



# OLIGONUCLEÒTIDS FORMADORS DE G-QUADRUPLEX PER A LA INTERNALITZACIÓ CEL·LULAR D'OLIGONUCLEÒTIDS

Anna Clua Villas – IQAC (CSIC) Barcelona

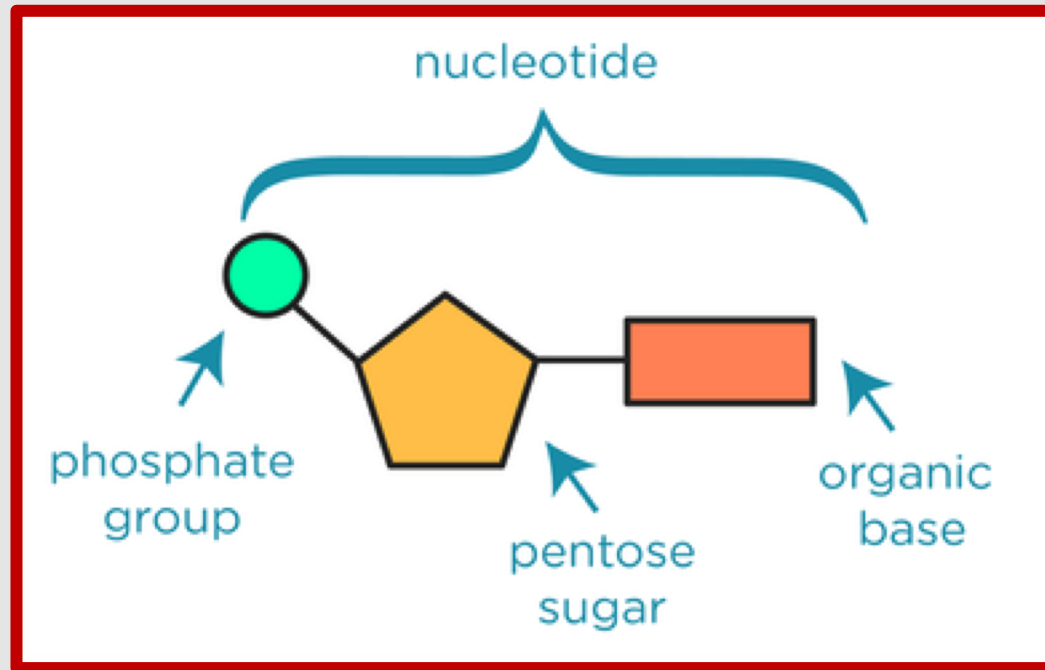
*anna.clua@iqac.csic.es*

Grup de Recerca: Química d'Àcids Nucleics

# Oligonucleòtids

## Nucleòtid

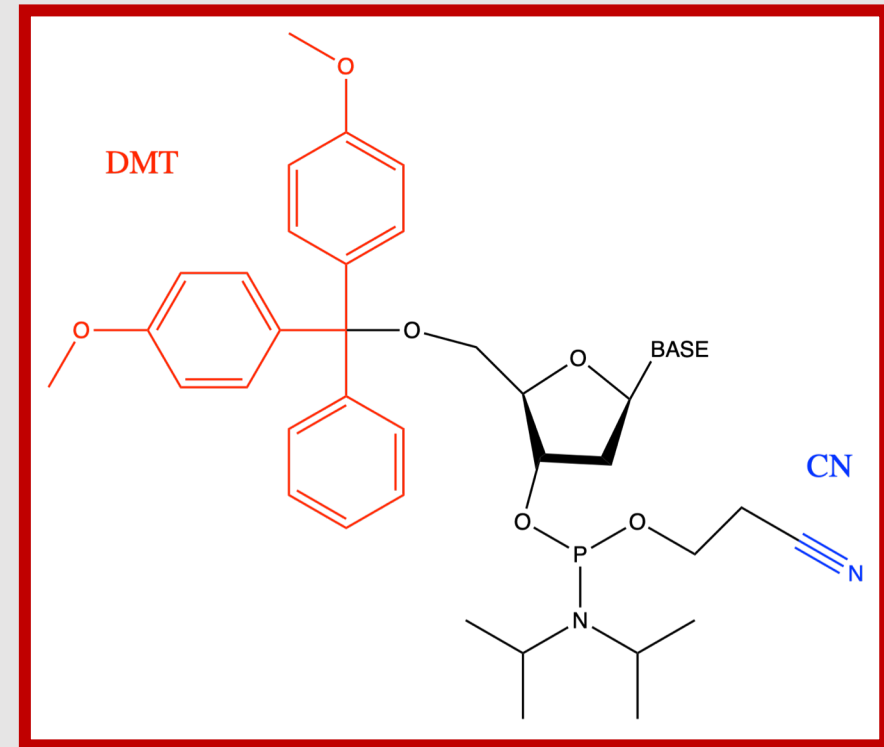
Base Nitrogenada + Pentosa + Grup Fosfat.



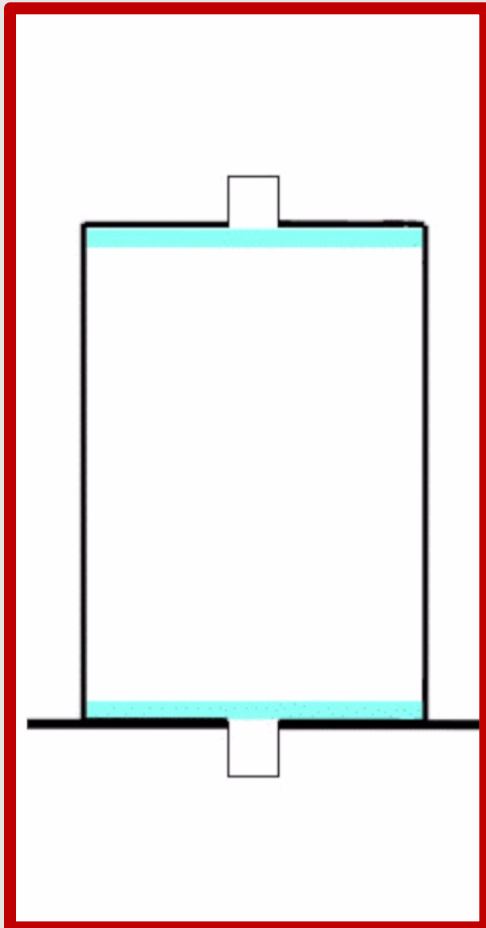
<http://www.a-levelnotes.co.uk/biology-ocr-as-notes-foundations-in-biology-nucleotides-and-nucleic-acids.html>

