.

Успех виротерапии заключается в том, что вирус должен получить доступ к опухолевым клеткам и циркулировать как можно дольше, избегая действия иммунной системы. Однако при введении вируса в организм он провоцирует выработку вируснейтрализующих антител, которые могут снижать его противоопухолевый эффект. Для защиты вируса от иммунной системы необходимо его экранировать (рис.1).

Полимерные покрытия, используемые для этих целей, несмотря на хороший экранирующий эффект, снижают инфицирование, а следовательно, и эффективность терапии [4,5]. В то же время показана возможность использования биосовместимых ДНК-аптамеров в качестве покрытия онколитических вирусов для защиты от нейтрализующих антител [6–8], которые ранее были подобраны для оценки жизнеспособности вируса осповакцины JX-594 и определения его количества в крови [9,10]. Таким образом, предположительно, одним из наиболее эффективных способов экранирования онколитических вирусов от иммунной системы являются аптамеры, способные покрыть оболочку вирусной частицы.

Цель работы – с помощью экспериментальных методов и теоретических расчетов разработать пригодные для создания противоопухолевого препарата

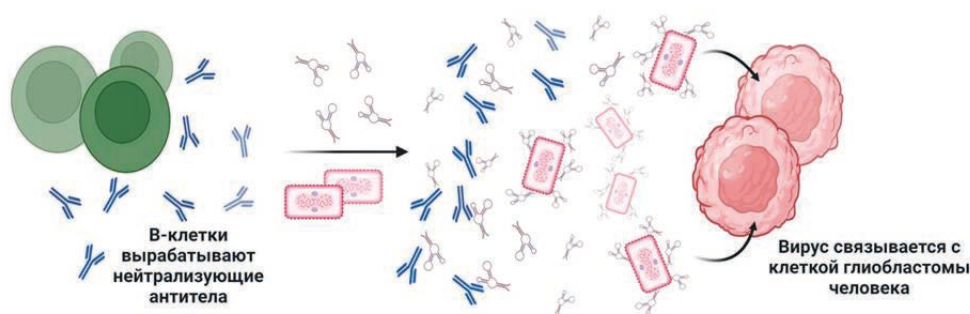


Рисунок 1. Увеличение противоопухолевой активности онколитических вирусов с помощью аптамеров.  
Figure 1. Increase in antitumor activity of oncolytic viruses using aptamers.

на основе онколитического вируса VV-GMCSF-Lact ДНК-аптамеры, эффективно экранирующие вирусы и способные защитить их от вируснейтрализующих антител.

**Материал и методы**

**Молекулярное моделирование.** Моделирование вторичных структур аптамеров было выполнено в программе для фолдинга нуклеиновых кислот mFold на основе данных об их нуклеотидной последовательности [11]. Моделирование соответствующих пространственных полноатомных структур проведено с помощью программ SimRNA [12] и VMD [13,14]. Расчёты молекулярной динамики проводили в программном пакете GROMACS 2018.8 [15] с использованием силового поля Amber14sb [16] и моделью воды TIP3P [17]. Аптамеры сольватировали в периодическом кубическом боксе. В полученные ячейки вводили контрионы Na<sup>+</sup> для нейтрализации отрицательного заряда аптамеров и ионы Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> в качестве фонового электролита до общей концентрации соли 0,15 М. Кластерный анализ полученных молекулярно-динамических траекторий выполнен в программе VMD [18].

**Цитометрический анализ связывания Су5-модифицированных аптамеров с онколитическим вирусом VV-GMCSF-Lact.** Оценку связывания Су5-модифицированных аптамеров с вирусом проводили по протоколу, описанному ранее [19], с небольшими модификациями. Вирус VV-GMCSF-Lact в количестве 10<sup>7</sup> БОЕ инкубировали с 2,5 мкл дрожжевой РНК (2 мг/мл) 30 минут при 25°C на шейкере для блокировки неспецифического связывания. Затем вирусную суспензию инкубиро-

вали при 25°C 30 минут с 50 мкл предварительно ренатурированных, Су5-модифицированных аптамеров (200 нМ). Далее образцы ресуспендировали в 300 мкл фосфатного буфера и анализировали на цитофлуориметре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, г. Франклин Лейкс, Нью-Джерси, США). Каждый эксперимент проводили в двух технических повторах.

