

# Разработка методов пробоподготовки для высокочувствительного

## выявления нуклеиновых кислот

Булгакова А. Е.,<sup>1,2</sup> Бауэр И. А.,<sup>1,2</sup> Дмитриенко Е. В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия



### Введение

Разработка методов выявления НК представляет собой важную задачу современной молекулярной биологии. Особый интерес в качестве альтернативы ПЦР-анализу вызывают физико-химические биосенсоры, обеспечивающие безметочное и специфичное выявление потенциально важных молекул НК.

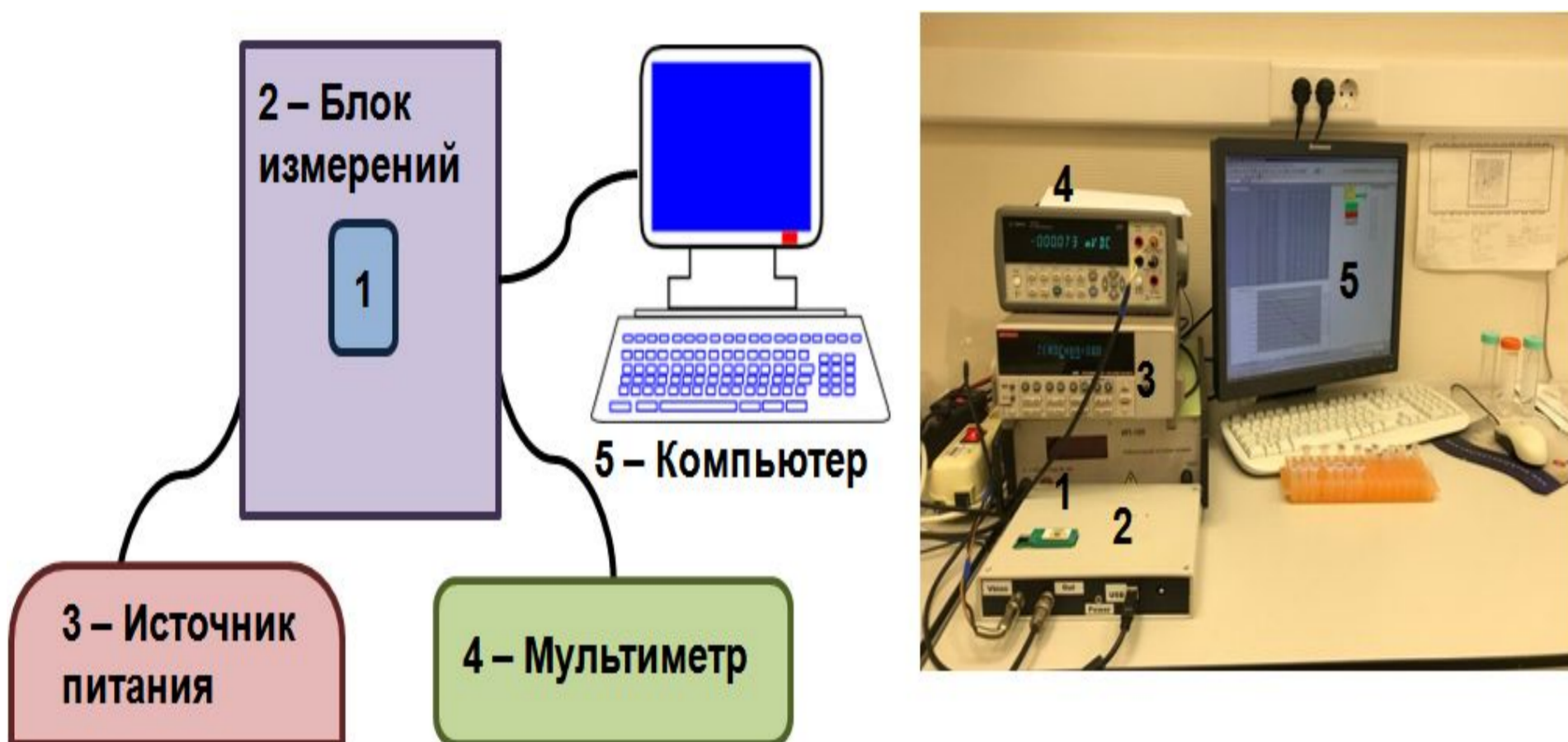
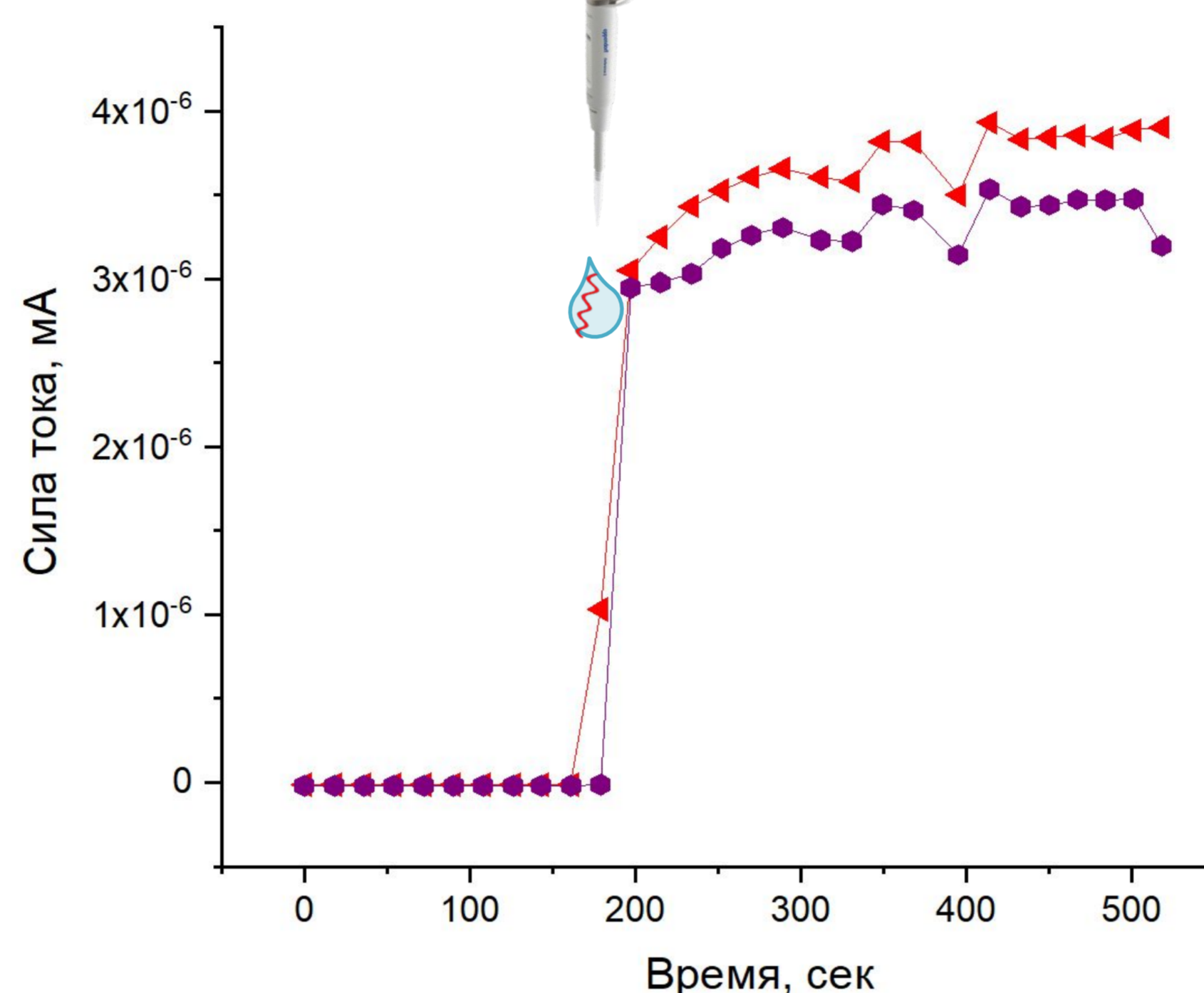