## Fosforamidit

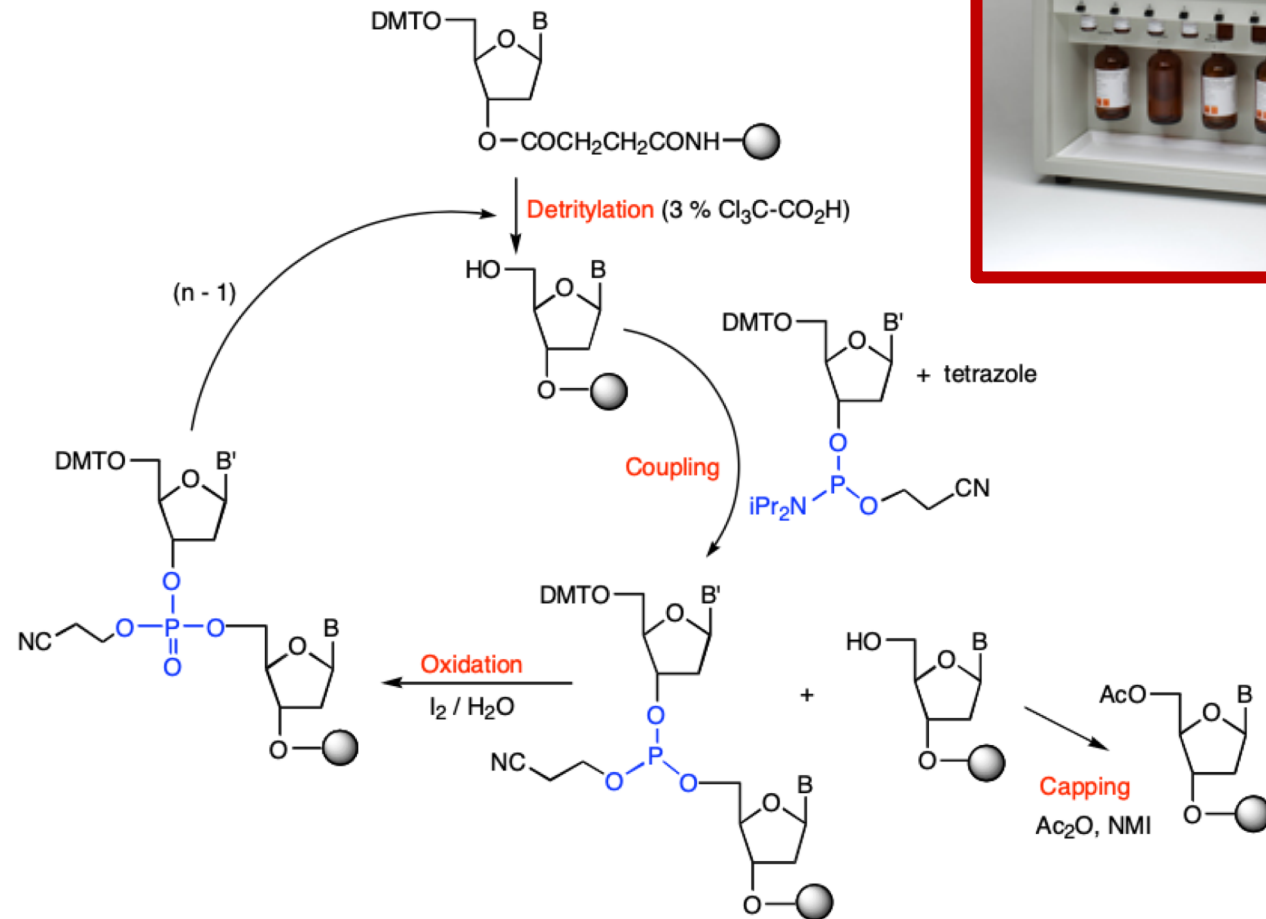
Grups Protectors: Dimetoxitritil - Cianoetil.



# Síntesi d'oligonucleòtids : Via els Fosforamidits



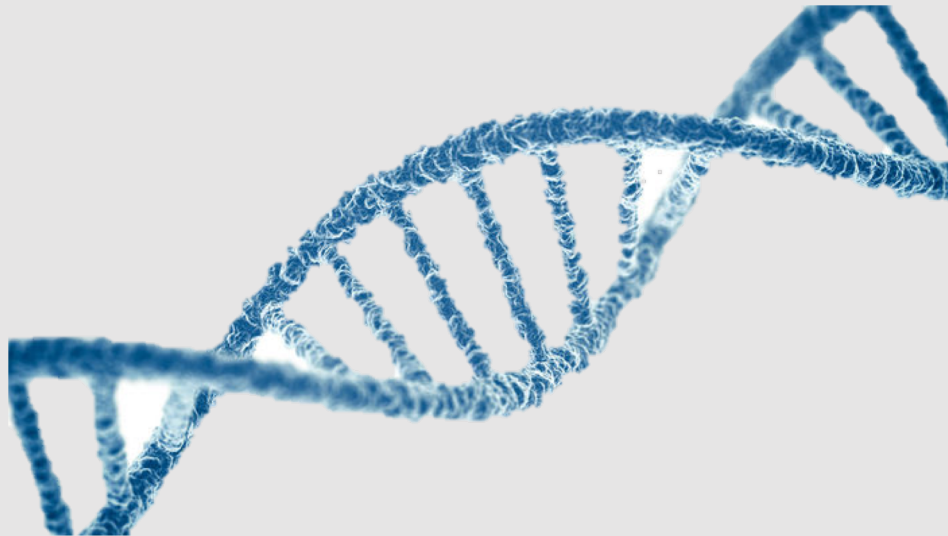
<http://www.ibt.unam.mx/sintesis/sintesis.html>



