

О. І. Грицук, О. О. Нефьодов, А. О. Цісак, Л. В. Еберле,
І. М. Радаєва, О. І. Александрова, О. В. Устянська

Нова фармакологічна мішень XXI століття. G-квадруплекси нуклеїнових кислот: структура, властивості та біологія

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

*70-річчю відкриття
структури ДНК присвячується*

*Ключові слова: G-квадруплекси,
молекули-ліганди, нуклеїнові кислоти,
фармакологічна мішень*

Дослідження Д. Уотсона і Ф. Кріка [1], а також Р. Франклін та Р. Гослінга [2] завершилися в 1953 описом моделі структури ДНК. Це відкриття навряд чи стало б можливим без блискучих досліджень Ервіна Чаргафа, який сформулював закономірності будови ДНК, названі на його честь – правилами Чаргафа [3]. Згідно з ними, найпоширеніша В-форма ДНК є симетричним, спіральним полінуклеотидом, що утворений двома правозакрученими відносно один одного комплементарними ланцюгами, які з'єднані між собою водневими зв'язками Уотсона-Кріка (WC). Відкриття специфічного спарювання пуринових і піримідинових основ через водневі зв'язки виявило не тільки подвійну спіральну форму ДНК, але й основу для її реплікації та транскрипції, абсолютно необхідних для носія генетичної інформації.

1. Неканонічні форми ДНК

У 1959 році К. Хугстін на підставі даних рентгеноструктурних досліджень кристалів пари метильованих похідних А·Т виявив альтернативний мотив спарювання основ (HG), в

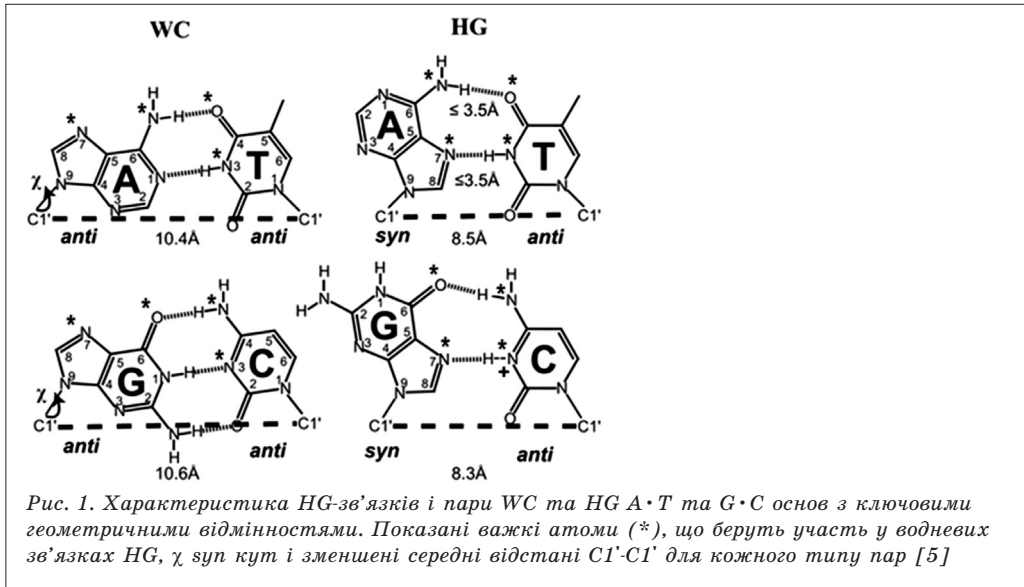
якому пуринова основа приймає суп-конформацію щодо геометрії WC за рахунок його повороту на 180° навколо глікозидного зв'язку [4]. Піримідини у конфігурації Хугстіна (HG) утворюють водневі зв'язки з 6-м і 7-м атомами пуринового кільця, у результаті чого дистанція між протилежними атомами C1' основного ланцюга зменшується (рис. 1), а поблизу пари основ спостерігається деякий ступінь закручування та вигину подвійної спіралі [5].

Встановлено, що понад половина ДНК геному людини містить повторювані послідовності й щоразу в ході транскрипції та/або реплікації, при розкручуванні цих повторів утворюються одноланцюгові відрізки, які можуть перетворюватися на різноманітні неканонічні форми [6]. Серед цих форм ДНК найвідоміші G-квадруплекси (G4) та і-мотиви, а також триплекси, шпильки, хрестоподібні форми та ін [7].

2. Біологія G4

2.1. Передумови утворення G4

Структурною одиницею ДНК та РНК є нуклеотид, що складається з азотистої основи, (дезокс)рибози та залишку фосфорної кислоти. Серед 5 нуклеозидів (A, T/U, G, C), що утво-



рюють нуклеїнові кислоти, тільки гуанозин здатний самоасоціюватися в розчині з утворенням пар основ GG за рахунок водневих зв'язків Хугстіна (HG) [4, 8], формуючи, таким чином, неканонічні вторинні структури вищого порядку – G-квартети/G-квадруплекси [9].

2.2. Історія G4

Історія G4 починається з опублікованої в 1910 році І. Бангом статті [10], в якій уперше повідомлялося про те, що в разі високих концентрацій гуанілова кислота в калієвому середовищі утворює гель. Це відкриття тривалий час залишалося кумедним феноменом, що не викликало в дослідників належного інтересу.

Через п'ятдесят років група М. Геллєрта досліджувала цей гель методом рентгенівської дифракції та показала, що гуанілові кислоти можуть збиратися в квартети, які утворюють тетрамерну структуру вищого порядку [11].

Це відкриття перебувало у високій відповідності з раніше опублікованими даними К. Хугстіна щодо кристалічної структури комплексу, де метильовані аналоги А і Т утворюють

пару основ, геометрія якої відрізняється від описаної Д. Уотсоном і Ф. Кріком. Так само можливе утворення альтернативної геометрії при спарюванні основ G·C (рис. 1), а подвійна спіраль у такому разі приймає зовсім іншу форму [4, 8].

Після першого опису G-квартетів і G-квадруплексів (G4) тривалий час існував загальний скепсис щодо можливості не тільки їхнього утворення та існування *in vivo*, але й наявності в них будь-яких біологічних функцій. Однак наприкінці 1980-х років з'явилися інтригуючі припущення про біологічну значущість G-мотиву, який, як виявилось, досить легко утворюється в ДНК. Ретельні біофізичні дослідження олігонуклеотидів ДНК з послідовностями з областей перемикання імуноглобуліну або теломер в умовах *in vitro*, близьких до фізіологічних, показали стабільне спонтанне утворення чотирьохланцюжкових структур ДНК, названих G-квадруплексами (G4) або G-тетраплексами [12]. Ці та подальші численні роботи, що присвячені G4, почали розсіювати скепсис щодо даних структур, який трансформувался в дедалі більш зростаючий інтерес,

відображений у багаторазово збільшеній публікаційній активності на цю тему останніх двох десятиліть [13]. Це переконливо свідчить про біологічну релевантність мотивів і структур G4, функція яких *in vivo* асоціюється з визнаними механізмами регуляції безлічі біологічних процесів на рівні нуклеїнових кислот і про їхній величезний потенціал у біології, медицині, фармакології, біотехнології та інших сферах [9, 13, 15–19].

2.3. Чому в геномі співіснують WC та HG пари?

Подвійна спіраль ДНК кодує рівновагу WC-HG пар, причому кодування пар основ HG у збудженому стані розширює структурну складність ДНК за межі можливостей алфавіту канонічних зв'язків W-C. Наприклад, пари основ HG, які присутні в структурі ДНК, специфічно ідентифікуються різноманітними клітинними білковими тригерами – факторами транскрипції, включаючи TBP (TATA-binding protein), пухлинними супресорами типу p53 та ін.

