

## Детекция двухцепочечной ДНК *Mycobacterium tuberculosis* с помощью ДНК-наномашин

Научный руководитель – Колпащиков Дмитрий Михайлович

*Старкова Полина Сергеевна*

*Студент (магистр)*

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: sps\_96@mail.ru*

Современные гибридационные зонды, использующиеся для распознавания специфических последовательностей бактериальных и вирусных штаммов, часто не обладают соответствующим уровнем чувствительности, что необходимо для постановки правильного диагноза и дальнейшего надлежащего лечения [n1]. В данной работе мы применили альтернативу традиционным гибридационным зондам, дезоксирибозимы, которые будучи каталитической ДНК, составляют структуру ДНК-наномашин [n2]. Однако, только лишь дезоксирибозимы не способны раскручивать и распознавать стабильную двухцепочечную структуру ДНК. Данное исследование продемонстрировало преимущества использования ДНК-наномашин заключающиеся в точном выявлении специфических последовательностей *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), где определенный однонуклеотидный полиморфизм свидетельствует об идентификации штамма, а также в усиленной доставке генерирующего сигнал флуоресцирующего субстрата на каталитический сенсор, активируемый мишенью.

Мы разработали дизайн трех сенсоров и одного ДНК-наноробота специфичных для трех штаммов Mtb с последующей их оптимизацией на синтетических одноцепочечных ДНК-аналитах. За отжигом олигонуклеотидов на таргетной последовательности с образованием каталитического кора следует их самоорганизация, что в конечном итоге составляет структуру ДНК-нанороботов. Праймеры были разработаны для получения ампликонов, содержащих области, связанные с однонуклеотидным полиморфизмом обозначающим специфичность к штамму Mtb. ДНК Mtb была получена от колабораторов. Сборку ДНК-нанороботов анализировали в 1,5% агарозном геле с использованием системы электрофореза BioRad. Флуоресценцию измеряли после инкубации образцов при 50 ° C в течение 60 и 180 минут. Для определения эффективности ДНК-наномашин мы рассчитываем предел обнаружения (ПО) в зависимости от концентрации сенсора, аналита и продолжительности инкубации.

В настоящем исследовании мы сравнили эффективность работы дезоксирибозимных сенсоров и, основанной на них, ДНК-наномашин. Исследование показало, что бинарные дезоксирибозимы распознают минимальную концентрацию одноцепочечной синтезированной ДНК Mtb в 30 pM, в то время как у ДНК-наноробота ПО равен 50 pM, не говоря уже о способности последнего обнаруживать двухцепочечную ДНК. Кроме того, мы обнаружили, что после 1 часа инкубации ДНК-наномашин способна обнаружить двухцепочечную последовательность Mtb (5 nM) с флуоресцентным сигналом в 3 раза выше, чем биосенсор, а после 3 часов инкубации - в 14 раз.

Полученные результаты, указывают на трехкратное улучшение ПО ДНК-наномашин по сравнению с сенсором в отношении одноцепочечной ДНК благодаря трем коротким ДНК-рукам, связывающим каркас робота и улучшающим гибридацию с аналитом. Данные наработки наметили пространство для дальнейшего развития ДНК-наномашин для

обеспечения надежного обнаружения Mtb анализов и дальнейшей дифференциации их штаммов.

### **Источники и литература**

- 1) Bengtson H. Multiplex Detection of Extensively Drug Resistant Tuberculosis Using Binary Deoxyribozyme Sensors // Biosensors and Bioelectronics, 2017. 176–83.
- 2) 1. Bengtson H. Multiplex Detection of Extensively Drug Resistant Tuberculosis Using Binary Deoxyribozyme Sensors // Biosensors and Bioelectronics, 2017. 176–83. 2. Fokina A. DNA Enzymes as Potential Therapeutics: Towards Clinical Application of 10-23 DNAzymes // Expert Opinion on Biological Therapy, 2015. 689–711