

**РАЗРАБОТКА ДНК-КАССЕТНОГО СЕНСОРА НА ОСНОВЕ БИНАРНОГО
ДЕЗОКСИРИБОЗИМА ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ФОНОВОГО ШУМА**

Костюк Ю.С. (Университет ИТМО), **Земерова Т.П.** (Университет ИТМО), **Научный
руководитель – Рубель М.С.** (Университет ИТМО)

Введение. Дезоксирибозимы (ДНКзимы) представляют собой одноцепочечную ДНК, обладающую различной каталитической активностью, такой как расщепление ДНК или РНК в присутствии ионов некоторых металлов, таких как Mg^{2+} или Mn^{2+} . Для применения в диагностике ДНКзимы разделены на два фрагмента, названных руками, которые гибридизуются с целевой молекулой ДНК, а также дополнены флуоресцентным репортерным зондом (F-субстратом) для визуализации процесса. При наличии целевой молекулы ДНК руки образуют каталитическое ядро, способное расщеплять зонд [1]. Метод быстро развивается, но известные сегодня ДНК-сенсоры имеют относительно высокий фоновый шум [2].

Основная часть. В нашей конструкции ДНК-кассета одновременно содержит два элемента дезоксирибозимного ядра, каркас и три репортерных зонда (F-субстрата), теоретически (на основе моделирования свободной энергии связи) способных перемещаться внутри кассеты по направлению к ядру. Теоретически такая система позволяет сэкономить дорогой репортерный зонд, более чем в три раза и, возможно, сократить время реакции за счет локализации. Более того, существует гипотеза, что, когда гасители F-субстратов расположены близко друг к другу, они могут более эффективно поглощать энергию доноров и тем самым уменьшать фоновый шум. Итак, если эта гипотеза верна, эта система будет более чувствительной, чем бинарные ДНКзимы.

ДНК-кассета была собрана с помощью отжига остова кассеты, двух рук и втрое большего количества F-субстратов. Реакцию расщепления проводили в реакционном буфере, содержащем Mg^{2+} , с добавлением собранной ДНК-кассеты и анализируемого вещества. Сигнал флуоресценции оценивали с помощью спектрофотометра после 1-часовой инкубации при температуре 37°C.

Результаты этого исследования показали, что фоновый сигнал системы с ДНК-кассетой уменьшился по отношению к бинарным ДНКзимам в 4 раза, а отношение сигнала к фону увеличилось с 1,59 до 2,39.

Выводы. Проведена сборка сенсора на основе ДНК-кассеты и проверена её работа в сравнении с бинарным дезоксирибозимом. Для дополнительного снижения фонового сигнала и улучшения чувствительности система будет модифицирована.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 22-24-00664) на базе научного центра SCAMT (Университет ИТМО).

Список использованных источников:

1. Mokany E. et al. MNazymes, a versatile new class of nucleic acid enzymes that can function as biosensors and molecular switches // J Am Chem Soc. American Chemical Society, 2010. Vol. 132, № 3. P. 1051–1059.
2. Kolpashchikov D.M. An Elegant Biosensor Molecular Beacon Probe: Challenges and Recent Solutions // Scientifica (Cairo) / ed. Salem A.H., Sintim H.O., Martínez-Calvillo S. Hindawi Publishing Corporation, 2012. Vol. 2012. P. 928783.