

## Детекция вируса простого герпеса с помощью ДНК-наносенсоров

Рубель М.С.<sup>1</sup>, Атие М.А.<sup>1</sup>, Земерова Т.П.<sup>1</sup>, Колпашиков Д.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт СКАМТ, Университет ИТМО

Вирус простого герпеса (ВПГ) – это оболочечный аденовирус с геномом, состоящим из дцДНК. ВПГ первого и второго типа в латентной (скрытой) фазе в некоторых странах может быть выявлен у более чем 90% популяции. В таком случае, вирион живет в клетке и при понижении иммунитета вирус переходит в литическую фазу, отмеченную сборкой вирусных частиц, и проявляется высыпаниями на слизистой в районе ротовой полости или половых органов. В то же время, при значительном поражении иммунной системы или в некоторых случаях первичного заражения, заболевание переходит в системный характер. Еще реже, возбудитель может пересечь гематоэнцефалический барьер и вызвать воспаление ЦНС или его оболочек. По оценкам некоторых экспертов до 95% случаев менингитов и энцефалитов в развитых странах вызваны именно активностью ВПГ. К счастью, в отношении аденовирусов на рынке присутствуют методы специфической терапии, прежде всего ацикловир. Тем не менее его назначение должно быть предварительно подтверждено лабораторными методами.

Стандартным методом экспресс-диагностики, применяющимся для детекции ВПГ является полимерная цепная реакция (ПЦР). Этот метод быстр, дешев и надежен, но может вызывать ложноположительные результаты, если применять его у пациентов с одновременным заражением несколькими патогенами. Одним из методов решения данной проблемы может быть фокусирование на РНК, а не на ДНК как мишени. В таком случае система может определить только вирусы, находящиеся в активном состоянии и отсеять те из них, которые не повинны в текущем состоянии больного.

В качестве альтернативы ПЦР мы предлагаем использовать ДНК-наносенсоры, которые состоят из отдельных олигонуклеотидов, способных к детекции искомой последовательности и к продуцированию сигнала при наличии этой последовательности. В этом проекте мы используем ДНК-наносенсоры построенные на основе дезоксирибозимов (ДНКзимов) - молекулярных каталитических центров, состоящих из олигонуклеотидов, способных к расщеплению нуклеиновых кислот определенной последовательности. Для взаимодействия с ДНКзимами была выбрана репортерная последовательность, которая генерирует флуоресцентный сигнал только будучи разрушенной. В дополнение к ДНКзиму в составе ДНК-машины присутствуют специальные фланирующие участки, способные раскручивать интересующую молекулу и тем самым позволяя собраться каталитическому кору.

Были получены 2 ДНК-машины для детекции поздних генов ВПГ UL9 и UL22, эффективность которых была оценена на синтетических фрагментах. ДНК-наномашины показали свою эффективность и лимит детекции в пределах 20-50пМ при использовании синтетически созданных фрагментов нуклеиновых кислот и в течение следующего этапа будут предложены для проверки на образцах вирусной РНК, полученных из клеточной культуры. Это позволит оценить возможность использования ДНК-сенсоров в условиях фрагментов нуклеиновых кислот, которые отличаются от модельных синтетических сложностью и длиной.

В перспективе подобные методы детекции на основе ДНК-наносенсоров могут стать альтернативой лабораторным методам диагностики, поскольку они не требуют цикличности температуры, характерной для ПЦР и могут быть адаптированы для личного использования вне лаборатории.