

УДК 577.3

## РАЗРАБОТКА СЕНСОРА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ МИКРОРНК IN VITRO НА ОСНОВЕ ФЛЮОРЕСЦИРУЮЩИХ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОКЛАСТЕРОВ

Малова П.С. (Санкт-Петербургский Государственный Университет), Капитонова М.А.

(Санкт-Петербургский Государственный Университет)

Научный руководитель – д.ф.-м.н. Кононов А.И.

(Санкт-Петербургский Государственный Университет)

В этой работе разрабатывалась модель сенсора для детекции микро РНК на основе флуоресцирующих серебряных нанокластеров. В результате варьирования последовательностей участков ДНК, стабилизирующих кластеры, был найден оптимальный вариант, при котором синтезируется наиболее яркий и стабильный на протяжении недели кластер. Предложенная модель может быть использована для детектирования заданных последовательностей нуклеиновых кислот.

Металлические нанокластеры – это малого размера частицы, состоящие из  $2 - 10^2$  атомов. Они обладают уникальными электрооптическими свойствами, которые напрямую зависят от структуры кластера. Самыми распространенными матрицами для синтеза серебряных нанокластеров являются олигонуклеотиды ДНК. Флуоресцирующие свойства кластеров серебра зависят от конкретной стабилизирующей матрицы ДНК. Простота синтеза позволяет использовать флуоресцирующие нанокластеры в разных сферах науки. Самой перспективной областью применения нанокластеров благородных металлов на данный момент являются биоимиджинг и биосенсинг. Также, наноструктуры используются для детекции биополимеров, в частности, нуклеиновых кислот *in vitro* и *in vivo*. Нанокластеры серебра все больше используются как флуорофоры из-за их хорошей фотостабильности, излучения с высоким квантовым выходом и низкой токсичности.

Целью данной работы является разработка сенсора для детекции микроРНК. МикроРНК – это малая молекула РНК длиной около 20 нуклеотидов. Показано, что она может являться биомаркером раковых заболеваний. Помимо внутриклеточной обнаружена также внеклеточная (циркулирующая) микроРНК, которая может быть обнаружена в различных биожидкостях, например, в плазме крови или в фолликулярной жидкости. В связи с этим, разработка сенсора для детекции этой молекулы может упростить процедуру диагностики и лечения различных заболеваний.

В данной работе создана модель, которая работает только при связывании двух нитей ДНК и одной нити микроРНК (мишени) по принципу комплементарности. Для этого нить ДНК была разрезана на две нити и помещена в раствор с аналогом has-miR-210-3p (CTGTGCGTGTGACAGCGGCTGA) и натрий-фосфатным буфером. Основная суть эксперимента в получении ДНК матрицы, состоящей из трех частей: комплементарная к мишени, последовательность, формирующая кластер, а также последовательность между ними (спейсер). Варьируя последнее, мы получили флуоресценцию во всех случаях, однако со спейсером, состоящем только из одного аденина в обеих цепях, мы получили наиболее яркий кластер. Он был стабильным в течение недели. Максимум пика поглощения кластера приходится на 490 нм, а испускания на 560 нм.

Таким образом, нами были определены фотофизические параметры серебряных нанокластеров: поглощение и испускание. Также показано, что без мишени, кластеры с данными параметрами не синтезируются. Нами проверена селективность сенсора. Был определен лимит детекции мишени, то есть минимальное количество мишени, на которое система реагирует. Предложенная модель может быть использована для детекции других нуклеиновых кислот.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 19-53-5100.