До того ж ці HG пари складають другий часовий рівень генетичного коду й є доступною та енергетично компетентною альтернативою спарюванню основ WC, що мають дуже різні електростатичні та гідروفобні сигнатури [20].

Динамічні структурні переходи між звичайною В-ДНК та її альтернативними конформаціями на основі HG зв'язків за участю ферментів хеліказ помітно розширюють рівні регуляторного контролю в експресії генів, що корелює з важливими біологічними функціями [14, 21].

Нещодавно була запропонована оригінальна концепція, що пояснює співіснування та використання в організмі двох «кодів» – один з них «генетичний код», який заснований

на мові WC зв'язків, а інший «функціональний код» – на мові – HG. Автори концепції зазначають, що «функціональні коди можуть бути активовані динамічною зміною молекулярного середовища всередині клітини та бути відповідальними за контроль таких біомолекулярних реакцій, як експресія генів» [22]. Таким чином, фолдинг G4 *in vivo* є іншим рівнем негенетичної, неепігенетичної, але структурної регуляції експресії генів [23].

2.4. Локалізація G4 у клітині

Уперше *in vivo* G4 виявлені в теломерах інфузорій методом непрямой імунофлуоресценції антитіл, які специфічні до структури G4, і було показано, що утворення теломерної структури G4 динамічно контролюється білковими взаємодіями, які залежні від фаз клітинного циклу [24]. Незабаром G4 були візуалізовані в клітинах людини [25], у малігнізованих тканинах шлунка та печінки [26]. Натепер накопичилася велика кількість свідчень того, що геноми всіх трьох доменів живого – археї, бактерії, включаючи віруси та еукаріоти [13], багаті послідовностями з мотивами потенційного утворення G4, які розташовані не випадково та корелюють з функціонально важливими ділянками геному.

За допомогою низькомолекулярних флуоресцентних зондів і моноклональних антитіл переконливо показано значне поширення G4 в ядерному, цитоплазматичному та мітохондріальному хроматині, про що свідчать численні дослідження [18].

3. Структура G4

3.1. Квартети, октамери, квадруплекси

Як зазначалося, самоасоціація залишків гуаніну зумовлена його особливими властивостями, наявністю

стерично відповідних одне одному електродонорних й електроноакцепторних центрів і сильним молекулярним диполем, який ідеально придатний для стекування [27]. Ці передумови самоасоціації залишків гуаніну були описані М. Гелертом і колегами понад 60 років тому [11] у вигляді моделі, яка утворена на основі даних дифракції волокон, що мають донорні атоми N1-H та N2-H однієї молекули гуаніну, спареної з атомами N7 та O6 – сусідньої.

G-квартет, що утворився таким чином, є плоским макроциклом, який утримується вісьмома водневими зв'язками (рис. 2). По вертикалі G-квартети, як було встановлено, розташовуються один від одного на відстані 3,25 Å за принципом «голова» та «хвіст» [27].

Гуаніни, що утворюють тетради, координують через кисень O6, деякі одно- або двовалентні катіони, зазвичай K^+ і Na^+ в їхньому центрі, що називається центральним каналом (стеблом) (рис. 3 А). Одна гарна особливість такої структури – це чотири колінеарні катіони, що розташовані по центральному каналу на відстані 3,3 Å один від одного. Можливе електростатичне відштовхування між катіонами каналу явно мінімізується атомами кисню G-квартету й арома-

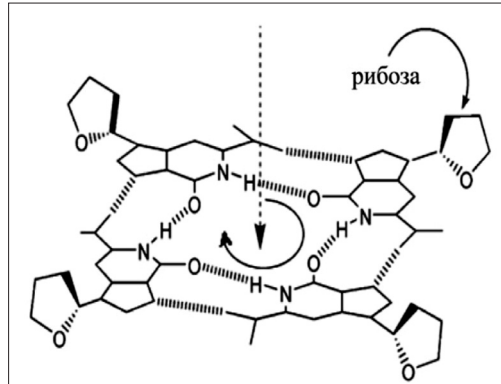


Рис. 2. Приєднані цукри утворюють хіральний G-квартет, що має діастереотопні грані, «голову» і «хвіст». «Головою» G-квартету є грань з обертанням за годинниковою стрілкою водневих зв'язків NH–C=O [27]

тичними кільцями [27]. Основна структура всіх G4 є накладанням як мінімум двох, але зазвичай трьох і більше тетрад або квартетів (рис. 3 Б, В), кожен з яких, як зазначалося, утворений квазікопланарною асоціацією чотирьох гуанінів, які з'єднані мережею з восьми водневих зв'язків (рис. 3 А).

Структура G4 залежить не тільки від послідовності ДНК, але й значною мірою від її іонного оточення [27–29]. Останнім часом зростає інтерес до мультимірних G4 [30] і G4 з такими унікальними характеристиками, як G-вакансії [31], довга петля з дуплексом або опуклість [32, 33].

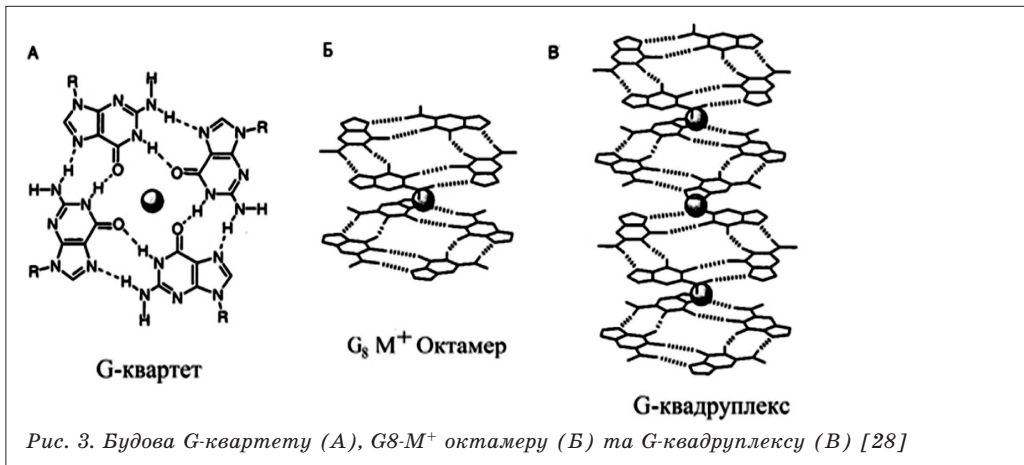


Рис. 3. Будова G-квартету (А), G8-M⁺ октамеру (Б) та G-квадруплексу (В) [28]

4. Топології G4

Квадруплекси завжди стабілізовані катіонами та можуть утворюватися з окремих чотирьох, двох, або з одного ланцюжка (рис. 4). Гуанінові тракти квартету можуть бути орієнтовані щодо їхньої полярності 5'-3' на чотири різні топології: 1) паралельні чотири ланцюги (рис. 4а), 2) паралельні два сусідні ланцюги з однією полярністю (рис. 4 б), 3) антипаралельні з двох діагонально розташованих у зворотному напрямку ланцюгів (рис. 4 в) і 4) антипаралельні з одного ланцюга (рис. 4 г).

Крім класичних G4 ДНК і G4 РНК, в умовах *in vitro* виявлено новий гібридний тип G4 ДНК:РНК (HQ) міжмолекулярний G4, що утворений двома або трьома G-трактами, які присутні на нематричному ланцюзі ДНК нижче за стартовий сайт транскрипції (TSS) [34].