**Результаты и обсуждение**

Последовательности аптамеров, способных эффективно связываться с оболочкой онколитического вируса JX-549 на основе генномодифицированной осповакцины, были взяты из работы Labib M. et al [9], в которой высокоспецифичные к вирусу осповакцины JX-549 ДНК-аптамеры были отобраны с помощью технологии SELEX [20,21], и использованы для количественного определения вирусов в крови и оценки его жизнеспособности с помощью электрохимических сенсоров. Такие аптасенсоры показали высокую чувствительность по отношению к жизнеспособным частицам вируса: могли успешно обнаруживать до 60 вирионов в микролитре и отличать их от нежизнеспособных вирусов в формате электрохимического анализа [20,21]. Первичные последовательности нуклеотидов, использованных аптамеров к онколитическому вирусу осповакцины, представлены в табл. 1.

Для разработки средств, эффективно экранирующих вирус от иммунной системы, необходимо знать пространственную структуру аптамеров. На основе первичной нуклеотидной последовательности аптамеров с помощью программы mFold была предсказана их вторичная структура (рис.2).

Таблица 1

**Нуклеотидные последовательности аптамеров к онколитическому вирусу осповакцины**

Table 1

**Nucleotide sequences of aptamers to oncolytic vaccinia virus**

Аптамер	Последовательность нуклеотидов
NV1	5'- CTCCTCTGACTGTAACCACGCGCGCCCCGCTGTTTCGAGCCGAT AGAGGGCTAGTGTCATGCATAGGTAGTCCAGAAGCC-3'
NV2	5'-CTCCTCTGACTGTAACCACGGTCCGTCCTCTCTCGTTTGTTCCTC TTCTCTTATCTGTCCAGCATAGGTAGTCCAGAAGCC-3'
NV4	5'-CTCCTCTGACTGTAACCACGGGATTTCCAGATCCAATTCAAGT CTCAATATCTACCTCAGCATAGGTAGTCCAGAAGCC-3'
NV6	5'-CTCTCTGACTGTAACCACGGTGAGGGTCTGTGGTTGGTGGT TGTGAGATGTGGTGGGCATAGGTAGTCCAGAAGCC-3'
NV14	5'-CTCCTCTGACTGTAACCACGCCATCACCCATTATCTCATATCT CGTTTTCCTATGCGGCATAGGTAGTCCAGAAGCC-3'



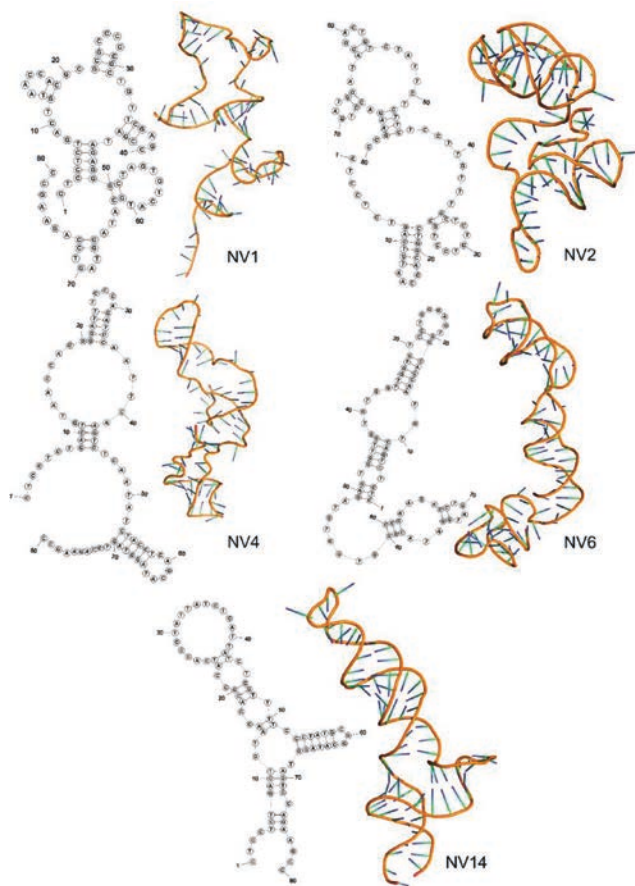


Рисунок 2. Вторичные и третичные структуры аптамеров к онколитическому вирусу VV-GMCSF-Lact

Figure 2. Secondary and tertiary structures of aptamers to the VV-GMCSF-Lact oncolytic virus

