

СЕКЦИЯ 2
ЭНЗИМОЛОГИЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ
ПРОЦЕССОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ. BIOTECHNOLOGIA

**ГИБРИДИЗАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ДНК НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСОВ
ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТДНЫХ ЗОНДОВ С УГЛЕРОДНЫМИ
НАНОТРУБКАМИ**

А.А. Асаёнок, А.А. Велигура

*Белорусский государственный педагогический университет имени Максима Танка,
Беларусь, E-mail: artur29031995@yandex.by*

Однонуклеотидные замены (ОНП – однонуклеотидный полиморфизм, SNP – Single Nucleotide Polymorphism) являются наиболее часто встречающимися генетическими вариациями генома. Огромное количество SNP в геноме человека, а также низкий уровень мутаций на поколение определяют перспективность их использования в качестве генетических маркеров.

Значительная часть методов детекции SNP основана на использовании гибридационных флуоресцентных зондов (олигонуклеотидов с ковалентно связанными репортёрными группами: флуоресцентной и тушащей), образующих специфический комплекс с ДНК-мишенями. Эффективными гибридационными зондами являются «молекулярные маяки» (*англ.* molecular beacons) – олигонуклеотиды, образующие шпильчатую структуру и несущие по разным концам молекулы флуорофор и тушитель флуоресценции. Использование «молекулярных маяков» для визуализации SNP основывается на их способности менять интенсивность флуоресценции в зависимости от присутствия или отсутствия целевой мишени для гибридации.

Однако для методов с ковалентной привязкой «репортерных» групп неспецифический вклад в сигнал вносят как наличие остаточной флуоресценции, так и неустойчивость к действию внутриклеточных нуклеаз.

За последние годы был разработан ряд усовершенствований этой технологии. В частности, точность и чувствительность метода была значительно повышена при использовании наноструктурированных материалов (наночастиц с золотом, углеродных наночастиц, графена).

Целью работы является установление закономерностей формирования гибридационных дуплексов на комплексах одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ) с флуоресцентными и олигонуклеотидными зондами.

Комплексообразование осуществляли методом ультразвуковой обработки смеси из ОУНТ и FAM-олигонуклеотида, суспендированных в TE буфере в различной концентрации. Структурно-функциональные свойства полученных комплексов ОУНТ/FAM-олигонуклеотид исследовали методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ-электрофореза).

Показано, что связывание ОУНТ с флуоресцентно мечеными олигонуклеотидами позволяет углеродным нанотрубкам функционировать как «нанотушителю» флуорофора FAM.

Далее была исследована возможность использования данного эффекта при разработке нового подхода к гибридационному анализу ДНК (в частности, выявлению SNP) на основе тушения флуоресценции при комплексобразовании FAM-олигонуклеотида с ОУНТ с последующим восстановлением флуоресценции в результате гибридации FAM-олигонуклеотида с целевой ДНК-последовательностью в растворе.

Методом ПААГ-электрофореза продемонстрировано, что присутствие в растворе комплементарной целевой последовательности приводит к диссоциации комплекса ОУНТ/FAM-олигонуклеотид с последующим формированием гибридационного гомодуплекса, что подтверждается восстановлением флуоресценции флуорофора, которая по интенсивности в несколько раз превышает флуоресценцию свободного FAM-олигонуклеотида.

Таким образом, комплексы ОУНТ/FAM-олигонуклеотид могут быть использованы с целью создания высокочувствительных ДНК-биосенсоров, функционирующих по принципу «молекулярных маяков», для гибридизационного анализа ДНК.

РЕПОЗИТОРИЙ БГПУ