4.1. Поліморфізм петель G4 та G4

Одноланцюгові ділянки, що з'єднують G-квартети, називаються петлями (рис. 5), які можна розділити на чотири основні сімейства: 1) ребристі (латеральні) петлі, що з'єднують дві сусідні антипаралельні нитки (рис. 5 а); 2) діагональні петлі, що з'єднують дві протилежні антипаралельні нитки (рис. 5 б); 3) дволанцюгові петлі-перевороти (пропе-

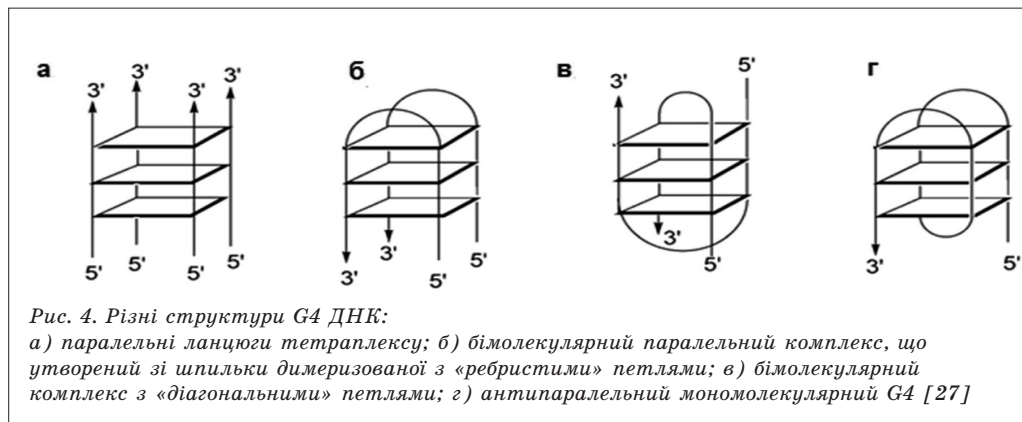
лєрні), що поєднують сусідні паралельні нитки (рис. 5 в); 4) V-подібні петлі, що поєднують два кути ядра G-тетрад, в якому відсутня одна опорна колонка (рис. 5 г). Ці різні петлеві мотиви в поєднанні з різною орієнтацією ниток і розподілом *syn/anti* глікозидних конформацій були виявлені в багатьох мономерних (внутрішньомолекулярних) і димерних G4.

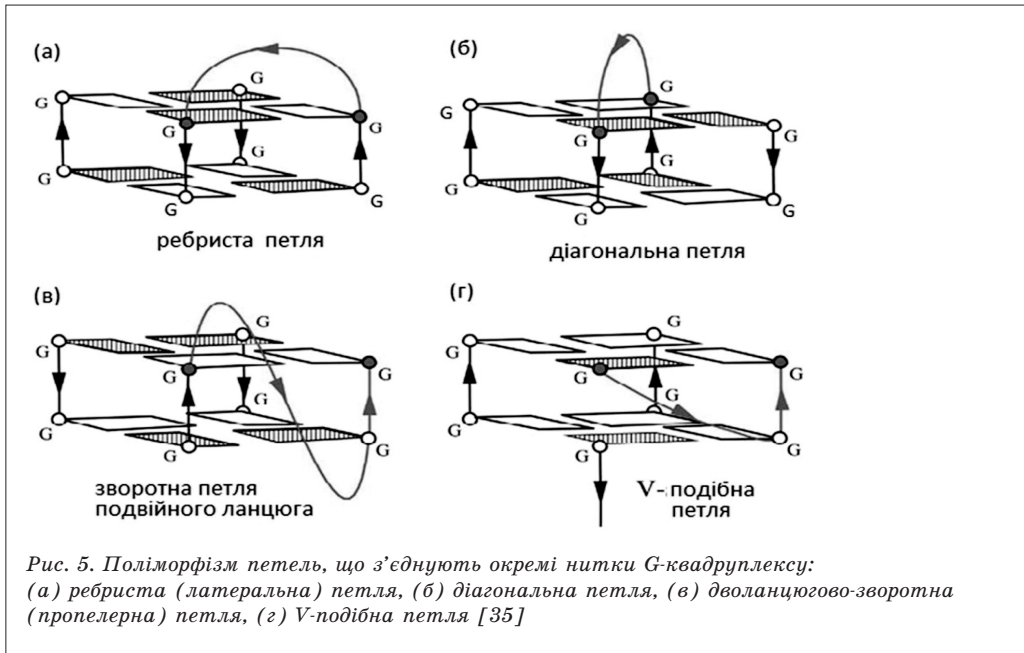
Притаманний G4 високий рівень поліморфізму зумовлений трьома взаємопов'язаними факторами:

- 1) молекулярністю – кількістю та складом ниток, що утворюють G4, та їхньою орієнтацією;
- 2) *syn/anti*-глікозидною конформацією гуанілатів;
- 3) довжиною та складом петель.

За молекулярністю G4 структури можна поділити на внутрішньомолекулярні та міжмолекулярні. Олігонуклеотиди з однією, двома або чотирма G-ділянками можуть утворити відповідно мономерні, димерні, або тетрамерні G4 [27, 35].

У мономерних і димерних G4 петлі з'єднують G-ділянки. Нещодавно було показано, що структури G4 з довгими петлями й опуклостями є перспективними в плані розробки нових діагностичних і терапевтичних підходів, що засновані на цих структурних особливостях [36].





5. Утворення G4 *in vivo*

Біоінформатичні дослідження геному людини виявили понад 300 000 послідовностей, що потенційно утворюють G4-ДНК та відповідають послідовності $G_{\geq 3N_x \geq 3} N_x G_{\geq 3} N_x G_{\geq 3}$, де G – гуанін, N_x – утворюючі петлю будь-які проміжні азотисті основи в кількості від 1 до 7 [37]. Пізніше визначення послідовностей потенційного утворення G4-ДНК у середовищі K^+ розширилося до більш довгих петель (від $x \leq 15$ до ≤ 21) [38], і в поєднанні з методами секвенування [39] кількість таких послідовностей, що відповідають структурі $G_{\geq 3} N_x G_{\geq 3} N_y G_{\geq 3} N_x G_{\geq 3}$ ($x \leq 7, y \leq 21$) G4ДНК, зростає до понад 500 000. Таким чином, було твердо встановлено переважання G4-ДНК у нашому геномі.

Цікаво, що утворення G4 у геномній ДНК конкурує з W-C спарюванням основ, але при виникненні негативного торсійного стресу, викликаного активацією РНК- і ДНК-полімераз у процесі реплікації, транскрипції та репарації пошкоджень ДНК, ця конкуренція завжди зміщується на

користь фолдингу G4 [40]. Іншою ревалентною умовою утворення G4 у клітинному контексті геномної ДНК є так званий внутрішньоклітинний краудинг або внутрішньоклітинна молекулярна скупченість. Через ентропійні ефекти у внутрішньоклітинному замкнутому просторі зростає стабільність згорнутої макромолекули [41]. Термодинамічна стабільність внутрішньомолекулярної трьохтетради G4 після її утворення відповідає приблизно такій для спіральної дуплексної ДНК аналогічної довжини [42].