# Estructures ADN

## Dúplex

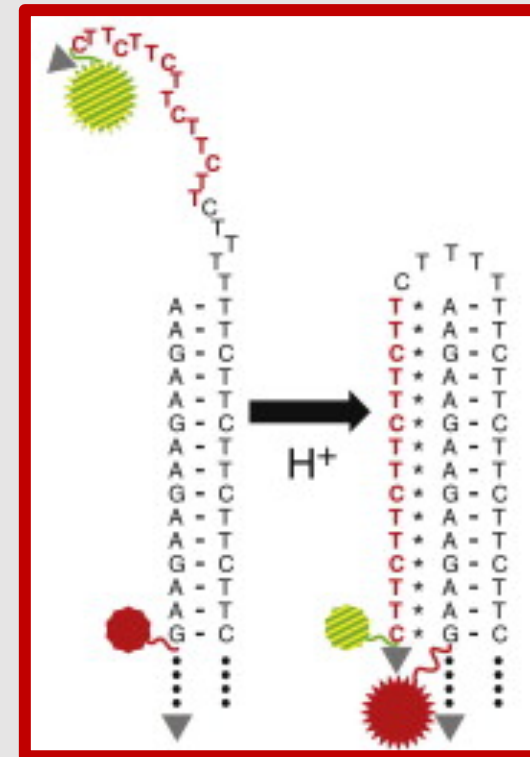
Unió d'oligonucleòtids per complementarietat de bases (A·T, G·C).



<https://www.sciencemag.org/news/2018/08/scientists-tweak-dna-viable-human-embryos>

## Tríplex

Unió d'una 3<sup>a</sup> cadena de polipurina a un dúplex.

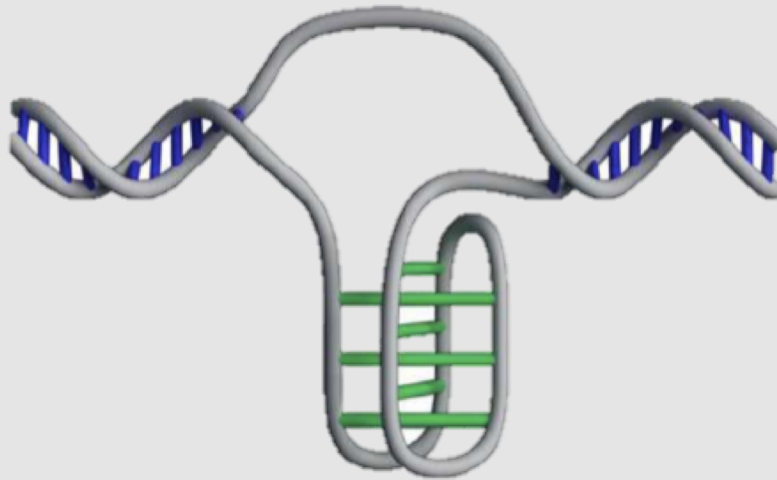


Lee IB, Hong SC, Lee NK, Johner A. Kinetics of the triplex-duplex transition in DNA. *Biophys J* [Internet]. 2012;103(12):2492-501. Figure 1

# Estructures ADN

## i-Motifs

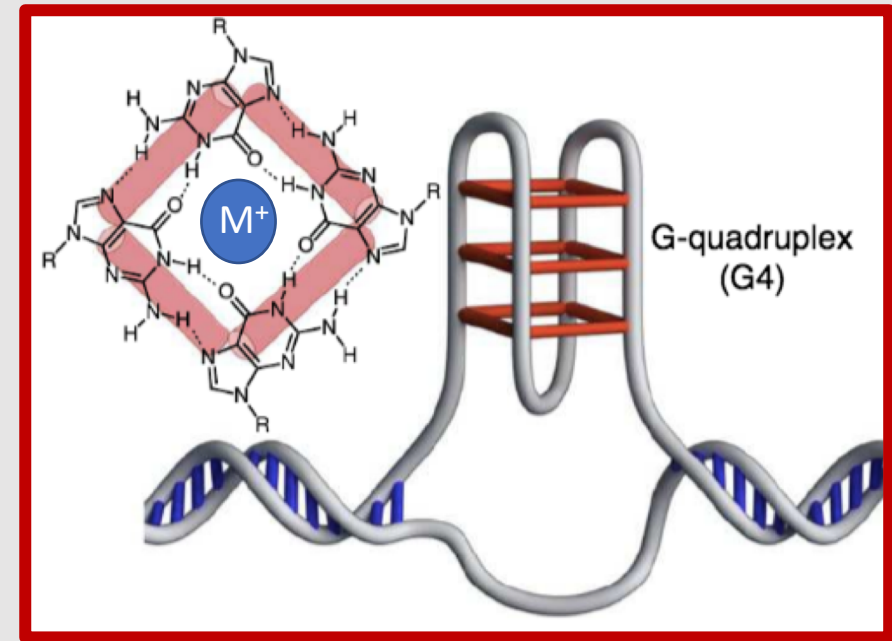
Seqüència amb varis nucleòtids de Cisteïna.



Zeraati M, Langley DB, Schofield P, Moye AL, Rouet R, Hughes WE, et al. I-motif DNA structures are formed in the nuclei of human cells. Nat Chem [Internet]. 2018;10(6):631-7 Fig.1

## G-Quadruplex

Seqüència amb varis nucleòtids de Guanina. Importància Biològica.

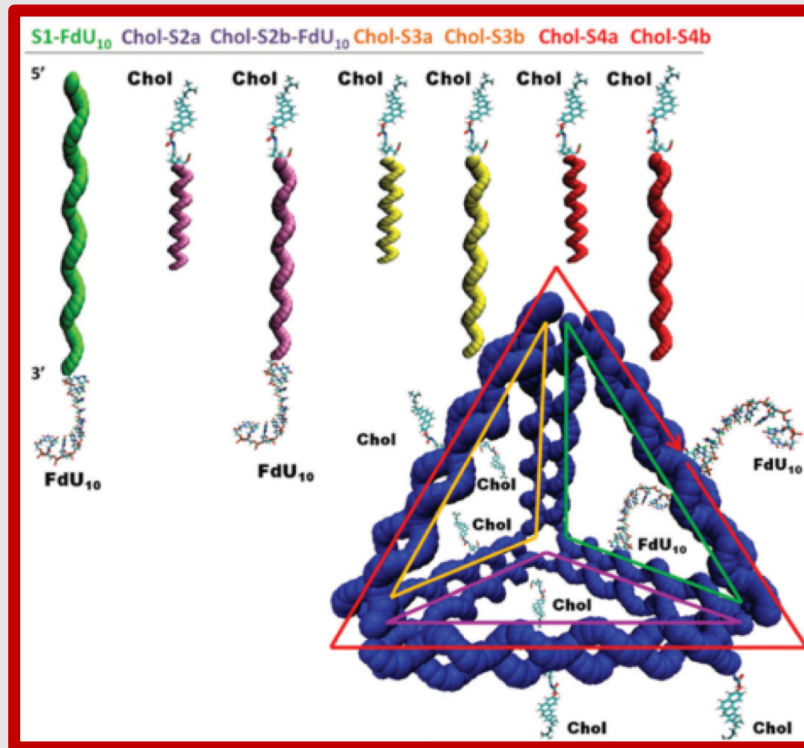


Zeraati M, Langley DB, Schofield P, Moye AL, Rouet R, Hughes WE, et al. I-motif DNA structures are formed in the nuclei of human cells. Nat Chem [Internet]. 2018;10(6):631-7 Fig.1

