

РАЗРАБОТКА СЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ БИНАРНЫХ ДЕЗОКСИРИБОЗИМОВ ДЛЯ БЕЗАМПЛИФИКАЦИОННОЙ ДЕТЕКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Хорольская В.Г. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – Рубель М.С. (Университет ИТМО)

Введение. Технология ДНК-наномашин основана на применении бинарных дезоксирибозимов (ДНКзимов) – молекул ДНК с каталитической активностью. Бинарный ДНКзим представляет собой две последовательности ДНК, имеющие участки, комплементарные целевой последовательности («руки»), участки, способные формировать каталитический кор, а также участки, способные связываться с флуоресцентным субстратом. В присутствии целевой молекулы происходит расщепление флуоресцентного субстрата, которое может быть детектировано спектрофотометром. ДНК-наномашин представляют собой бинарные ДНКзимы, имеющие дополнительные «руки» для связывания с целевой последовательностью. Увеличение количества «рук» ДНК-наномашин может позволить детектировать более низкие концентрации целевых молекул. Данная технология не требует амплификации нуклеиновой кислоты и представляет собой альтернативу уже существующим методам диагностики.

Основная часть. Для проверки гипотезы были разработаны сенсоры на основе бинарных ДНКзимов, содержащие 2, 3, 4, 5 и 6 чувствительных «рук». После сборки конструкции эксперименты проводились на короткой одноцепочечной синтетической последовательности. Было установлено, что увеличение количества чувствительных элементов конструкции позволяет снизить предел детекции в 10 раз для ДНК-наномашин, имеющей 6 «рук» по сравнению с бинарным ДНКзимом. Также была проведена работа по снижению времени детекции. При добавлении дополнительных «рук» чувствительность конструкции растет от 2 до 7 раз после 30 минут инкубации по сравнению с бинарным ДНКзимом. Таким образом, предел детекции может достигать до 5-10 пМ. Однако в случае, если необходимо детектировать, к примеру, физиологические концентрации мРНК, содержащиеся в клетке, концентрация может достигать до аМ-фМ значений. Подход, предложенный в статье Cox et al. (2016) [1] предполагает дальнейшее увеличение чувствительности метода за счет добавления элементов, способствующих агрегации флуоресцентного субстрата вблизи каталитического кора. Соответствующий дизайн также был разработан, и может быть протестирован на различных типах аналита – синтетических РНК, длинных последовательностях РНК и ДНК. Исследование поддержано грантом РФФИ № 22-24-00664.

Выводы. Были разработаны и протестированы варианты ДНК-наномашин с различным числом чувствительных элементов. Результаты показывают увеличение предела детекции, а также снижение времени, необходимого для инкубации.

Список использованных источников:

1. Cox A. J. et al. DNA Antenna Tile-Associated Deoxyribozyme Sensor with Improved Sensitivity // ChemBioChem. 2016, T. 17, №. 21. p. 2038-2041.