5.1. G4-РНК

Очевидний факт наявності та домінування в нашому геномі G4-ДНК порушує питання про біологію G4-РНК, яке також ретельно вивчається [23], тим більше, що структурно-функціональні зв'язки в РНК значно тісніші, ніж у ДНК [43]. Сьогодні в геномі людини обчислювальними методами ідентифіковано понад 1,1 млн. багатих на гуанін, послідовностей, що потенційно утворюють G4-РНК. Методом *in silico* в 5' і 3' РНК, що не транскрибуються, а

також в сплайсинговій сполуці мРНК уперше в довгих некодуючих РНК виявлено надлишок G4, тоді як у більшості малих сімейств некодуючих РНК G4 практично відсутні. Дослідження *in vitro* щодо високопродуктивного секвенування зі зупинкою ревертази показали, що в геномі людини широко представлені не тільки G4-ДНК, а й G4-РНК. Так, наприклад, в умовах, багатих K^+ , у транскриптомі людини – у пулі очищених поліаденильованих мРНК культивованих клітин HeLa виявлено понад 3000 локусів, що потенційно утворюють G4 та відповідають структурі $G_{\geq 3}N_xG_{\geq 3}N_yG_{\geq 3}N_xG_{\geq 3}$ ($x \leq 12, y \leq 12$) [39], і понад 6000 подібних локусів з грубих клітинних екстрактів (включаючи кодуючі та некодуючі РНК) [23].

G4 – важливі структурні характеристики мРНК і за умов *in vivo* в її регіонах, що збагачені гуаніном, утворення G4 полегшується через переважання її одноланцюгової форми [44]. Методами клітинної візуалізації з використанням імунофлуоресценції G4-специфічних антитіл і зондів отримані докази утворення G4-РНК *in vivo* [26]. Це дивно, оскільки раніше припускали, що *in vivo* утворення G4-РНК у клітинах людини – явище тимчасове. Докази справжності утворення G4-РНК дає цінну інформацію про його регуляторні механізми та функції, а також стимулює розробку нового альтернативного протоколу досліджень перехідних G4 і транскриптомних ландшафтів *in vivo*, які показали, що в транскриптах генів, багатих на сайти GC, присутні більше G4, а щільність передбачених G4 мотивів – більш висока [45]. Крім того, максимальна кількість G4 виявлена у функціональних областях мРНК, включаючи 5'- та 3'-нетрансльовані регіони [44]. Усі ці дані про високу щільність G4 у

функціонально важливих регіонах мРНК підкреслюють вирішальну роль G4 у процесах термінації, транскрипції, альтернативного сплайсингу, регуляції трансляції та підтримки цілісності хромосом [45, 46].

Припущення про те, що утворення G4-РНК у клітинах *in vivo* глобально пригнічене [47], а функціонально некодуючі РНК шляхом тимчасового утворення в них G4 структур (поряд з іншими численними функціями) регулюють експресію генів на G4-опосередкованому рівні трансляції [45], наближає нас до розуміння істинної ролі G4 у посттранскрипційних механізмах [48].

Таким чином, структури G4-РНК, подібно до своїх G4-ДНК аналогів, дуже динамічні та відіграють важливу роль у безлічі молекулярних процесів, серед яких найзначущі функції мРНК – трансляція, сплайсинг, поліаденилювання та термінація. Цілком очевидно, що G4-РНК більш привабливі для фармакологічних впливів як молекули-мішені, оскільки відрізняються від G4-ДНК паралельною топологією, меншою гідратованістю, більшою компактністю та термодинамічною стабільністю [49].

6. Фактори, що стабілізують G4

До факторів, що стабілізують G4, а також сприяють фолдингу їхньої певної топології або суміші топологій, відносяться наступні [29]:

- 1) водневі зв'язки в квадруплексних нуклеїнових кислотах, які існують у вигляді $C_2NH_2:N$ та $O6:N1H$ (рис. 1 і 2);
- 2) стекінг-взаємодії, як і в інших вторинних структурах нуклеїнових кислот, стабілізують G4, частково за рахунок π - π -укладання ароматичних основ, у даному випадку гуанінів з послідовних тетрад (рис. 3);

3) сольватація – молекули води утворюють більшу частину контактів водневих зв'язків між лігандами та ДНК у паралельних G4 структурах. Кластери молекул структурованої води відіграють важливу роль у посередництві між групами бічних ланцюгів ліганд/хромофорного ядра та G4 [50];

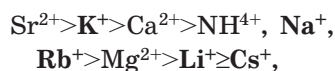
4) катіони – їхня природа й характеристики значною мірою визначають архітектуру та стабільність G4, причому домінуючий внутрішньоклітинний катіон K^+ , як правило, ефективніший, ніж Na^+ [51]. Високі внутрішньоклітинні рівні іонів K^+ надають сильний стабілізуючий вплив на G4, сприяючи, тим самим, їхньому утворенню [52]. Більш того, для G4-РНК виявлено пряму пропорційну залежність термостабільності від концентрації іонів Na^+ та K^+ [53].

Вільна енергія зв'язування Na^+ є сприятливішою, ніж енергія K^+ , але енергія, яка необхідна для координації K^+ всередині G4, набагато менше енергії, що необхідна для дегідратації іонів Na^+ . У зв'язку з цим важливо відзначити, що тетрадно пов'язані катіони, на відміну від дифузно пов'язаних, повністю втрачають свою гідратну сферу [54]. Тому катіонну селективність для G4 визначає чиста різниця між двома енергіями – більш висока енергетична вартість Na^+ порівняно з K^+ робить K^+ кращим для зв'язування G4 [29].

Кінетичні виміри показують, що вплив іонів Na^+ і K^+ на утворення G4 здійснюється двома зовсім різними способами: наявність Na^+ помірно посилює антипаралельну топологію G4 шляхом індукованого припасування з низькою спорідненістю ($K_d = 228 \pm 26$ мМ), у той час як K^+ переводить G4 у паралельну/гібридну топологію за допомогою механізму кон-

формаційного відбору з набагато більш високою афінністю ($K_d = 1,9 \pm 0,2$ мМ) [55].

Такий потужний стабілізуючий вплив катіонів стає можливим завдяки унікальному каналу негативного заряду (центрального стебла) G4, утвореному киснем (O6) гуанінів (рис. 4). Електростатична взаємодія структур G4 з катіонами лужних і лужноземельних металів, як і їхня стабілізуюча активність відносно G4 відповідає загальній тенденції:



проте, серед лужних металів тільки K^+ , Na^+ та Rb^+ дійсно ефективні для стабілізації G4 [12, 29].

Координація катіонів абсолютно необхідна для утворення G4 та стабілізації стопок G-тетрад. Взаємодія будь-якого іона в G4 визначається насамперед його іонним радіусом і енергією гідратації, що, як відомо, у лужних металів обернено пропорційна іонному радіусу.

Вважається, що іон Li^+ дуже малий, щоб зв'язуватися в центрі тетради G4, тоді як Na^+ ідеально вписується, але більші іони – K^+ , NH_4^+ і Cs^+ (іонні радіуси, відповідно, 1,33 і 1,48 і 1,74 Å), не поміщаються в площині одного G-квартету та розташовуються між шарами. З цієї причини найменший іон (Li^+) і найбільший іон (Cs^+) дестабілізують структуру G4 [29, 56].

6.1. Генетичні детермінанти стабільності G4

Є всі підстави вважати, що стабільність G4 генетично детермінована, оскільки вона залежить не тільки від кількості G-тетрад, довжини та топології петель [57, 58], але також від складу послідовності як у самому мотиві G4, так і у фланкуючих областях [59].

Найновіші дослідження свідчать про те, що групування кінців дуплексу на межі G-тетради може бути ключовим фактором стабільності G4 промотора, детермінуючи стеричну заборону на антипаралельні та гібридні топології [60].

Встановлено також, що стабільність G4 обернено пропорційна довжині петлі: чим коротша петля, тим стабільніша G4. При дослідженні температури плавлення (T_m) великої панелі G4 з різною довжиною петель встановлено, що довжина петлі більше 9 нуклеотидів дестабілізує структуру G4, особливо за наявності ще довгих петель [61], причому, як раніше вже зазначалося, G4-РНК зазвичай більш стабільні, ніж їхні аналоги ДНК [62].