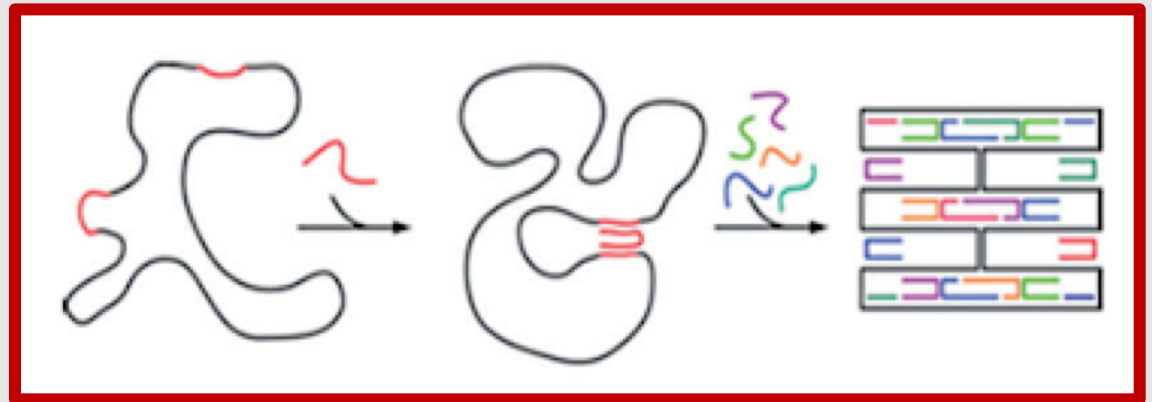
# Estructures ADN

## Tetraedre

Complementarietat de 4 dúplex.

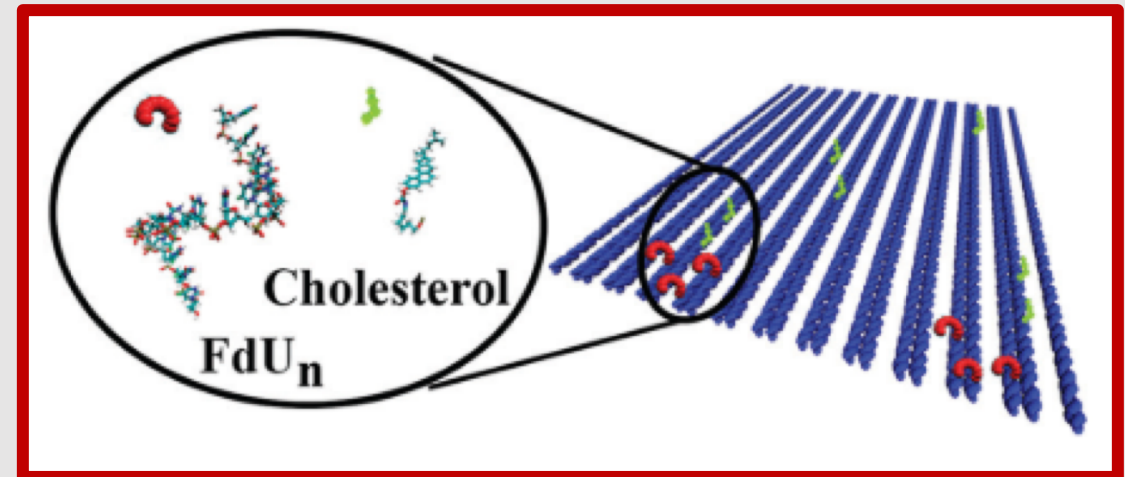


Tintoré M, Eritja R, Fàbrega C. DNA nanoarchitectures: Steps towards biological applications. ChemBioChem. 2014;15(10):1374-90. Figure 3



## Origami

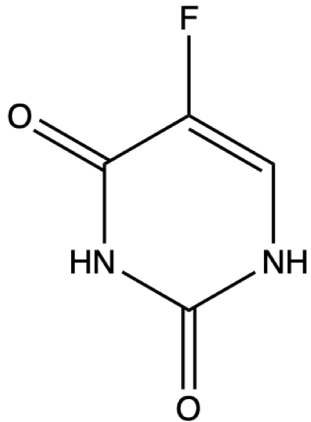
Plasmid amb col·lecció d'oligonucleòtids.