Параметры фолдинга аптамеров, такие как температура раствора и ионное окружение, были учтены при моделировании. Так как олигонуклеотиды – достаточно длинные и подвижные молекулы, они мо-

гут принимать различные конформации в растворе в зависимости от температуры и наличия ионов. Для того чтобы получить структуру, наиболее точно отражающую конформацию аптамеров в растворе, были построены соответствующие 3D модели аптамеров и выполнены расчёты молекулярной динамики продолжительностью 200 нс, при температуре 310 К и в присутствии 0,15 М NaCl. На рисунке 2 представлены трёхмерные модели аптамеров, полученные в результате кластерного анализа молекулярно-динамических траекторий.

Из рисунка видно, что структуры аптамеров NV2 и NV4 характеризуются наличием достаточно больших одноцепочечных участков, что обуславливает их высокую конформационную подвижность в растворе. В свою очередь, расположение комплементарных пар в аптамерах NV1, NV6 и NV14 приводит к образованию компактных и менее подвижных структур. Исходя из особенностей структуры аптамеров, были предложены варианты усеживания их последовательностей (табл.2). Уменьшение длины аптамера, как правило, увеличивает аффинность аптамеров к своей мишени и, кроме того, снижает его стоимость.

Учитывая различное взаимное расположение комплементарных и одноцепочечных участков, модификацию аптамеров проводили путём усеживания нуклеотидов, входящих в праймеры (NV1, NV14), разделением исходного аптамера на части (NV2, NV6) и путём добавления нуклеотидов-праймеров к разным частям исходного аптамера (NV4). Укороченные аптамеры были синтезированы в компании «Lumiprobe» (г. Москва, Россия). Соответствующие вторичные структуры модифицированных аптамеров представлены на рис. 3.

Оценку связывания модифицированных аптамеров проводили с помощью проточной цитофлуориметрии по ранее описанной методике с небольшими модификациями – в данной работе был исключен процесс центрифугирования и отмывки. Это связано

Таблица 2

**Варианты усеживания нуклеотидных последовательностей аптамеров к онколитическому вирусу основакцины**

Table 2

**Variants of truncation of nucleotide sequences of aptamers to oncolytic vaccinia virus**

Аптамер	Последовательность нуклеотидов	Размер, нк
NV1t_72	[Cy5]CCTCTGACTGTAACCACGCGCGCCCCCGCTGTTTCGAGCCGATAGAGGGCTAGTGTGCATGCATAGGTAGTCCA	72
NV2t_32	[Cy5]CTGACTGTAACCACGGTCCGTCCTCTCTCGTT	32
NV2t_38	[Cy5]CTCTTCTCTTATCTGTGTCAGCATAGGTAGTCCAGAAGCC	38
NV4t_64	[Cy5]CTCCTCTGACTGTAACCACGGATTTCCAGATCCAATCTCCTCTGACTGTAACCACGTCAAGTC	64
NV4t_53	[Cy5]TCAATATCTACCCTCCATCCTCTCCCCTCGTCAGCATAGGTAGTCCAGAAGCC	53
NV6t_50	[Cy5]CTCTCTGACTGTAACCACGGTGAGGGTCTGTGGTTGGTGTGGTTGGTGA	50
NV6t_30	[Cy5]GATGTGGTGGGCATAGGTAGTCCAGAAGCC	30
NV14t_41	[Cy5]GTAACCACGCCATCACCTATTATCTCATTATCTCGTTTTTC	41
NV14t_57	[Cy5]GTAACCACGCCATCACCTATTATCTCATTATCTCGTTTTTCCTATGCGGCATAGGT	57