Схема установки для проведения измерений: 1- КНИ транзистор (чип), 2 – блок измерений, 3 – источник питания, 4 – мультиметр, 5 – компьютер для сбора и обработки данных.

### Сигнал биосенсора

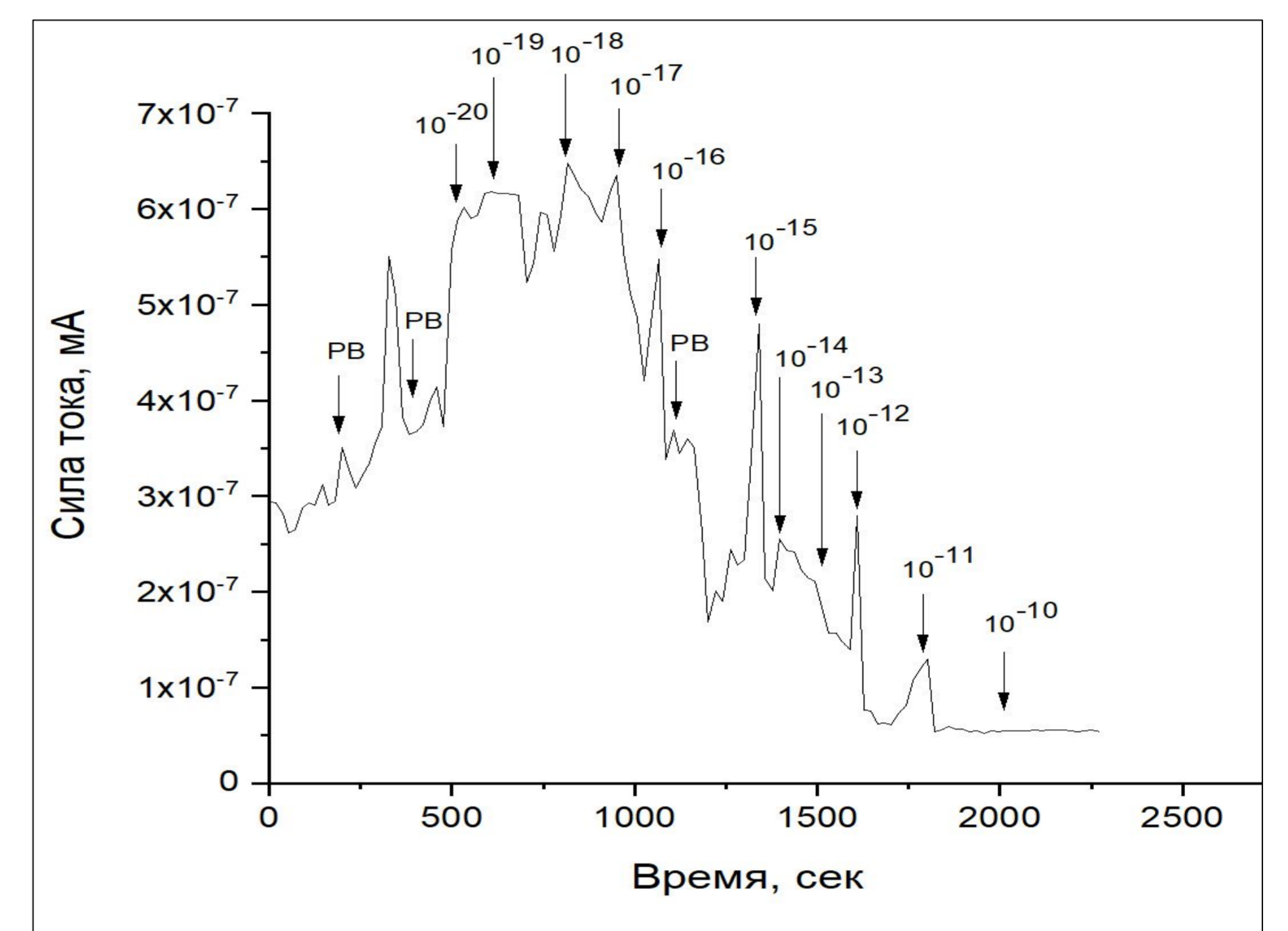
На графиках представлены вольтамперные характеристики кремниевых проволок, содержащих НК-зонды на CDI - модифицированной кремниевой поверхности, до (А) и после (Б) гибридизации с короткой ДНК-матрицей. Проводимость нанопроволоки зависит от заряда вблизи её поверхности.