# Línia d'investigació del grup de recerca

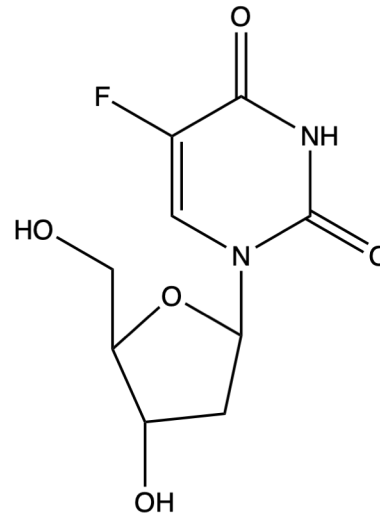
Nucleòtid antimetabòlit

**FU**



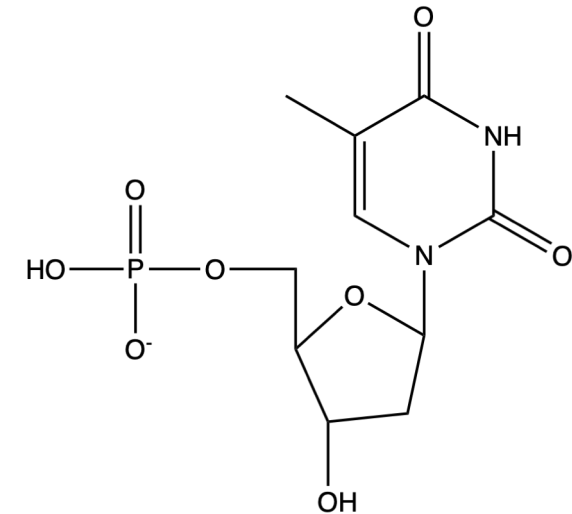
Fluorouracil

**FdU**



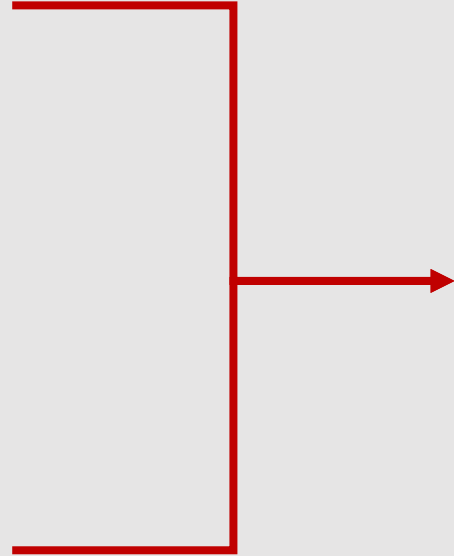
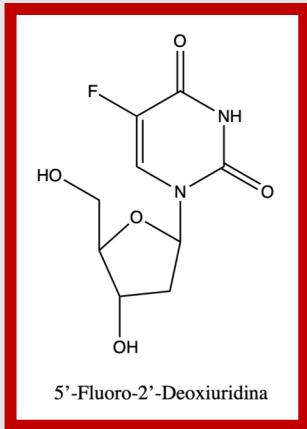
5'-Fluoro-2'-Deoxiuridina

**T**



Timidina

# Estructura G-Quàdruplex



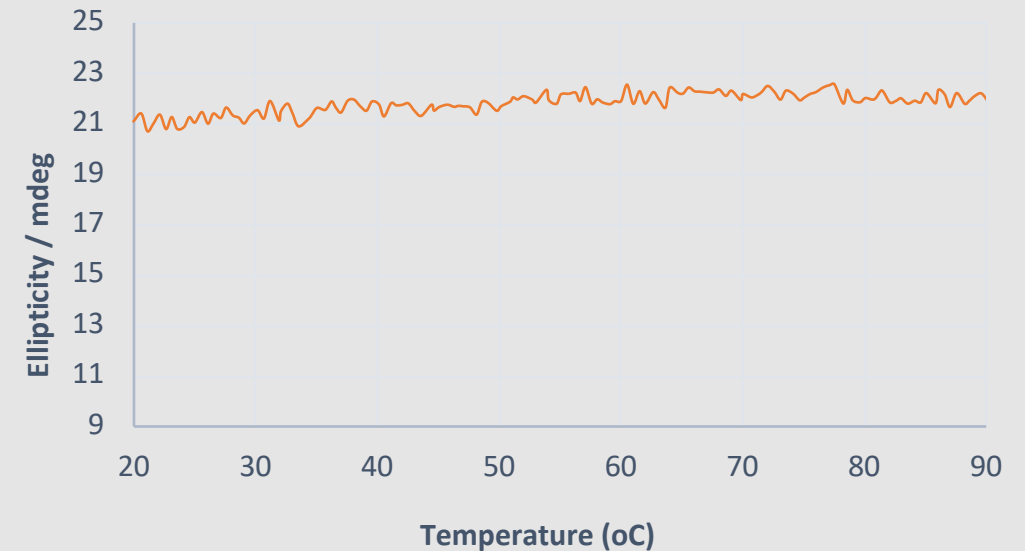
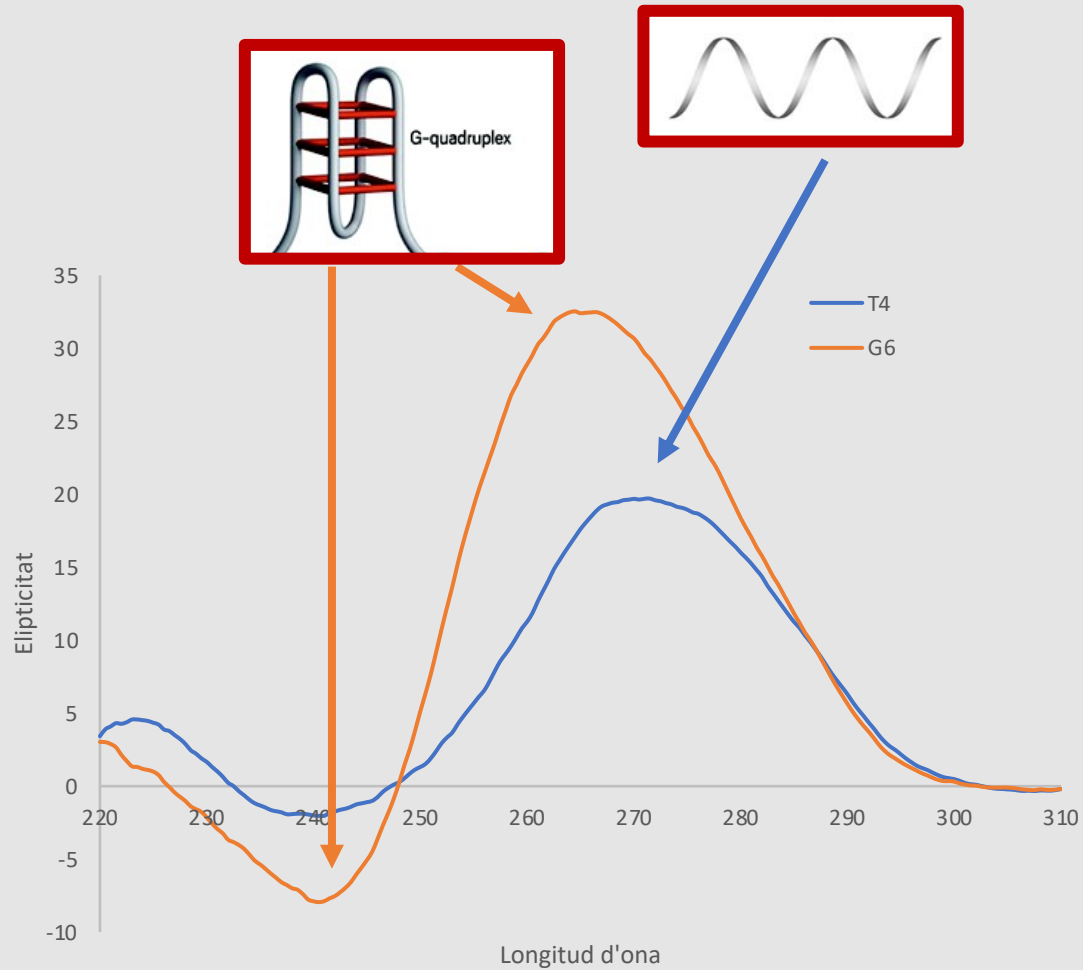
**Nucleases trenquen l'enllaç entre FdUs i s'allibera la droga dins les cèl·lules**