6.2 Низькомолекулярні ліганди можуть стабілізувати структуру G4

Додатково стабілізувати структуру G4 у місцях їхньої локалізації, а значить модулювати клітинні функції, що асоційовані з G4, можна шляхом селективного зв'язування невеликих молекул-лігандів (рис. 7), перелік яких перевищує тисячу [48, 63]. До них належать природні та синтетичні поліароматичні макроциклічні системи та металокомплекси [63], гетероциклічні порфірини (TMPyP4; NMM), порфіразини, акридоні, антрахіноні, перилени, хіноантроксазини, бістріазоли та ін. У тій самій групі – піридоптерини (PDS) [64], похідні акридину (RPHS4), хінакридину (BOQ1; NCQ), алкалоїди та поліфеноли традиційної китайської медицини, такі як берберин, ізоіндиготон, хіназолін і т. ін. [48, 65].

Загальною структурною характеристикою лігандів G4 є наявність гетероароматичного або макроциклічного ядра, яким вони стекуються з

поліциклічними, ароматичними ядрами торцевих G-квартетів G4, а своїми бічними позитивно зарядженими групами багато лігандів G4 зв'язуються з гідрофільними сайтами борозн і петель G4 [27] (рис. 7). Такі ліганди, як флавоноїди можуть інтеркалювати між шарами G-квартету й іноді, замість прикріплення до існуючих G4 сприяють їхньому фолдингу в послідовностях, багатих на гуанін [6].

Ліганди розглядаються як дуже перспективні фармакологічні агенти, оскільки вони зазвичай малотоксичні та зв'язуються з G4 з високою афінністю (константа зв'язування зазвичай нижче 10^{-6} моль \cdot л $^{-1}$), проте крім афінності та здатності стабілізувати G4 вони повинні бути селективними щодо топології G4 та дуплексної ДНК [48], а також відрізнятися стабільністю в умовах *in vivo* та мати характеристики лікарських сполук [66].

7. G4 та антиоксидантний захист геному

Активні форми кисню (АФК) сильно впливають на утворення, стабільність і біологічну роль G4 [19], що пояснюється дуже високою чутливістю G4 до окисного пошкодження через більш низький редокс-потенціал G-багатих повторів та їхніх унікальних структурних характеристик. Відомо, що АФК викликають утворення в ДНК 8-оксогуаніну (8-охоG), накопичення якого, наприклад, у G4 промотора гена VEGF (фактору росту ендотелію судин), порушує його транскрипцію [67], а окисне пошкодження нуклеотидів теломер порушує фолдинг G4, що, у свою чергу, дестабілізує їх, стимулює теломеразну активність [68], сприяючи розвитку різної, зокрема вікової патології.

Враховуючи потенційно високу токсичність вільного гему, що ініціює утворення АФК, надмірна продукція

яких веде до розвитку окиснювально-го стресу, виникла гіпотеза про антиоксидантну функцію G4, згідно з якою, G4 є пасткою вільного гема, що захищає від окиснювального ушкодження не тільки ДНК, а й клітину в цілому [69]. Утворення комплексу гем-G4, що має виражену пероксидазну та пероксигеназну активність, полегшується повною відповідністю каркасу протопорфірину IX при його стекуванні з кінцевими G-квартетами G4 та аксіальною координацією іона тривалентного заліза гему залишками гуаніну або цитозину [70].

Антиоксидантний захист за участю G4 можливий також шляхом формування в клітинах стресових гранул й активації Nrf2 (редокс-чутливого транскрипційного фактора), що ініціює експресію генів детоксикації АФК [19]. Такими оригінальними способами G4 захищають від окисного стресу сусідні дуплексні регіони ДНК і в цілому стабілізують геном, що добре узгоджується та корелює з надлишком і поширеністю в геномі мотивів G4 [69].

8. Розподіл і роль G4 у геномах людини та патогенів

Методом високопродуктивного секвенування «G4-seq» за допомогою реакції зупинки полімерази в присутності G4 в геномі людини виявлено 716 310 послідовностей, що потенційно утворюють G4, причому 451 646 з них не були передбачені обчислювальними методами [38]. Дуже важливо ще раз підкреслити, що послідовності з потенціалом утворення G4 у геномі розподілені не випадково, і G4 часто виявляються поблизу точок початку реплікації (ориджинів), що формує контекст генетичного коду [32].

Причетність G4-утворюваних структур до реплікації підкреслюється тим, що більшість генів людини, що

реплікуються, містять мотиви G4. Значна частина (до 50 %) генів людини містить у сайтах своїх промоторів мотиви G4, що відображає їхню участь у регуляції експресії генів шляхом ініціації й інгібування транскрипції. У низці випадків G4 діють як високо афінні сайти стекування та зв'язування факторів транскрипції, що ініціюють експресію багатьох генів [71–73]. Так, наприклад, у геномі людини G4 рекрутують численні білкові транскрипційні фактори, включаючи SP2, NRF1, FUS, MYC, YY1 і ZHX1 [73]. Цікаво відзначити, що сайти потенційного утворення G4 у геномі живих клітин людини представлені в значній кількості не тільки в областях транскрипції генів, а й у зонах реорганізації хроматину [74].

G4 ДНК також відіграють важливу роль в інгібуванні транскрипції, діючи як на матричних, так і на нематричних ланцюгах ДНК як структурні бар'єри, що перешкоджають активності РНК-полімераз. Реально виявлені в клітинах G4 становлять менше 1 % G4-потенційних геномних сайтів, ідентифікованих методом G4-seq або передбачених алгоритмами G4 [38]. Це свідчить про високу динамічність фолдингу G4 *in vivo* і сильну залежність його від генетичного контексту [9, 19]. Сьогодні стає все очевиднішим, що в геномах клітин різні їхні типи або стани мають різні патерни утворення G4, а передбачувана фізіологічна роль G4 змінюється, як мінімум, за таких серйозних патологічних станів, як рак і неврологічні розлади [14]. G4-РНК, у свою чергу, регулюють експресію багатьох генів, пов'язаних з ознаками раку, тому вивчення регуляторних механізмів їхнього утворення в клітинному контексті є принциповим і фундаментальним завданням [75].

8.1. G4 бактерій і вірусів

Ретельне дослідження біології G4 еукаріотів останнім часом супроводжувалося не менш докладним вивченням цих структур нуклеїнових кислот у бактеріях, вірусах та ін. [13, 15, 76]. Цікаво відзначити, що для таких ссавців, як миша та людина, характерною є наявність G4 у промоторах генів, якої не виявлено в бактерій і дріжджів [77]. Встановлено, що G4 у бактерій також розташовані в життєво важливих структурах, регуляторних областях їхнього геному, асоційованих з реплікацією, радіорезистентністю, антигенною мінливістю та латентністю [76]. У вірусів функції G4 пов'язані з регуляцією всіх ключових стадій їхнього життєвого циклу [78].

Нещодавно виявлено зв'язок процесу утворення та функцій G4 у таких соціально значущих патогенів, як *Mycobacterium tuberculosis* [79], *Pseudomonas aeruginosa* [80], вірус папіломи людини (ВПЛ) [81], вірус імунодефіциту людини (ВІЛ) [78] та SARS-CoV-2 [82].

Сьогодні досліджується проблема участі G4 й інших неканонічних форм ДНК і РНК у механізмах вірулентності патогенів, їхній антигенній варіабельності, вислизанні від розпізнавання імунною системою господаря та ін. Це відкриває привабливі перспективи розробки фармакологічних засобів, які безпосередньо впливають на G4 або опосередковано через G4-зв'язуючі білки.

