**Синтез и характеристика конъюгатов олигонуклеотидов с биметаллическими каталитически активными наночастицами AuPt**

***Лапшинов Н.Э.1,2, Сафенкова И.В.1, Жердев А.В.1, Дзантиев Б.Б.1***

*Студент, 4 курс бакалавриата*

*1Институт биохимии им. А.Н. Баха,
ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

*2 ‎Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова,
МИРЭА «‎Российский Технологический Университет», Москва, Россия*

*E-mail: nikita\_lapshinov@mail.ru*

Наночастицы состава AuPt (НЧ-AuPt) обладают уникальными оптическими и каталитическими (пероксидазо-подобными) свойствами, благодаря которым их использование в качестве меток позволяет значительно повысить чувствительность различных аналитических систем. Однако функционализация НЧ-AuPt биорецепторными молекулами, обеспечивающая высокие уровни как связывающей способности продукта, так и аналитического сигнала, требует поиска наиболее эффективных решений. В связи с этим данная работа была направлена на синтез и характеристику конъюгатов НЧ-AuPt с олигонуклеотидами.

Синтезировали наночастицы золота (НЧ-Au) цитратным восстановлением золотохлористоводородной кислоты, после чего на поверхности НЧ-Au восстанавливали ионы платины, получая НЧ-AuPt. Наночастицы характеризовали методами спектрофотометрии, просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) (НЧ-Au: сферические, средний диаметр (D) = 10,6 ± 1,0 нм; НЧ-AuPt: сферические с игольчатой поверхностью, D = 29,1 ± 4,8 нм) и динамического лазерного светорассеяния (ДЛС) (НЧ-Au: DH = 29,5 ± 20,0 нм, НЧ-AuPt: DH = 54,8 ± 20,2 нм).

Полученные НЧ-Au и НЧ-AuPt конъюгировали с олигонуклеотидами – одноцепочечными ДНК состава 5′-An-CCTCCAAGAGTTAGATCATACAG-T7-3′, функционализированными по 3′-концу флуоресцеином либо биотином (продукция фирм «Синтол» и «Люмипроб»). An участок (n = 5, 7, 10) обеспечивает присоединение НЧ, Т7 – стабилизацию конъюгированного олигонуклеотида, состав средней части выбран для использования в аналитических системах. Конъюгирование проводили методом замораживания-оттаивания c инкубацией при –20°С в течение 1 часа. ПЭМ конъюгатов показало возникновение оболочки вокруг НЧ, ДЛС – увеличение DH: НЧ-Au – до 68,3 ± 37,3 нм, НЧ-AuPt – до 94,0 ± 29,6 нм. Стабильность конъюгатов для всех НЧ возрастала с увеличением длины An фрагмента.

Функциональные характеристики конъюгатов подтверждали с помощью иммунохроматографических тест-полосок, в зоне связывания которых иммобилизовали стрептавидин или антитела, специфичные к флуоресцеину. Интенсивность окраски, обусловленной накоплением НЧ, возрастала с увеличением длины полиаденинового участка и была максимальной для конъюгатов НЧ-Au и НЧ-AuPt, содержащих A10 и биотин. Для НЧ-AuPt и их конъюгатов с олигонуклеотидами установлена высокая каталитическая активность в реакции со смесью тетраметилбензидина и пероксида водорода.

Полученные результаты впервые показывают эффективность низкотемпературного конъюгирования НЧ-AuPt с олигонуклеотидами. Сохранение пероксидазо-подобных свойств у НЧ-AuPt после модификации олигонуклеотидами позволяет использовать конъюгаты в биоаналитических системах.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант 23-46-10011.