Изменение сигнала биосенсора в момент добавления матрицы.

### Преимущества биосенсора

Биосенсорные устройства характеризуются высокой чувствительностью, что позволяет идентифицировать НК, присутствующие в анализируемом материале в малых концентрациях.



Изменение сигнала биосенсора при добавлении матрицы в диапазоне концентраций  $10^{-20}$ - $10^{-10}$  М

### Пробоподготовка

В силу высокой чувствительности биосенсоров необходимо разрабатывать методы пробоподготовки, чтобы предотвратить снижение их специфичности из-за огромного количества мешающих компонентов в биологических пробах. Для иммобилизации специфичных зондов были выбраны магнитные наночастицы (МНЧ) и нейлон-6.

Было предложено и апробировано два подхода, основанных на ковалентной иммобилизации комплементарных анализируемой матрице олигонуклеотидных зондов на поверхность полимера нейлон-6 и магнитных наночастиц (МНЧ). При формировании гибридизационного комплекса происходит удаление матрицы из раствора, а при последующем разрушении комплекса, матрица возвращается в уже очищенный от примесей раствор. Для визуализации взаимодействия иммобилизованного на гетерофазный носитель олигонуклеотидного зонда с модельной матрицей, в состав последней вводили флуоресцентную метку в ходе твердофазного синтеза.

