

УВЕЛИЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ДЕТЕКЦИИ ДНК МЕТОДОМ АГРЕГАЦИИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ И 4WJ ДНК СЕНСОРОВ ПУТЕМ ОПТИМИЗАЦИИ МЕТОДА КОНЬЮГАЦИИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Березовская М.Ю. (ИТМО), Быковская М.А. (ИТМО), Горбенко Д.А. (ИТМО)

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

Введение. Ранняя диагностика инфекционных заболеваний является необходимой для своевременного начала терапии. Существует множество способов диагностики бактериальных патогенов, таких как культуральные методы или ПЦР (полимеразная цепная реакция) в реальном времени, однако в большинстве случаев вышеперечисленные методы либо слишком продолжительные (культуральный метод), либо требуют дорогостоящего оборудования, такого как амплификатор для ПЦР. Анализ нуклеиновых кислот – базовый принцип диагностики патогенных инфекций. На сегодняшний момент необходимы РОСТ (point-of-care testing) системы, которые могут быть доступны в условиях отсутствия обученного персонала и специального оборудования, такого, как количественная полимеразная цепная реакция, ввиду чего использование новой концепции биосенсоров может быть разумным решением.

Основная часть. В данном исследовании флуорофор-меченые олигонуклеотиды были сконъюгированы с помощью карбодиимидной связи. Модифицированные наночастицы подверглись обработке эндонуклеазами, а затем количество флуорофора было измерено при помощи спектроскопии. Для обнаружения фрагмента ДНК *M. Tuberculosis* (гена *HigA1*), ответственного за антибиотикорезистентность, использовался бинарный гибридизационный ДНК-зонд [1]. Благодаря структуре стержневой петли этот зонд обладает повышенной селективностью, обеспечиваемой длинным аналит-связывающим плечом, способным распознавать даже однонуклеотидные замены. ДНК-зонд, использованный в исследовании, имеет конструкцию типа 4-way junction (4WJ), состоящую из двух цепей ДНК и гибридизационного зонда с магнитной наночастицей, конъюгированной на 5'-конце [2]. Обе последовательности ДНК содержат комплементарные участки для аналита и МВ. При взаимодействии с аналитом образуется надмолекулярный комплекс, привлекающий магнитные наночастицы на поверхность стрептавидиновой матрицы. Для определения количества конъюгированных олигонуклеотидов были использованы флуорофор-меченые последовательности, содержащие сайт рестрикции фермента *BamH I*, они были обработаны различными эндонуклеазами и концентрация FAM-меток измерялась на спектрофлуориметре.

Выводы. Было показано, что вышеописанным методом можно определять степень покрытия магнитных наночастиц и измерять выход реакции конъюгации олигонуклеотидов, также была показана возможность детекции гена *M. tuberculosis*.

Список использованных источников:

1. Fivian-Hughes, A. S., & Davis, E. O. (2010). Analyzing the regulatory role of the *HigA* antitoxin within *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of bacteriology*, 192(17), 4348-4356.
2. Kolpashchikov, D. M. (2010). Binary probes for nucleic acid analysis. *Chemical*