

## **ОПТИМИЗАЦИЯ ИОННОГО СОСТАВА БУФЕРА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ РЕАКЦИИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛЮМИНОЛА, КАТАЛИЗИРУЕМОГО КОМПЛЕКСОМ ГЕМИНА С ГЕМИН-СВЯЗЫВАЮЩИМ АПТАМЕРОМ НЕМ1-2Т**

**Попышева Т. Д.<sup>1</sup>, Синичкив Т. Б.<sup>1</sup>, Бобков Г. А.<sup>1</sup>**

**Научный руководитель – мнс Бобков Г. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Университет ИТМО

tanya.popyscheva@yandex.ru

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда и Санкт-Петербургского научного фонда (проект 25-16-20127).

### **Введение**

Аптамеры – одноцепочечные последовательности ДНК или РНК, которые формируют устойчивые пространственные структуры и с высокой специфичностью связывают широкий спектр мишеней. Благодаря своей стабильности и простоте синтеза они рассматриваются как перспективные элементы биосенсоров.

Особый интерес представляют комплексы аптамер/гемин, обладающие пероксидазной активностью. Они могут быть использованы для создания хемилюминесцентных систем, которые являются более чувствительными по сравнению с колориметрическими или флуоресцентными [1]. Классическим примером данного комплекса является G-квадруплекс/гемин.

Относительно недавно с помощью метода SELEX к гемину был отобран новый аптамер Нем1-2Т, который имеет иную структуру, а при связывании с геминем демонстрирует пероксидазную активность отличную от G-квадруплекса [2]. Была показана роль отдельных ионов ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ), оказывающих влияние на формирование активных комплексов Нем1-2Т/гемин [3,4], однако систематическое исследование на данную тему до сих пор отсутствует.

Между тем воспроизводимость и чувствительность хемилюминесцентных биосенсоров напрямую зависит от стабильности каталитического центра. Неопределенность в отношении оптимальных ионных условий затрудняет дальнейшее практическое применение комплекса Нем1-2Т/гемин в аналитических системах.

### **Основная часть**

Проведена оптимизация буферных условий для аптамера Нем1-2Т с целью получения максимального значения сигнал/фон при протекании хемилюминесцентной реакции. Протестированы различные буферные условия ( $\text{Li}^+$  0-200 мМ,  $\text{Mg}^{2+}$  0-40 мМ,  $\text{Na}^+$  0-200 мМ). Установлено, что максимальное значение сигнал/фон достигается при использовании буфера, содержащего 0 мМ  $\text{Li}^+$  и 20 мМ  $\text{Mg}^{2+}$ , дальнейшее повышение концентрации  $\text{Mg}^{2+}$  сопровождается его снижением. Введение  $\text{Li}^+$  также активирует систему, однако снижает её чувствительность вследствие роста фонового сигнала. Изменение концентрации  $\text{Na}^+$  не оказывает существенного влияния. Важно отметить, что присутствие ионов  $\text{Li}^+$  и/или  $\text{Mg}^{2+}$  является критическим параметром для работы каталитического комплекса, при этом  $\text{Mg}^{2+}$  оказывает на неё наибольшее влияние.

### **Выводы**

В результате работы были установлены оптимальные буферные условия для проведения хемилюминесцентной реакции в присутствии комплекса Нем1-2Т/гемин. Определено, что Нем1-2Т является магний-зависимым аптамером, при этом  $\text{Mg}^{2+}$  может

быть частично заменён на  $\text{Li}^+$ , что согласуется с литературными данными [3, 4]. Для формирования структуры G-квадруплекса наиболее важен ион  $\text{K}^+$ , также важны и другие одновалентные ионы, но в меньшей степени, например, ион  $\text{Na}^+$ , но на структуру аптамера Hem1-2T данные ионы не оказывают влияния. Полученные результаты создают основу для дальнейшей оптимизации работы комплекса Hem1-2T/гемин и разработки на его основе биосенсоров.

### Литература

1. Filatov P. et al. Selective Detection of Staphylococcus aureus in Food Matrices Using a Chemiluminescent Peroxidase-like DNA Nanomachine //Biosensors and Bioelectronics. – 2026. – С. 118408.
2. Gu L. et al. Selective Hemin Binding by a Non-G-quadruplex Aptamer with Higher Affinity and Better Peroxidase-like Activity //Angewandte Chemie International Edition. – 2024. – Т. 63. – №. 6. – С. e202314450.
3. Li C. et al. Exploration and application of the catalytic superiority of non-g-quadruplex hemin aptamers //Analytical Chemistry. – 2025. – Т. 97. – №. 6. – С. 3680-3686.
4. Rodríguez-Almazán C. et al. A Non-G-Quadruplex Hemin Aptamer Forms a Better Peroxidase Mimicking DNAzyme //ChemBioChem. – 2025. – Т. 26. – №. 23. – С. e202500486.