# Anàlisi estructural Gq

## Dicroïsme Circular

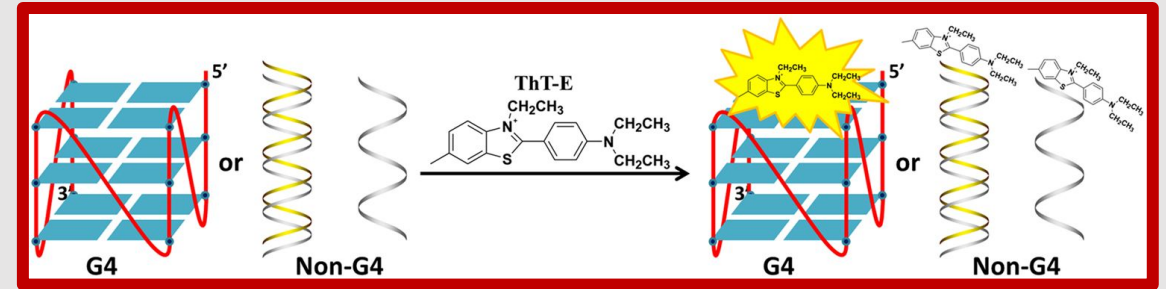
Senyal negativa a 240 nm i senyal positiva a 265 nm.  
Estabilitat a diferents temperatures.