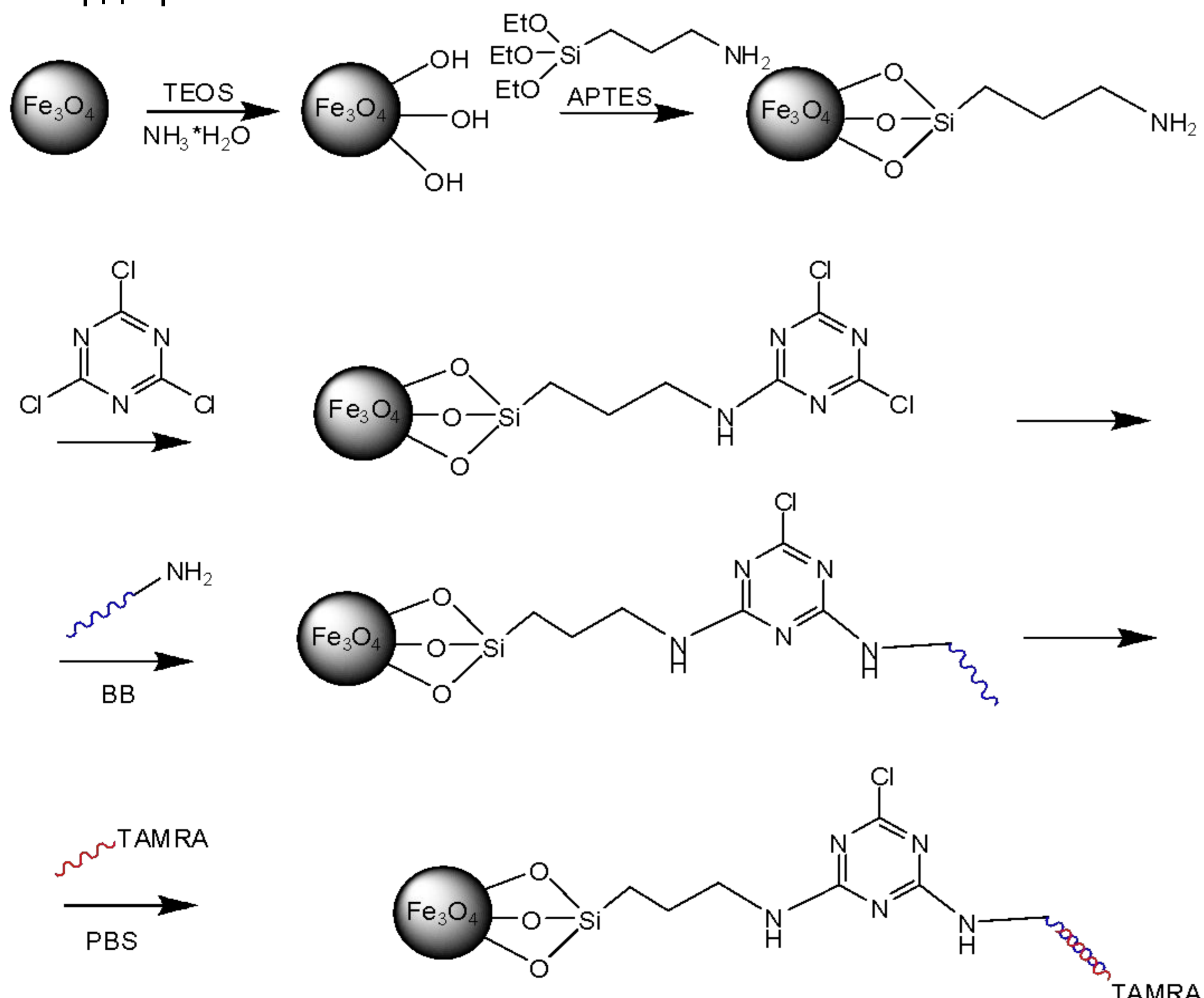
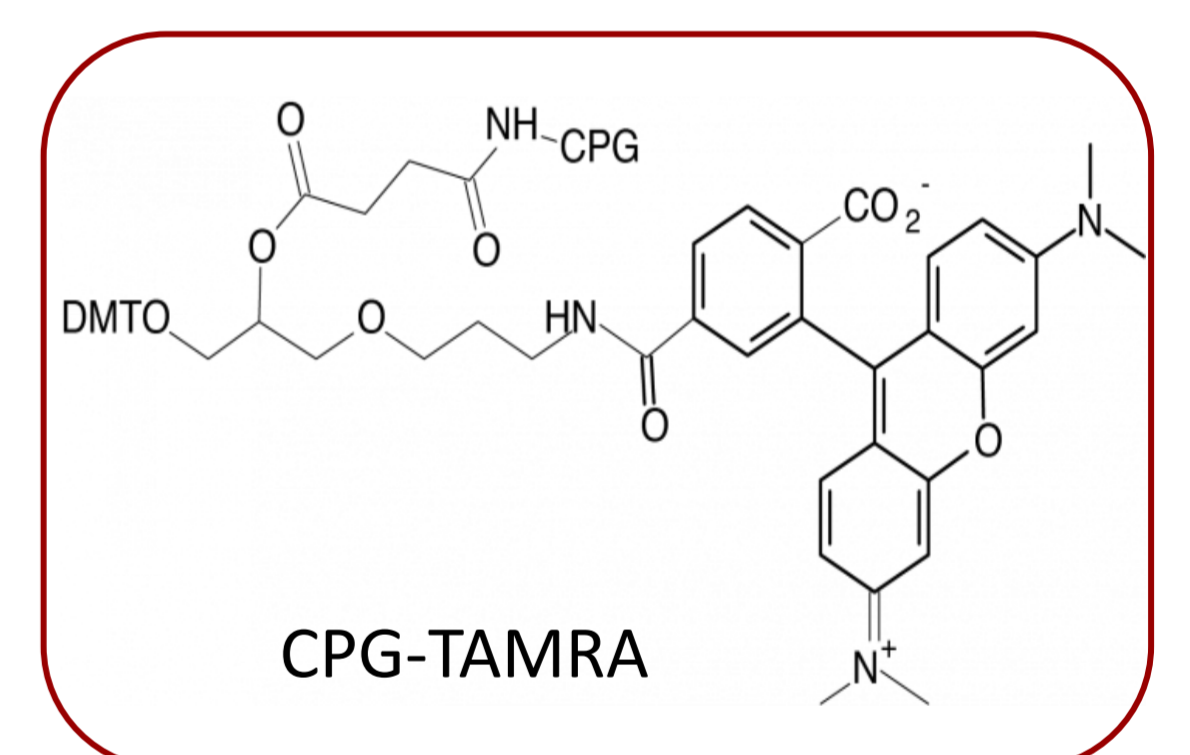