8.2. G4 та рак

Останніми роками підвищений інтерес науковців викликає дослідження зв'язку між G4 і різними захворюваннями, особливо щодо раку, при якому вивчення G4 зосереджено на їхній гомеостатичній ролі в геномі (підтримці теломер, дуплікації геному,

експресії генів) і визначило G4 як потенційну терапевтичну мішень проти пухлинних клітин [83, 84].

Є підстави вважати, що G4-ДНК і РНК відіграють плейотропну роль у різних трансакціях нуклеїнових кислот. До них належать регуляція довжини теломер, архітектура хроматину (формування петель хроматину), регуляція епігенома (сполучення з реплікацією), реплікація (її ініціація), транскрипція (промоція або інгібування), трансляція (інгібування), сплайсинг, підтримка життєвого циклу вірусів, транспозиція (ретротранспозиції), репарація та рекомбінація (у бактерій у фазі перенесення) та ін.

Згодом будуть розглянуті можливі підходи, механізми та перспективи використання G4 як фармакологічні мішені.

Висновки

1. Незабаром після відкриття Уотсоном і Кріком класичної (канонічної) моделі вторинної структури (В-структури) ДНК, яка утворена водневими зв'язками W-C, К. Хугстін виявив альтернативний тип взаємодій азотистих основ (зв'язку HG), що беруть участь у формуванні G-квадруплексів (G4) – вторинних неканонічних структур ДНК і РНК вищого порядку. G4, які виявлені в геномах усіх трьох доменів живого (археї, бактерії/віруси та еукаріоти), відіграють плейотропну роль у багатьох трансакціях ДНК та РНК.
2. ДНК кодує рівновагу WC-HG пар, причому з урахуванням зв'язків HG її неканонічні форми розширюють структурну складність ДНК межі можливостей алфавіту канонічних зв'язків W-C.
3. Процеси фолдингу/розплетення G4 нуклеїнових кислот у нормальних

- клітинах є тимчасовими, ефективно контролюються ферментами – хеліказами, відрізняються динамізмом і у поєднанні з винятково високим рівнем поліморфізму G4 ефективно контролюють експресію генів, стабільність геному та інші функції.
4. Порушення балансу фолдинг/розплетення G4 ДНК і РНК у клітинах асоційоване з розвитком онкологічних, нейродегенеративних та інших захворювань.
5. Невеликі молекули-ліганди, природного та/або штучного походження, що стабілізують G4 структури, розглядаються як перспективні фармакологічні агенти, що ефективно впливають на велику кількість внутрішньоклітинних процесів як у людини, так і патогенів.

1. Watson J. D., Crick F. H. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953. V. 171. P. 737–738.
2. Franklin R. E., Gosling R. G. Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature*. 1953. V. 171 (4356). P. 740–741.
3. Chargaff E. Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. *Experientia*. 1950. V. 6 (6). P. 201–209.
4. Hoogsteen K. The structure of crystals containing a hydrogen-bonded complex of 1-methylthymine and 9-methyladenine. *Acta crystallographica*. 1959. V. 12 (10). P. 822–823.
5. New insights into Hoogsteen base pairs in DNA duplexes from a structure-based survey. H. Zhou, B. J. Hintze, I. J. Kimsey et al. *Nucleic acids research*. 2015. V. 43 (7). P. 3420–3433.
6. Bag S., Burman M. D., Bhowmik S. Structural insights and shedding light on preferential interactions of dietary flavonoids with G-quadruplex DNA structures: a new horizon. *Heliyon*. 2023. V. 9 (3). P. e13959.
7. Bansal A., Kaushik S., Kukreti S. Non-canonical DNA structures: diversity and disease association. *Front. Genet.* 2022. V. 13. P. 959258.
8. Hoogsteen K. R. The crystal and molecular structure of a hydrogen-bonded complex between 1-methylthymine and 9-methyladenine. *Acta Crystallogr.* 1963. V. 16. P. 907–916.
9. Yang D. G-Quadruplex DNA and RNA. In: Yang, D., Lin, C. (eds) G-Quadruplex nucleic acids. *Methods in molecular biology*. 2019. V. 2035. Humana, New York, NY.
10. Bang I. Untersuchungen über die Guanylsäure. *Biochem. Z.* 1910. (26). P. 293–311.
11. Gellert M., Lipsett M. N., Davies D. R. Helix formation by guanylic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1962. V. 48. P. 2013–2018.
12. Sen D., Gilbert W. Formation of parallel four-stranded complexes by guanine-rich motifs in DNA and its implications for meiosis. *Nature*. 1988. V. 334. P. 364–366.
13. Unlocking G-quadruplexes as antiviral targets. A. Abiri, M. Lavigne, M. Rezaei et al. *Pharmacol. Rev.* 2021. V. 73. P. 897–923.
14. Maizels N. G4-associated human diseases. *EMBO Rep.* 2015. V. 16 (8). P. 910–922.
15. G-quadruplex structures in bacteria: biological relevance and potential as an antimicrobial target. P. Yadav, N. Kim, M. Kumari et al. *J. Bacteriol.* 2021. V. 203. P. e00577-20.
16. Rigo R., Groaz E., Sissi C. Polymorphic and higher-order G-quadruplexes as possible transcription regulators: novel perspectives for future anticancer therapeutic applications. *Pharmaceuticals*. 2022. V. 15. P. 373.
17. Exploring the relationship between G-quadruplex nucleic acids and plants: from plant G-quadruplex function to phytochemical G4 ligands with pharmaceutical potential. A. P. Falanga, M. Terracciano, G. Oliviero et al. *Pharmaceutics*. 2022. V. 14. P. 2377.
18. Mitochondria and G-quadruplex evolution: an intertwined relationship. V. J. Sahayasheela, Z. Yu, T. Hidaka et al. *Trends Genet.* 2023. V. 39 (1). P. 15–30.
19. Crosstalk between G-quadruplex and ROS. S. Wu, L. Jiang, L. Lei et al. *Cell Death Dis.* 2023. V. 18. V. 14 (1). P. 37.
20. Transient Hoogsteen base pairs in canonical duplex DNA. E. Nikolova, E. Kim, A. Wise et al. *Nature*. 2011. V. 470. P. 498–502.
21. DNA G quadruplex and i motif structure formation is interdependent in human cells. J. J. King, K. L. Irving, C. W. Evans et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2020. V. 142 (49). P. 20600–20604.
22. Takahashi S., Sugimoto N. Watson–Crick versus Hoogsteen base pairs: Chemical strategy to encode and express genetic information in life. *Acc. Chem. Res.* 2021. V. 54. P. 2110–2120.
23. How to untie G-quadruplex knots and why? P. Lejault, J. Mitteau, F. R. Sperti, D. Monchard. *Cell. Chemical. Biology*. 2021. V. 28 (4). P. 436–455.