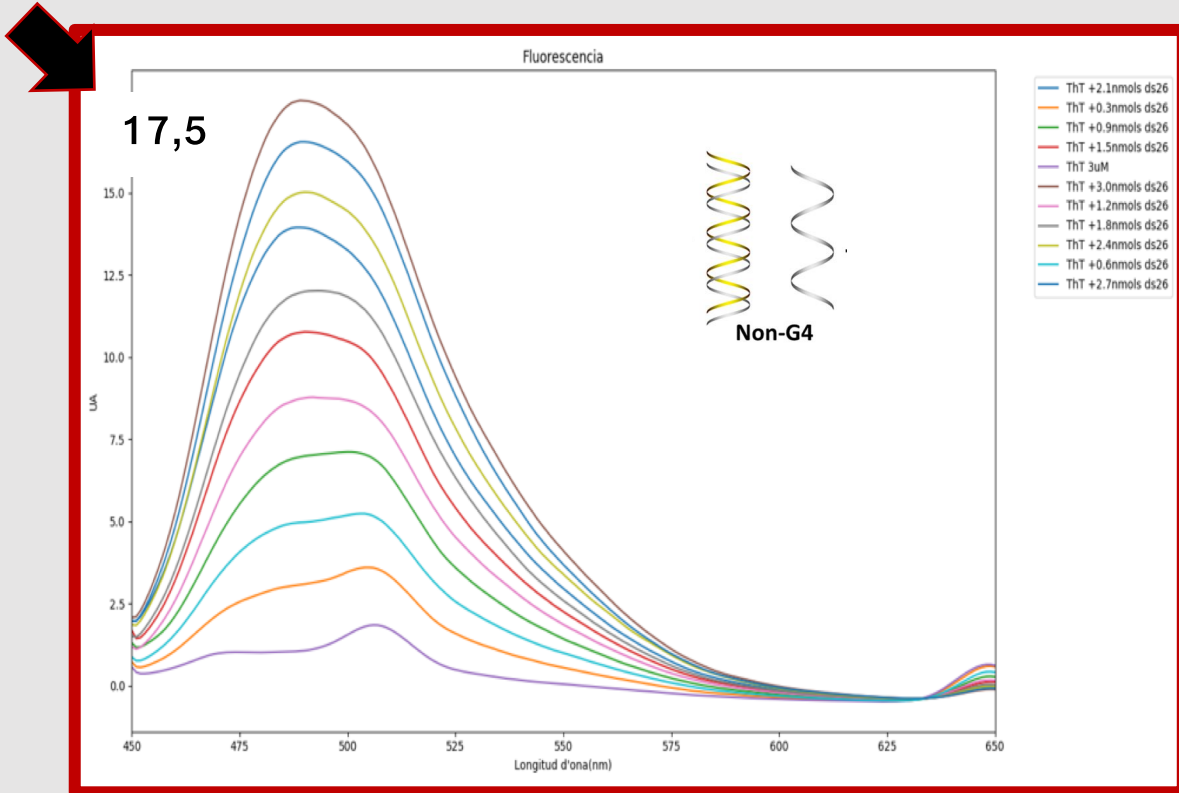
# Anàlisi estructural Gq

## Fluorescència amb ThT

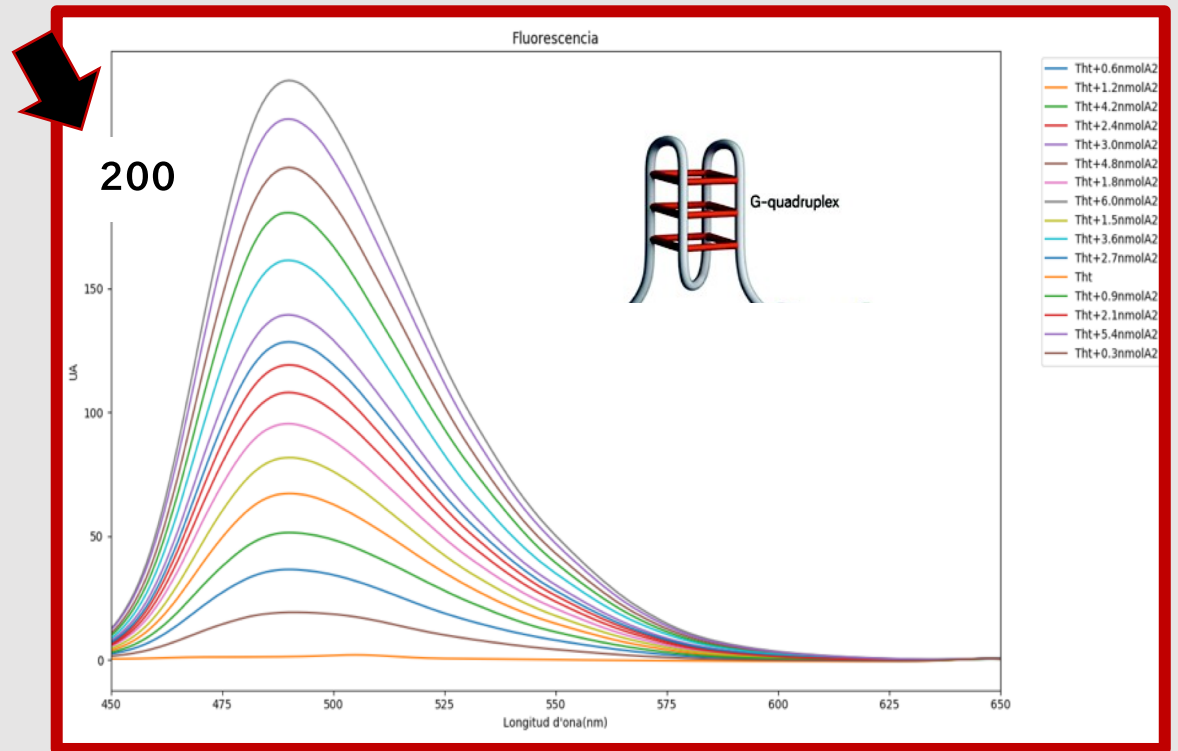
G-Quàdruplex paral·lel dóna fluorescència.



Guan AJ, Zhang XF, Sun X, Li Q, Xiang JF, Wang LX, et al. Ethyl-substitutive Thioflavin T as a highly-specific fluorescence probe for detecting G-quadruplex structure. *Sci Rep.* 2018;8(1):1-12. Figure 1.



Zoom del num

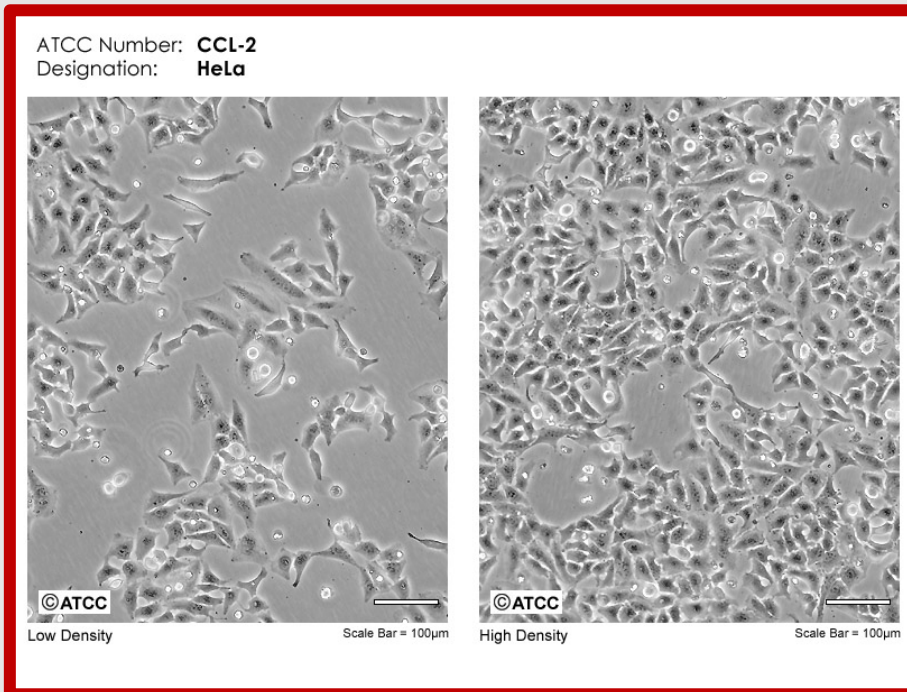
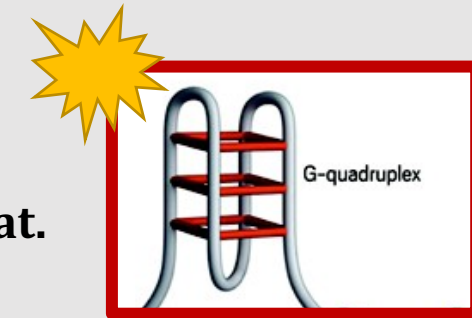


Zoom del num

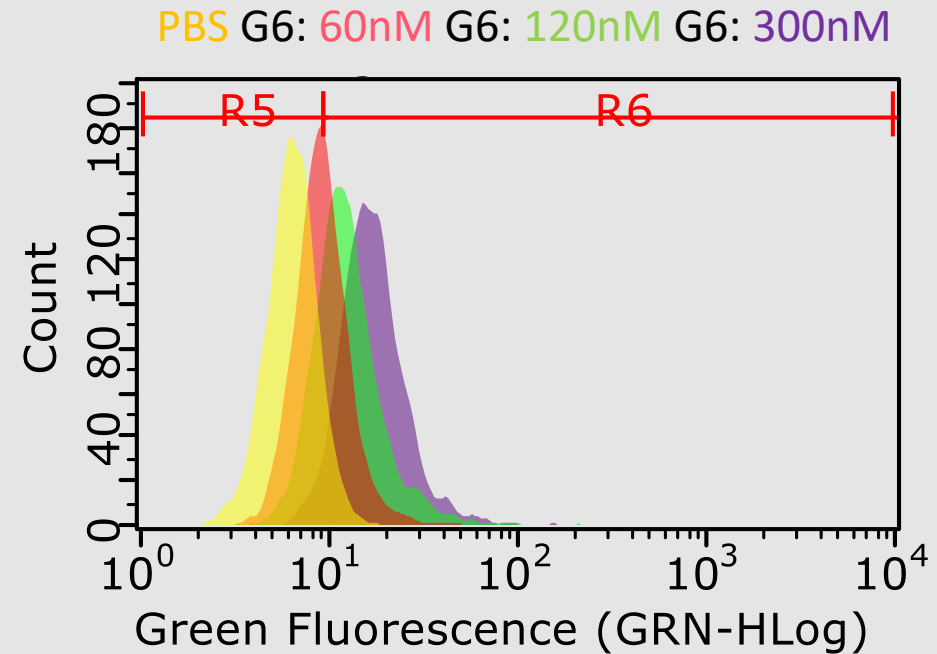
# Activitat Biològica

## Internalització

La intensitat del marcador augmenta per la internalització del Gq marcat.