Схема иммобилизации олигонуклеотида на МНЧ с последующей гибридизацией с флуоресцентно-меченой матрицей.

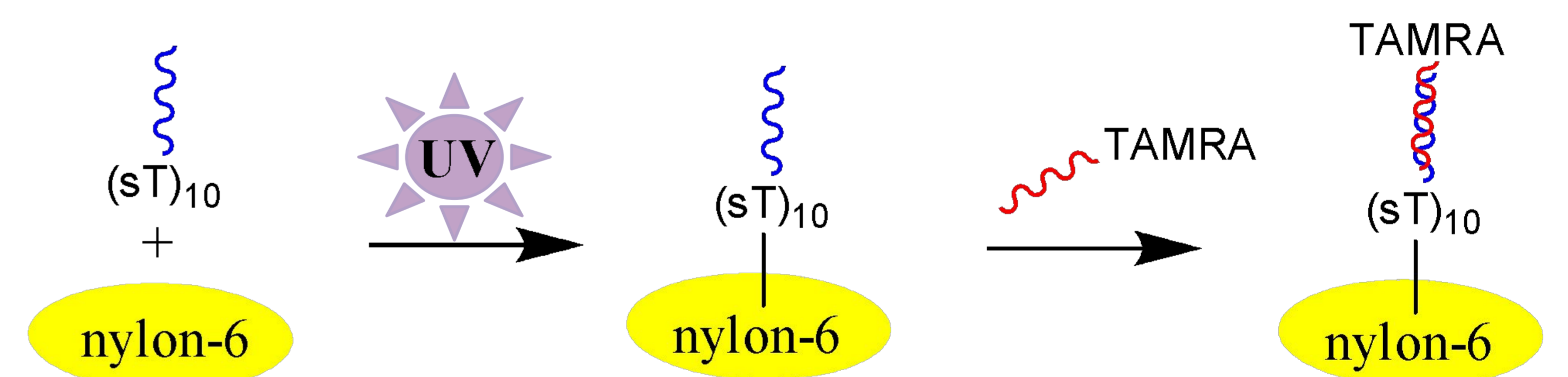


Схема иммобилизации олигонуклеотида на нейлон-6 и последующей гибридизации с флуоресцентно-меченой матрицей.



### Заключение

Разработка способов пробоподготовки и обогащения пробы может повысить селективность выявления НК и позволить выявлять маркеры в ультранизких концентрациях в биологических пробах.