24. Telomerase recruitment by the telomere end binding protein-b facilitates G-quadruplex DNA unfolding in ciliates. K. Paeschke, S. Juranek, T. Simonsson et al. *Nat. Struct. Mol. Bio.* 2008. V. 15 (6). P. 598–560.
25. Detection of G-quadruplex DNA in mammalian cells. A. Henderson, Y. Wu, Y. C. Huang et al. *Nucleic Acids Res.* 2014. V. 42. P. 860–869.
26. Quantitative visualization of DNA G-quadruplex structures in human cells. G. Biffi, D. Tannahill, J. Maccafferty et al. *Nat. Chem.* 2013. V. 5. P. 182–186.
27. Davis J. T. G-quartets 40 years later: from 5'-GMP to molecular biology and supramolecular chemistry. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 2004. V. 43 (6). P. 668–698.
28. Toward artificial ion channels: a lipophilic G-quadruplex. S. L. Forman, J. C. Fettingner, S. Pieraccini et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2000. V. 122. P. 4060–4067.
29. Largy E., Mergny J.-L., Gabelica V. Role of alkali metal ions in G-quadruplex nucleic acid structure and stability. The alkali metal ions: their role for life, Springer Verlag (Germany). 2016. P. 203–258.
30. Multimeric G-quadruplexes: a review on their biological roles and targeting. I. Frasson, V. Pirota, S. N. Richter, F. Doria. *Int. J. Biol. Macromol.* 2022. V. 204. P. 89–102.
31. Non-G base tetrads. N. Escaja, B. Mir, M. Garavis, C. González. *Molecules.* 2022.V. 27 (16). P. 5287.
32. G-quadruplex DNA: a novel target for drug design. F. Y. Teng, Z. Z. Jiang, M. Guo et al. *Cell. Mol. Life Sci.* 2021. V. 78 (19–20). P. 6557–6583.
33. Stable bulged G-quadruplexes in the human genome: identification, experimental validation and functionalization. C. Papp, V. T. Mukundan, P. Jenjaroenpun et al. *Nucleic Acids Res.* 2023. V. 51 (9). P. 4148–4177.
34. DNA:RNA hybrid G-quadruplex formation upstream of transcription start site. J.-Y. Zhang, Y. Xia, Hao et al. *Sci. Rep.* 2020. V. 10. P. 1–6.
35. Phan A. T., Kuryavyy V., Patel D. J. DNA architecture: from G to Z. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2006. V. 16 (3). P. 288–298.
36. Ngoc Nguyen T. Q., Lim K. W., Phan A. T. Duplex formation in a G-quadruplex bulge. *Nucleic Acids Res.* 2020. V. 48. P. 10567–10575.
37. Todd A. K. Bioinformatics approaches to quadruplex sequence location. *Methods.* 2007. V. 43 (4). P. 246–251.
38. High-throughput sequencing of DNA G-quadruplex structures in the human genome. V. S. Chambers, G. Marsico, J. M. Boutell et al. *Nat. Biotechnol.* 2015. V. 33 (8). P. 877–881.
39. Kwok C. K., Merrick C. J. G-quadruplexes: prediction, characterization, and biological application. *Trends Biotechnol.* 2017. V. 35 (10). P. 997–1013. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.06.012>. Epub 2017 Jul 26. PMID: 28755976.
40. Quantification of topological coupling between DNA superhelicity and G-quadruplex formation. S. Selvam, D. Koirala, Z. Yu, H. Mao. *J. Am. Chem. Soc.* 2014. V. 136. P. 13967–13970.
41. Confined space facilitates G-quadruplex formation. P. Shrestha, S. Jonchhe, T. Emura et al. *Nat. Nanotechnol.* 2017. P. 12. P. 582–588.
42. Meier-Stephenson V. G4-quadruplex-binding proteins: review and insights into selectivity. *Biophys. Rev.* 2022. V. 14. P. 635–654.
43. The roles of structural dynamics in the cellular functions of RNAs. L. R. Ganser, M. L. Kelly, D. Herschlag, H. M. Al-Hashimi. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2019. V. 20. P. 474–489.
44. Analysis of NRAS RNA G-quadruplex binding proteins reveals DDX3X as a novel interactor of cellular G-quadruplex containing transcripts. B. Herdy, C. Mayer, D. Varshney et al. *Nucleic Acids Res.* 2018. V. 46. P. 11592–11604.
45. Transcriptome-wide identification of transient RNA G-quadruplexes in human cells. S. Y. Yang, P. Lejault, S. Chevrier et al. *Nat. Commun.* 2018. V. 9. P. 4730.
46. Lee C. Y., McNerney C., Myong S. G-quadruplex and protein binding by single-molecule FRET microscopy. *Methods Mol. Biol.* 2019. V. 2035. P. 309–322.
47. Guo J. U., Bartel D. P. RNA G-quadruplexes are globally unfolded in eukaryotic cells and depleted in bacteria. *Science.* 2016. V. 353. P. aaf5371.
48. G-quadruplexes and their ligands: biophysical methods to unravel G-quadruplex/ligand interactions. T. Santos, G. F. Salgado, E. J. Cabrita, C. Cruz. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021. V. 14 (8). P. 769.
49. Zaccaria F., Fonseca Guerra C. RNA versus DNA G-quadruplex: the origin of increased stability. *Chem. Eur. J.* 2018. V. 24. P. 16315–16322.
50. Neidle S. Structured waters mediate small molecule binding to G-quadruplex nucleic acids. *Pharmaceuticals.* 2022. V.15. P. 7.
51. Effects of monovalent cations on folding kinetics of G-quadruplexes. Jing You, Hui Li, Xi-Ming Lu et al. *Bioscience Reports.* 2017. V. 37.
52. Palmer B. F., Clegg D. J. Physiology and pathophysiology of potassium homeostasis. *Adv. Physiol. Educ.* 2016. V. 40. P. 480–490.