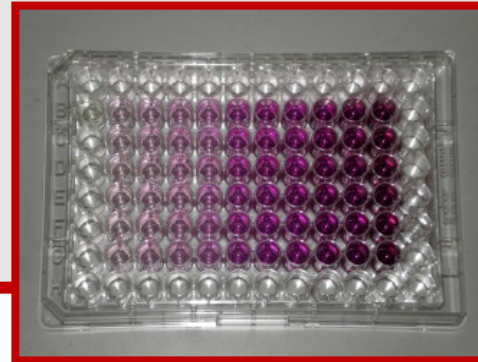
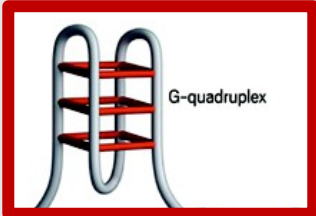
[https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/CCL-2.aspx?geo\\_country=es#characteristics](https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/CCL-2.aspx?geo_country=es#characteristics)



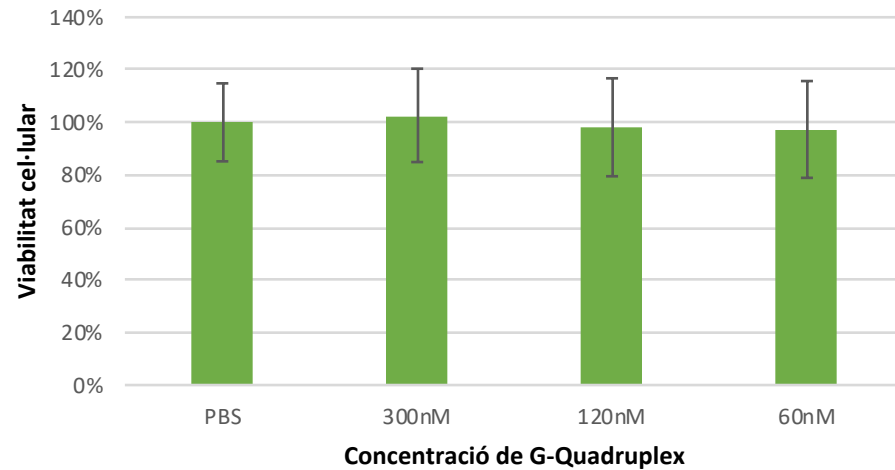
# Activitat Biològica

## Assaig MTT

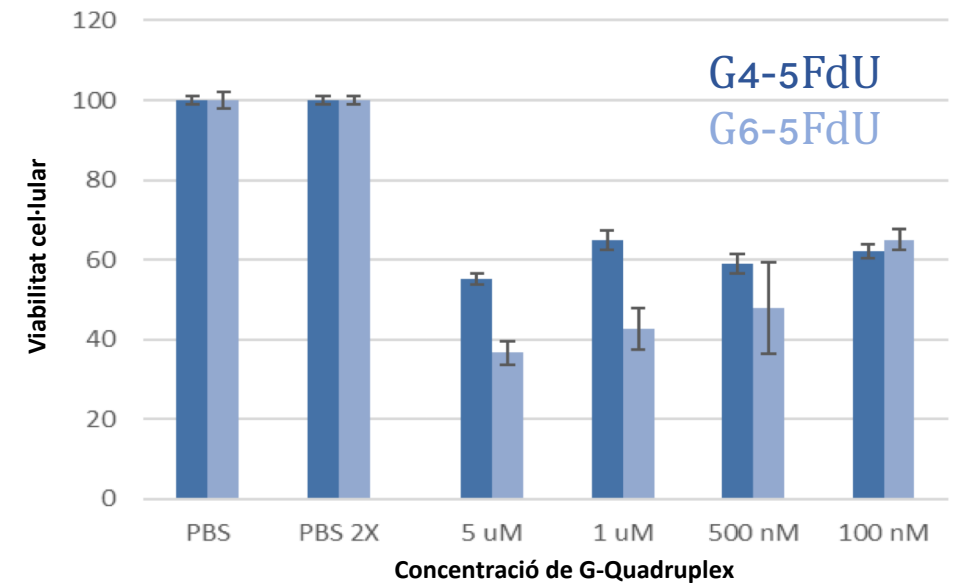
Al augmentar la concentració, augmenta la mort cel·lular.  
El G6-5FdU té un efecte major.



Transfecció Quàdruplex (G6)



Transfecció G4-5FdU/G6-5FDU



# Conclusions

- Els **Gq** tenen **importància biològica** en telòmers i seqüències promotores de gens.
- EL nucleòtid derivat de **FU té efecte antiproliferatiu** unit a nanoestructures.
- Confirmació estructural dels Gq per **Dicroïsme Circular i Fluorescència**.
- Correcta **internalització del Gq** marcats amb fluoròfor en l'interior de cèl·lules HeLa.
- Els **Gq no són tòxics** per si sols però amb la conjugació amb 5-FdU en **cèl·lules HeLa** SÍ.
- Utilitzar els Gq-5FdU en **altres línies cel·lulars**.
- Introduir **altres biomolècules** per millorar característiques dels Gq.

# Agraïments



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN



**Raimundo Gargallo**



**Ramón Eritja**



**Santiago Grijalvo**



**MOLTES GRÀCIES PER LA SEVA ATENCIÓ**



# OLIGONUCLEÒTIDS FORMADORS DE G-QUADRUPLEX PER A LA INTERNALITZACIÓ CEL·LULAR D'OLIGONUCLEÒTIDS

Anna Clua Villas – IQAC (CSIC) Barcelona

*anna.clua@iqac.csic.es*

Grup de Recerca: Química d'Àcids Nucleics