

Многокомпонентный ДНК-зонд для обнаружения SNP (однонуклеотидных замен) на поверхности

Научный руководитель – Бобкова Мария Юрьевна

Леонова Мария Кирилловна

Студент (магистр)

Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: leonovamasha19@gmail.com

В настоящее время существует необходимость диагностики инфекций и генетических заболеваний и идентификации мутаций, для этого нужно научиться быстро и качественно детектировать однонуклеотидные замены (SNP). Они вызывают антибиотикорезистентность у патогенных микроорганизмов, таких, например, как *Mycoplasma genitalium* или *Neisseria gonorrhoeae* – возбудителей гонореи и микоплазмы. Так как часто приходится работать с минимальным количеством биологического материала, использование широкого спектра методов осложнено. Сейчас существуют следующие методы детекции: культуральные (чьими преимуществами являются простота интерпретации и дешевизна реагентов, но обладающие рядом значительных недостатков – невозможностью получить результаты за короткий срок, не автоматизированность почти во всех случаях и невозможность культивации некоторых микроорганизмов); ПЦР анализ (метод, позволяющий обнаружить малые концентрации ДНК в образце, в нем используется дорогостоящее оборудование и ПЦР применим только для лабораторных условий, так как не является портативным); ИФА – ELISA (основанный на специфическом взаимодействии антигена и антитела, по скорости сравним с ПЦР при меньшей чувствительности анализа, при этом ИФА детектирует белки на более поздней стадии заболевания, в то время как тест-системы для обнаружения нуклеиновых кислот помогают диагностировать заболевания на более ранних стадиях).

Целью работы является разработка нового быстрого и точного метода анализа - 4WJ ДНК сенсора на основе serphalopod [1]. Нами был придуман дизайн и собран 4WJ сенсор, состоящий из 3 компонентов – длинной, расплетающейся вторичную структуру f «руки», короткой, SNP-специфичной m «руки» и универсального молекулярного маячка (UMB), который в начальном растворе присутствует в форме шпильки (на 5' конце прикреплен флуорофор, на 3' конце гаситель флуоресценции). F и m руки состоят из двух частей: аналит-связывающей (комплементарной анализируемому участку) и UMB-связывающей (комплементарной UMB). При добавлении анализируемой последовательности сенсор собирается, UMB присоединяется к «рукам» и меняет конформацию из шпильки в линейную, увеличивая расстояние между флуорофором и гасителем, генерируя флуоресцентный сигнал. Сборка сенсора была проверена на спектрофотометре и методом гель-электрофорез. Для увеличения чувствительности сенсора к малым концентрациям аналита возможно усложнение конструкции путем добавления дополнительных ДНК-платформ, на основе чего будет создан дизайн типа serphalopod, имеющий ДНК-цепи, аналогичные щупальцам. Несомненным преимуществом такого дизайна является возможность работы в сложных средах, как кровь, моча и пищевые продукты.

Источники и литература

- 1) Kolpashchikov D.M. Evolution of Hybridization Probes to DNA Machines and Robots // Accounts of Chemical Research. 2019, 52, 7, 1949–1956