

## ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ ВАРИАНТОВ ДЕТЕКЦИИ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН В ГУАНИН-ЦИТОЗИН БОГАТЫХ УЧАСТКАХ С ПОМОЩЬЮ ДНК-НАНОМАШИН

Научный руководитель – Кошель Елена Ивановна

*Луганская П.С.<sup>1</sup>, Рубель М.С.<sup>2</sup>*

1 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: polina.luganskaja@yandex.ru*; 2 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Saint Petersburg, Россия, *E-mail: rubel@scamt-itmo.ru*

Однонуклеотидные замены (ОНЗ) являются универсальным диагностическим маркером, позволяющим предсказать предрасположенность к различным заболеваниям у человека и других млекопитающих. ОНЗ также используются для генотипирования бактерий и определения устойчивости к антибиотикам. Существующие методы, такие как ПЦР в реальном времени, ДНК-микрочипы и секвенирование, эффективны, но требуют сложных процедур и специализированных помещений. Главным недостатком вышеперечисленных методов является то, что они часто не способны определять ОНЗ в участках ДНК с высоким количеством гуанина и цитозина (ГЦ). В связи с этим, всё ещё идёт поиск чувствительного, селективного и доступного метода для определения всех ОНЗ [2].

Возможным решением поставленной проблемы является использование разделённых гибридизационных зондов, таких как ДНК-наномашинны на основе ДНКзимов. Конструкция таких зондов позволяет разделить детектирующую длину зонда на расплетающую часть и ОНЗ-чувствительную, достаточно короткую для того, чтобы формирование сигнала нарушалось в случае наличия ОНЗ [1].

Данное исследование изучает возможность эффективного обнаружения ОНЗ на примере генов системы токсин-антитоксин *Mycobacterium tuberculosis* VarC37 (48:G) и VarC38 (143:C), которые являются ГЦ-богатыми (>65%). В работе предлагается модификация расплетающей части зонда с помощью замкнутых нуклеиновых кислот (ЗНК). Предполагается, что это улучшит встраивание зонда в структуру двухцепочечной ДНК (дцДНК) за счет увеличения аффинности связывания. Дизайн праймеров осуществлялся с учётом ГЦ-профиля анализируемых генов, чтобы как минимум один из праймеров попадал в область с содержанием ГЦ менее 60%. Разработка зондов и праймеров для амплификации гена была выполнена с помощью веб-приложений (mFold, NuPack, PrimerBlast).

Были получены рабочие дизайны гибридизационных зондов для ОНЗ в генах VarC37 (48:G) и VarC38 (143:C). Изучено влияние процентного содержания гуанина и цитозина в концевых участках ДНК-наномашин на распознавание дцДНК фрагментов. При содержании ГЦ 60-70% эффективность встраивания наномашинны снижается. Требуется дополнительный анализ для определения точного порогового значения. Модификация зондов ЗНК улучшает чувствительность биосенсора, но селективность остается низкой из-за триплетов цитозина в ОНЗ-связывающей руке.

Авторы исследования благодарны Российскому научному фонду (грант 22-24-00664) и программе «Приоритет 2030» за финансовую поддержку.

### Источники и литература

- 1) Kolpashchikov D. M. Evolution of hybridization probes to DNA machines and robots //Accounts of chemical research. – 2019. – Т. 52. – №. 7. – С. 1949-1956.
- 2) Wu K. et al. Recent Progress in Single-Nucleotide Polymorphism Biosensors //Biosensors. – 2023. – Т. 13. – №. 9. – С. 864.