**Исследование способов усиления эффективности взаимодействия конъюгатов наночастиц золота с ДНК-зондами на нитроцеллюлозной мембране в проточных тест-системах на основе нуклеиновых кислот**

***Горбунова Е.А., Епанчинцева А.В.***

*Аспирант, 2 года обучения*

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск Россия
E-mail:* *gorbunova-ekaterina@inbox.ru*

В настоящее время среди существующего многообразия диагностических инструментов растет интерес к проточным экспресс-тестам, поскольку они имеют ряд существенных преимуществ: быстрый и удобный формат анализа, низкая стоимость, специфическое распознавание различных биологических мишеней. Такие тест-системы, направленные на качественное определение целевого биомаркера, могут использоваться в пунктах медицинской помощи, а также в домашних условиях, что способствует развитию персонализированной медицины.

Типичная тест-полоска состоит из четырех основных частей: подложка для образца, подложка для конъюгата, детектирующая мембрана и адсорбирующая подложка. Анализ выполняется путем нанесения образца на тест-полоску, далее образец движется под действием капиллярных сил через поры мембраны, спустя непродолжительное время (до 1 ч) определяется положительный или отрицательный результат теста с соответствующим визуально детектируемым проявлением контрольной и тестовой полос. Визуализация полос достигается использованием окрашенных реагентов, например, наночастиц золота (НЧЗ), известных своими исключительными адсорбционными свойствами, химической инертностью, высоким молярным коэффициентом поглощения, а также возможностью модификации их поверхности, в частности олигонуклеотидами.

Цель данной работы - разработка принципиальной схемы функционирования тест-системы на основе НЧЗ и модельных ДНК-мишеней, ассоциированных с лекарственной устойчивостью микобактерии туберкулеза, а также комплементарных им ДНК-зондов с достоверным визуальным выявлением контрольной и тестовой полос. Были исследованы способы повышения специфических и минимизации неспецифических взаимодействий между ДНК-зондом на контрольной линии и комплементарной ДНК и между конъюгатами НЧЗ-ДНК и поверхностью тест-полоски. На специфичность и чувствительность тест-системы могут влиять эффективность иммобилизации ДНК-зондов, материалы подложек тест-системы и состав растворов, используемых для их обработки, количество конъюгатов НЧЗ-ДНК, геометрия тест-полоски и другие факторы.

В данной работе было показано, что с увеличением соотношения стрептавидина к биотинилированному ДНК-зонду увеличивается эффективность иммобилизации ДНК-зонда на нитроцеллюлозной мембране (НЦМ), причем в отсутствие стрептавидина иммобилизация неэффективна. Однако олигонуклеотиды, содержащие флуоресцеин, неспецифически взаимодействуют с мембраной с эффективностью около 15%. В ходе исследования взаимодействия ДНК-зонда с комплементарными и некомплементарными олигонуклеотидами было зафиксировано разное распределение флуоресценции на НЦМ, что говорит о эффективном взаимодействии комплементарных ДНК на НЦМ.

При анализе различных составов блокирующих растворов, а также НЦМ с разным размером пор, было показано, что обработка НЦМ Tween 20 создает более равномерное распределение анализируемого раствора на НЦМ, а характеристики НЦМ являются ключевым фактором, влияющим на эффективность тестирования.

Было изучено влияние солевого барьера на чувствительность детекции. Показано, что конъюгаты НЧЗ с ДНК, комплементарной ДНК-зонду, связываются в контрольной зоне с проявлением красного пятна в отличие от конъюгатов НЧЗ с ДНК, некомплементарной ДНК-зонду.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00505.*