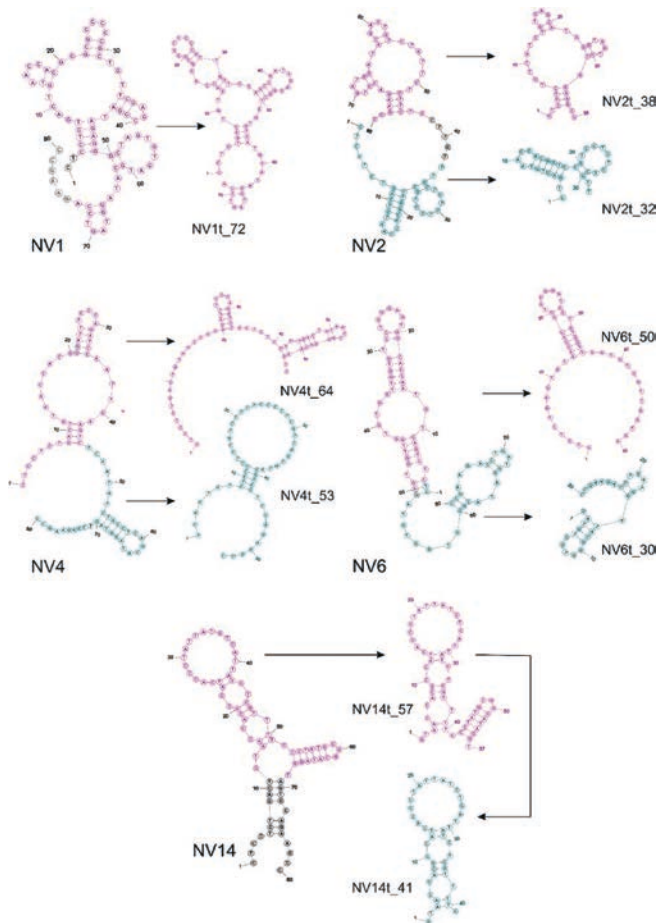


Рисунок 3. Вторичные структуры полноразмерных и укороченных аптамеров к онколитическому вирусу VV-GMCSF-Lact

Figure 3. Secondary structures of full-length and truncated aptamers to the VV-GMCSF-Lact oncolytic virus

с тем, что вирус VV- GMCSF-Lact, как и все ортопоксвирусы, имеет большой размер (около 600 нм), что позволяет отсечь меньшие по размеру частицы, установив соответствующим образом ворота на графике зависимости интенсивности прямого и бокового светорассеивания.

Результаты исследования показали (рис.4), что максимальная интенсивность флуоресценции в канале APC-A наблюдалась для аптамеров NV1t\_72, NV4t\_64, NV4t\_53, NV14t\_41, NV14t\_57.

Из рис. 3 видно, что данные аптамеры были модифицированы различными способами. Аптамер NV1t\_72 имеет последовательность нуклеотидов, близкую к исходному NV1, однако его структура отличается от конформации аптамеров NV4t\_64 и NV4t\_53, которые были получены путем добавления нуклеотидов праймеров к разным частям исходного аптамера NV4, а аптамеры NV14t\_41 и NV14t\_57 – путём удаления нуклеотидов праймеров у аптамера NV14.

Таким образом, модификация аптамеров, выбранных первоначально с помощью метода SELEX, позволила получить пять укороченных аптамеров NV1t\_72,

NV4t\_64, NV4t\_53, NV14t\_41 и NV14t\_57, которые эффективно связываются с онколитическим вирусом VV-GMCSF-Lact, но наиболее аффинным к онколитическим вирусам оказался аптамер NV14t\_57. Возможно, это связано с тем, что вторичная структура укороченного аптамера NV14t\_57 полностью совпала с его полноразмерным предшественником NV14 (рис.3), в отличие от укороченных версий других аптамеров, конформация которых оказалась значительно измененной. Так, например, у аптамеров NV6 и NV6t\_50 основное отличие заключалось в том, что нуклеотиды, участвовавшие в образовании комплементарных участков в аптамере NV6, оказались некомплементарными в аптамере NV6t\_50, и наоборот, нуклеотиды, которые формировали петлю в аптамере NV6, либо были некомплементарными, оказались в дуплексной части укороченного аптамера (NV6t\_50). Такая модификация, по-видимому, и явилась причиной снижения аффинности аптамера, поскольку нуклеотиды образуют водородные связи с мишенью либо через фосфатную группу, когда они находятся в дуплексной части, либо через азотистое основание некомплементарного участка, причем в зависимости от типа основания количество водородных связей варьирует. Следовательно, сохранение расположения нуклеотидов полноразмерных аптамеров в структурных мотивах их укороченных версий является очень важным для обеспечения их аффинности.