53. Pandey S., Agarwala P., Maiti S. Effect of loops and G-quartets on the stability of RNA G-quadruplexes. *J. Phys. Chem. B*. 2013. V. 117. P. 6896–6905.
54. Misra V. K., Draper D. E. On the role of magnesium ions in RNA stability. *Biopolymers*. 1998. V. 48, No. 2–3. P. 113–135.
55. Nicholson D. A., Nesbitt D. J. Kinetic and thermodynamic control of G-quadruplex polymorphism by Na and K⁺ cations. *J. Phys. Chem. B*. 2023. V. 127 (31). P. 6842–6855.
56. Bhattacharyya D., Mirihana Arachchilage G., Basu S. Metal Cations in G-Quadruplex Folding and Stability. *Front. Chem.* 2016. V. 4. P. 38.
57. Loop-length-dependent folding of G-quadruplexes. P. Hazel, J. Huppert, S. Balasubramanian, S. Neidle. *J. Am. Chem. Soc.* 2004. V. 126. P. 16405–16415.
58. Bugaut A., Balasubramanian S. A sequence-independent study of the influence of short loop lengths on the stability and topology of intramolecular DNA G-quadruplexes. *Biochemistry*. 2008. V. 47. P. 689–697.
59. Machine learning model for sequence-driven DNA G-quadruplex formation. A. B. Sahakyan, V. S. Chambers, G. Marsico et al. *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 14535.
60. Structure of a 28.5 kDa duplex-embedded G-quadruplex system resolved to 7.4 Å resolution with cryo-EM. R. C. Monsen, E. Y. D. Chua, J. B. Hopkins et al. *Nucleic Acids Res.* 2023. V. 51 (4). P. 1943–1959.
61. How long is too long? Effects of loop size on G-quadruplex stability. A. Guédin, J. Gros, P. Alberti, J.-L. Mergny. *Nucleic Acids Res.* 2010. V. 38. P. 7858–7868.
62. Joachimi A., Benz A., Hartig J. S. A comparison of DNA and RNA quadruplex structures and stabilities. *Bioorg. Med. Chem.* 2009. V. 17. P. 6811–6815.
63. Zegers J., Peters M., Albada B. DNA G-quadruplex-stabilizing metal complexes as anti-cancer drugs. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2023. V. 28 (2). P. 117–138.
64. G-quadruplex binder pyridostatin as an effective multi-target ZIKV inhibitor. M. Zou, J. Li, M. Zhang et al. *Int. J. Biol. Macromol.* 2021. V. 190. P. 178–188.
65. The interactions of H₂TMPyP, analogues and its metal complexes with DNA G-quadruplexes – an overview. C. I. V. Ramos, A. R. Monteiro, N. M. M. Moura et al. *Biomolecules*. 2021. V. 11. P. 1404.
66. Developing novel G-quadruplex ligands: from interaction with nucleic acids to interfering with nucleic acid protein interaction. Z. Y. Sun, X. N. Wang, S. Q. Cheng et al. *Molecules*. 2019. V. 24 (3). P. 396.
67. 8-Oxo-7,8-dihydroguanine in the context of a gene promoter G-quadruplex is an on-off switch for transcription. A. M. Fleming, J. Zhu, Y. Ding, C. J. Burrows. *ACS Chem. Biol.* 2017. V. 12. P. 2417–2426.
68. Targeted and persistent 8-oxoguanine base damage at telomeres promotes telomere loss and crisis. E. Fouquerel, R. P. Barnes, S. Uttam et al. *Mol. Cell.* 2019. V. 75. P. 117–130.
69. G-quadruplexes sequester free heme in living cells. L. T. Gray, E. Puig Lombardi, D. Verga et al. *Cell. Chem. Biol.* 2019. V. 26. P. 1681–1691.
70. Li T., Dong S., Wang E. G-quadruplex aptamers with peroxidase-like DNzyme functions: which is the best and how does it work? *Chem. Asian J.* 2009. V. 4 (6). P. 918–922.
71. Kim N. The interplay between G-quadruplex and transcription. *Curr. Med. Chem.* 2019. V. 26. P. 2898–2917.
72. Promoter G-quadruplex folding precedes transcription and is controlled by chromatin. J. Shen, D. Varshney, A. Simeone et al. *Genome Biol.* 2021. V. 22. P. 143.
73. G-quadruplexes are transcription factor binding hubs in human chromatin. J. Spiegel, S. M. Cuesta, S. Adhikari et al. *Genome Biol.* 2021. V. 22. P. 117.
74. The regulation and functions of DNA and RNA G-quadruplexes. D. Varshney, J. Spiegel, Z. Katherine et al. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* V. 21. 2020. P. 459–474.
75. G-quadruplex, friend or foe: the role of the G-quartet in anticancer strategies. J. Carvalho, J. L. Mergny, G. F. Salgado et al. *Trends Mol. Med.* 2020. V. 26 (9). P. 848–861.
76. Saranathan N., Vivekanandan P. G-quadruplexes: more than just a kink in microbial genomes. *Trends Microbiol.* 2019. V. 27. P. 148–163.
77. Whole genome experimental maps of DNA G-quadruplexes in multiple species. G. Marsico, V. S. Chambers, A. B. Sahakyan et al. *Nucleic Acids Res.* 2019. V. 47. P. 3862–3874.
78. G-quadruplexes in viruses: function and potential therapeutic applications. M. Metifiot, S. Amrane, S. Litvak, M. L. Andreola. *Nucleic Acids Res.* 2014. V. 42. P. 12352–12366.
79. Mapping and characterization of G-quadruplexes in Mycobacterium tuberculosis gene promoter regions. R. Perrone, E. Lavezzo, E. Riello et al. *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 5743.
80. RNA G-quadruplex structures mediate gene regulation in bacteria. X. Shao, W. Zhang, M. I. Umar et al. *MBio*. 2020. V. 11. P. e02926-19.
81. Human papilloma virus G-quadruplexes. K. Tluczková, M. Marušić, P. Tóthová et al. *Biochemistry*. 2013. V. 52. P. 7207–7216.

-
-
82. Targeting RNA G-quadruplex in SARS-CoV-2: a promising therapeutic target for COVID-19? C. Zhao, G. Qin, J. Niu et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021. V. 60. P. 432–438.
 83. Han Z. Q., Wen L. N. Application of G-quadruplex targets in gastrointestinal cancers: advancements, challenges and prospects. *World J. Gastrointest. Oncol.* 2023. V. 15 (7). P. 1149–1173.
 84. G-Quadruplexes in c-MYC promoter as targets for cancer therapy. B. Bahls, I. M. Aljnadi, R. Emidio et al. *Biomedicines.* 2023. V. 11 (3). P. 969.

**О. І. Грицук, О. О. Нефьодов, А. О. Цісак, Л. В. Еберле, І. М. Радаєва,
О. І. Александрова, О. В. Устянська**

Нова фармакологічна мішень XXI століття. G-квадруплекси нуклеїнових кислот: структура, властивості та біологія

В огляді наведено історію відкриття та вивчення, а також сучасні дані про будову, властивості та функції квадруплексів (G4) – найвивченіших неканонічних вторинних структур нуклеїнових кислот. G4, що виявлені в геномах усіх трьох доменів живого (археї, бактерії/віруси та еукаріоти), розподілені не випадково та відіграють плейотропну роль у багатьох транзакціях ДНК і РНК. G4 не тільки інгібують та/або ініціюють експресію генів, але й контролюють стабільність геному, залежно від їхнього конкретного розташування. Обговорюються умови процесів фолдингу та розплетення G4, які в нормальних клітинах є тимчасовими та ефективно контролюються ферментами – геліказами, мутації яких асоційовані з розвитком онкологічних, нейродегенеративних й інших захворювань.

Структури G4-РНК, подібно до своїх G4-ДНК аналогів, дуже динамічні та відіграють важливу роль у безлічі молекулярних процесів, серед яких найзначущі функції мРНК – трансляція, сплайсинг, поліаденілювання та термінація. Цілком очевидно, що G4-РНК більш придатні до впливу фармакологічних агентів як молекули-мішені, оскільки вони відрізняються від G4-ДНК паралельною топологією, меншою гідратованістю, але більшою компактністю та термодинамічною стабільністю.

Невеликі молекули-ліганди, природного та/або штучного походження, що стабілізують G4 структури, розглядаються як перспективні фармакологічні агенти, що здатні ефективно впливати на численні внутрішньоклітинні процеси як у людини, так і в патогенів.

Ключові слова: G-квадруплекси, молекули-ліганди, нуклеїнові кислоти, фармакологічна мішень

**О. І. Gritsuk, O. O. Nefodov, A. O. Tsisak, L. V. Eberle, I. M. Radaeva,
O. I. Aleksandrova, O. V. Ustyanska**

A new pharmacological target of the XXI century. G-quadruplexes of nucleic acids: structure, properties and biology

The review presents the history of discovery and study, as well as modern data on the structure, properties and functions of quadruplexes (G4) – the most studied non-canonical secondary structures of nucleic acids. In the genomes of all three domains of life – archaea, bacteria/viruses and eukaryotes – quadruplexes are found, they are distributed non-randomly and play a pleiotropic role in many DNA and RNA transactions. G4s not only inhibit and/or initiate gene expression, but also control genome stability, depending on their specific location. The conditions of G4 folding and unfolding processes, which in normal cells are temporary and effectively controlled by enzymes – helicases, mutations of which are associated with the development of oncological, neurodegenerative and other diseases, are discussed.

G4-RNA structures, like their G4-DNA counterparts, are very dynamic and play an important role in many molecular processes, among which are the most significant functions of mRNA – translation, splicing, polyadenylation and termination. It is quite obvious that G4-RNAs are more attractive and suitable for influences of pharmacological agents as target molecules, since they differ from G4-DNA in parallel topology, less hydration, but greater compactness and thermodynamic stability.

Small molecule-ligands of natural and/or artificial origin that stabilize G4 structures are considered promising pharmacological agents that effectively affect many intracellular processes in both humans and pathogens.

Key words: G-quadruplexes, ligand molecules, nucleic acids, pharmacology target

Надійшла: 8 лютого 2024 р.

Прийнята до друку: 20 березня 2024 р.

Контактна особа: Грицук Олександр Іванович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології та технологій ліків, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, буд. 2, вул. Дворянська, м. Одеса, 65082. Тел.: + 38 0 95 767 05 52.
Поштова пошта: alexgritsuk2019@gmail.com