

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ДОБАВОК БУФЕРНОЙ СМЕСИ РЕАКЦИИ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ДЕЗОКСИРИБОЗИМОВ

Покатова О.Ю. (Университет ИТМО, г. Санкт-Петербург)

Научный руководитель – к.х.н., Колпашиков Д.М. (Университет ИТМО, г. СПб)

Диагностика наследственных и инфекционных заболеваний в настоящее время, как правило, проводится методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Сущность данного метода заключается в амплификации малых концентраций исследуемых ДНК, присутствующих в биологической пробе, с одновременным мониторингом флуоресцентного сигнала, который увеличивается пропорционально увеличению концентрации амплифицируемого фрагмента ДНК. На основании присутствия высокой флуоресценции выносятся заключения о наличии или отсутствии заболевания. За последние несколько лет стали появляться диагностические техники, способные составить конкуренцию количественной ПЦР. К одной из таких техник относится тест-система на основе дезоксирибозимов (ДНК-зимов).

Молекулы ДНК-зимы, также называемые ДНК ферментами, представляют собой одноцепочечные молекулы ДНК, обладающие каталитической активностью. Биосенсоры, сконструированные на основе ДНК-зимов, позволяют разработать такие диагностические тесты-системы, которые сочетают в себе как элементы биораспознавания, так и генераторы сигналов. Благодаря чему данные тест-системы не требуют дополнительной стадии визуализации результатов, что приводит к сокращению количества и стоимости оборудования, необходимого для проведения исследования. Кроме этого, диагностика с использованием таких систем происходит без присутствия белковых ферментов, которые необходимы при ПЦР, что значительно упрощает использование данных систем, делает их более стабильными и сокращает затраты на синтез компонентов. Главной особенностью данных диагностических систем является их высокая специфичность.

Сравнивая чувствительность метода ПЦР и тест-систем на основе ДНК-зимов, стоит заметить, что последняя нуждается в улучшении данной характеристики. Одной из причин недостаточной чувствительности является крайне стабильная скрученная структура анализируемой ДНК или РНК, которая препятствует связыванию ДНК-зимного сенсора с распознаваемой последовательностью. В методах ПЦР используются специальные дополнительные вещества, которые препятствуют образованию стабильной структуры, тем самым увеличивая чувствительность метода. Кроме того, на чувствительность оказывает влияние контаминация пробы. Другая группа вещества нашла применение для нейтрализации загрязнений. Была выдвинута гипотеза о том, что данные вещества могут увеличить чувствительность в методе с ДНК-зимами. Поэтому целью данной работы является исследование влияния различных веществ на чувствительность тест-систем на основе ДНК-зимов.

Исследования проводились на модельной РНК 120, самой длинной искусственной РНК, представленной в лаборатории. В качестве тест-системы использовалась ДНК-наномашина на основе ДНК-зима. К исследуемым веществам, которые были добавлены в буферную смесь реакции, относятся: ДМСО, формамид, бетаин, БСА, неионогенные детергенты (Тритон X-100 и Твин 20), сахараиды (трегалоза и сахароза), глицерин и бромид тетраметиламмония. В ходе исследования было выявлено, что ДМСО и трегалоза в концентрации 1-3% и 0,05-0,3 М соответственно приводят к увеличению чувствительности системы в 1-1,3 раза. Дальнейшие исследования позволят оптимизировать буферную смесь реакции и увеличить чувствительность модельной тест-системы.