Аптамер NV14t\_57 имеет достаточно жесткую структуру, поскольку содержит большое количество комплементарных участков. Дуплексные домены меньше подвержены конформационным изменениям и сохраняют пространственную форму аптамера, что играет ключевую роль в молекулярном распознавании мишени. Кроме того, у такой структуры все нуклеотиды будут доступны для связывания, поскольку молекула

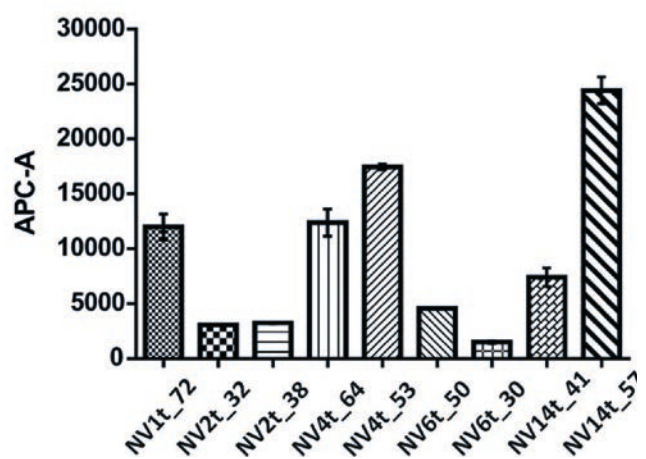


Рисунок 4. Оценка связывания Cy5-модифицированных аптамеров с онколитическим вирусом VV-GMCSF-Lact. Сигнал флуоресценции для красителя Cy5 детектировали в канале APC-A.

Figure 4. Assessing the binding of Cy5-modified aptamers to the VV-GMCSF-Lact oncolytic virus. The fluorescence signal for the Cy5 dye was detected in the APC-A channel.



аптамера не погибает сама на себя, как в случае с аптамером NV2, так как гибкость достигается только за счет одинарных цепей нуклеотидов, которых в структуре этого аптамера немного. Также в структуре нет длинных одинарных нитей, которые за счет электростатического взаимодействия могли бы связаться с фосфатными группами других нуклеотидов и тем самым сделать их недоступными для связывания с мишенью.

Таким образом, аптамер NV14t\_57 является наиболее перспективным кандидатом для дальнейшей работы по созданию препарата для противоопухолевой терапии онкологических заболеваний на основе онколитических вирусов осповакцины.

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-64-00041, <https://rscf.ru/project/22-64-00041/>. Работа также поддержана в рамках государственного задания ИХБФМ СО РАН №121030200173-6 (наработка вируса). Авторы благодарят Межведомственный суперкомпьютерный центр Российской академии наук (МСЦ РАН) за предоставление вычислительных мощностей.

### Литература / References

1. Parato KA, Breitbach CJ, Le Boeuf F, Wang J, Storbeck C, Ilkow C, Diallo JS, Falls T, Burns J, Garcia V, Kanji F, Evgin L, Hu K, Paradis F, Knowles S, Hwang TH, Vanderhyden BC, Auer R, Kirn DH, Bell JC. The oncolytic poxvirus JX-594 selectively replicates in and destroys cancer cells driven by genetic pathways commonly activated in cancers. *Molecular Therapy*. 2012;20(4):749-758. DOI:10.1038/mt.2011.276
2. Kochneva G, Sivolobova G, Tkacheva A, Grazhdantseva A, Troitskaya O, Nushtaeva A, Tkachenko A, Kuligina E, Richter V, Koval O. Engineering of double recombinant vaccinia virus with enhanced oncolytic potential for solid tumor virotherapy. *Oncotarget*. 2016;7:74171-74188. DOI:10.18632/oncotarget.12367
3. Vasileva N, Ageenko A, Dmitrieva M, Nushtaeva A, Mishinov S, Kochneva G, Richter V, Kuligina E. Double recombinant vaccinia virus: A candidate drug against human glioblastoma. *Life (Basel)*. 2021;11(10):1084. DOI:10.3390/life11101084
4. Fisher KD, Seymour LW. HPMA copolymers for masking and retargeting of therapeutic viruses. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010;(62):240-245. DOI:10.1016/j.addr.2009.12.003
5. Doronin K, Shashkova EV, May SM, Hofherr SE, Barry MA. Chemical Modification with High Molecular Weight Polyethylene Glycol Reduces Transduction of Hepatocytes and Increases Efficacy of Intravenously Delivered Oncolytic Adenovirus. *Human Gene Therapy*. 2009;(20):975-988. DOI:10.1089/hum.2009.028
6. Muharemagic D, Labib M, Ghobadloo SM, Zamay AS, Bell JC, Berezovski MV. Anti-Fab Aptamers for Shielding Virus from Neutralizing Antibodies. *Journal of the American Chemical Society*. 2012;(134):17168-17177. DOI:10.1021/ja306856y
7. Labib M, Zamay AS, Muharemagic D, Chechik A, Bell JC, Berezovski MV. Electrochemical Sensing of Aptamer-Facilitated Virus Immunoshielding. *Analytical Chemistry*. 2012;(84):1677-1686. DOI:10.1021/ac202978r
8. Dymova MA, Kichkailo AS, Kuligina EV, Richter VA. Aptamers Enhance Oncolytic Viruses' Antitumor Efficacy. *Pharmaceutics*. 2022;(15):151. DOI:10.3390/pharmaceutics15010151
9. Labib M, Zamay AS, Muharemagic D, Chechik AV, Bell JC, Berezovski MV. Aptamer-Based Viability Impedimetric Sensor for Viruses. *Analytical Chemistry*. 2012;(84):1813-1816. DOI:10.1021/ac203412m
10. Labib M, Zamay AS, Berezovski MV. Multifunctional electrochemical aptasensor for aptamer clones screening, virus quantitation in blood and viability assessment. *The Analyst*. 2013;(138):1865. DOI:10.1039/c3an36771a
11. Zuker M. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. *Nucleic Acids Research*. 2003;(31):3406-3415. DOI:10.1093/nar/gkg595
12. Boniecki MJ, Lach G, Dawson WK, Tomala K, Lukasz P, Soltysinski T, Rother KM, Bujnicki JM. SimRNA: a coarse-grained method for RNA folding simulations and 3D structure prediction. *Nucleic Acids Research*. 2016;(44):e63-e63. DOI:10.1093/nar/gkv1479
13. Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics and Modeling*. 1996;(14):33-38. DOI:10.1016/0263-7855(96)00018-5
14. Jedd I, Saiz L. Three-dimensional modeling of single stranded DNA hairpins for aptamer-based biosensors. *Scientific Reports*. 2017;(7): DOI:10.1038/s41598-017-01348-5
15. Abraham MJ, Murtola T, Schulz R, Páll S, Smith JC, Hess B, Lindahl E. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*. 2015;(1-2):19-25. DOI:10.1016/j.softx.2015.06.001
16. Maier JA, Martinez C, Kasavajhala K, Wickstrom L, Hauser KE, Simmerling C. ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2015;(11):3696-3713. DOI:10.1021/acs.jctc.5b00255
17. Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, Impey RW, Klein ML. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *The Journal of Chemical Physics*. 1983;(79):926-935. DOI:10.1063/1.445869
18. Heyer LJ, Kruglyak S, Yooseph S. Exploring Expression Data: Identification and Analysis of Coexpressed Genes. *Genome Research*. 1999;(9):1106-1115. DOI:10.1101/gr.9.11.1106
19. Muharemagic D, Zamay A, Ghobadloo SM, Evgin L, Savitskaya A, Bell JC, Berezovski MV. Aptamer-facilitated Protection of Oncolytic Virus from Neutralizing Antibodies. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*. 2014;(3): DOI:10.1038/mtna.2014.19
20. Tuerk C, Gold L. Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment: RNA Ligands to Bacteriophage T4 DNA Polymerase. 1990;(249):505-510. DOI:10.1126/science.2200121

21. Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*. 1990;(346):818-822. DOI:1038/346818a0

### Сведения об авторах

Дымова Майя Александровна, к.б.н., с.н.с., Институт химической биологии и фундаментальной медицины; адрес: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, ул. Лаврентьева, д.8; тел.: +7(383)3635189; e-mail: maya.a.rot@gmail.com

Кулигина Елена Владимировна, к.б.н., с.н.с., Институт химической биологии и фундаментальной медицины; адрес: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, ул. Лаврентьева, д.8; тел.: +7(383)3635190; e-mail: kuligina@niboch.nsc.ru

Рихтер Владимир Александрович, к.б.н., заведующий лабораторией, Институт химической биологии и фундаментальной медицины; адрес: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, ул. Лаврентьева, д.8; тел.: +7(383)3635152; e-mail: richter@niboch.nsc.ru

Артюшенко Полина Владимировна, к.ф.-м.н., с.н.с., Красноярский научный центр СО РАН; адрес: Российская Федерация, 660036, г. Красноярск, Академгородок, стр. 50; Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; Сибирский федеральный университет; адрес: Российская Федерация 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79; тел.: +7(391)2201893; e-mail: art\_polly@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3176-8202>

Рогова Анастасия Владимировна, м.н.с., Красноярский научный центр СО РАН; адрес: Российская Федерация, 660036, г. Красноярск, Академгородок, стр. 50; Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; Сибирский федеральный университет; адрес: Российская Федерация 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79; тел.: +7(391)2201893; e-mail: arogoval1927@gmail.com

Шугорева Ирина Андреевна, м.н.с., Красноярский научный центр СО РАН; адрес: Российская Федерация, 660036, г. Красноярск, Академгородок, стр. 50; Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7-902-969-11-54; e-mail: shchugorevai@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4207-1627>

Томилин Феликс Николаевич, к.х.н., доцент, Сибирский федеральный университет; адрес: Российская Федерация 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79; Красноярский научный центр СО РАН; адрес: Российская Федерация, 660036, г. Красноярск, Академгородок, стр. 50; Институт физики им. Л. В. Киренского СО РАН, Красноярск 660036, Российская Федерация; тел.: +79509788890; e-mail: felixnt@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3578-6141>

Кичкайло Анна Сергеевна, д.б.н., Красноярский научный центр СО РАН; адрес: Российская Федерация, 660036, г. Красноярск, Академгородок, стр. 50; Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(391)2201893; e-mail: annazamay@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1054-4629>

Замай Татьяна Николаевна, ведущий научный сотрудник, профессор, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; Красноярский научный центр СО РАН; адрес: Российская Федера-

ция, 660036, г. Красноярск, Академгородок, стр. 50; тел.: +7(391)2201893; e-mail: zamay@yandex.ru

### Author information

Maya A. Dymova, senior researcher, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SD RAS; Address: 8, Lavrentiev Avenue, Novosibirsk, Russian Federation 630090; Phone: +7(383)3635189; e-mail: maya.a.rot@gmail.com

Elena V. Kuligina, senior researcher, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SD RAS; Address: 8, Lavrentiev Avenue, Novosibirsk, Russian Federation 630090; Phone: +7(383)3635190; e-mail: kuligina@niboch.nsc.ru

Vladimir A. Richter, head of the laboratory, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SD RAS; Address: 8, Lavrentiev Avenue, Novosibirsk, Russian Federation 630090; Phone: +7(383)3635152; e-mail: richter@niboch.nsc.ru

Polina V. Artyushenko, Candidate of Sciences in Physics and Mathematics, senior researcher, Laboratory for Digital Controlled Drugs and Theranostics, Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center SB RAS"; Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russian Federation 660036; Department of Chemistry, Siberian Federal University; Address: 79, Svobodny pr, Krasnoyarsk, Russian Federation 660041; Phone: +79082005639; e-mail: art\_polly@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3176-8202>

Anastasiya V. Rogova, junior researcher, Laboratory for Digital Controlled Drugs and Theranostics, Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center SB RAS"; Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russian Federation 660036; Professor V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Department of Chemistry, Siberian Federal University; Address: 79, Svobodny pr, Krasnoyarsk, Russian Federation 660041; Phone: +7(391)2201893; e-mail: arogoval1927@gmail.com

Irina A. Shchugoreva, junior researcher, Laboratory for Digital Controlled Drugs and Theranostics, Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center SB RAS"; Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russian Federation 660036; Professor V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7-902-969-11-54; e-mail: shchugorevai@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4207-1627>

Felix N. Tomilin, Candidate of Sciences in Chemistry, associate professor, Department of Chemistry, Siberian Federal University; Address: 79, Svobodny pr, Krasnoyarsk, Russian Federation 660041; Address: 50/38 Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russian Federation 660036; Phone: +79509788890; e-mail: felixnt@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3578-6141>

Anna Sergeevna Kichkailo, Dr. Biol. Sci., Krasnoyarsk Scientific Center of the SB RAS; Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russian Federation 660036; Professor V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(391)2201893; e-mail: annazamay@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1054-4629>

Tatiana N. Zamay, Leading researcher, professor, Professor V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Krasnoyarsk Scientific Center of the SB RAS; Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russian Federation 660036; Phone: +7(391)2201893; e-mail: zamay@yandex.ru

Дата поступления: 21.07.2023

Дата рецензирования: 20.09.2023

Принято к публикации: 28.09.2023

Received 21 July 2023

Revision Received 20 September 2023

Accepted 28 September 2023