

Физико-химическое исследование новых типов самоограниченных комплексов олигодезоксирибонуклеотидов

Научный руководитель – Ломзов Александр Анатольевич

Кизилова Валерия Александровна

Студент (бакалавр)

Новосибирский государственный университет, Физический факультет, Новосибирск,
Россия

E-mail: kizilkaa@yandex.ru

Нуклеиновые кислоты (НК) и их короткие фрагменты олигонуклеотиды (ОН) широко используются для изучения молекулярно-биологических процессов, в генной инженерии, при создании биосенсоров и др. Введение в структуру ОН модификаций может приводить к изменению их свойств: увеличению стабильности их комплексов (химической, биологической, термодинамической), улучшению специфичности связывания и расширяет возможности по созданию разнообразных одно-, дву- и трехмерных структур. Одним из примеров одномерных комплексов являются полимерные структуры- конкатамеры, сформированные двумя типами ОН, которые содержат два попарно комплементарных фрагмента в своей структуре. При исследовании таких комплексов нами было обнаружено, что введение в центральную часть олигонуклеотидов гибких линкеров на основе фосфодиэфиров диэтиленгликоля приводит к значительному уменьшению размера комплексов. Цель работы - физико-химическое исследование структур сформированных двумя типами олигонуклеотидов, содержащих в центральной части гибкие линкеры. Мы предположили, что могут образовываться самоограниченные комплексы. Для доказательства этого и определения молекулярности комплексов мы предложили, удлинить часть одного из ОН, что при добавлении в систему третьего олигонуклеотида-стоппера, комплементарного этому фрагменту, должно привести к “раскрытию” самоограниченной структуры. В то же время добавление в раствор неудлиненного стоппера не должно приводить к каким либо изменениям в структуре комплексов. Была построена термодинамическая модель формирования комплексов и подобраны нуклеотидные последовательности таким образом, чтобы при добавлении десятикратного избытка удлиненного стоппера, система переходила в тройной комплекс, а при добавлении эквимольного количества существовали, как самоограниченные комплексы, так и “раскрытые”. Экспериментальная проверка была проведена методами термической денатурации с оптической регистрацией сигнала и задержки в геле. Первым методом установлено отсутствие взаимодействия короткого и эффективное взаимодействие протяженного ОН-стоппера с комплексами, содержащими удлиненный олигонуклеотид. Методом гель-электрофореза в нативных условиях доказано формирование именно бимолекулярных структур и их “раскрытие” при добавлении удлиненного олигонуклеотида-стоппера. Показано влияние различных линкеров (нуклеотидной и нуклеотидной природы) на эффективность образования укороченных комплексов. Дополнительно методом атомно-силовой микроскопии показано формирование протяженных конкатамерных комплексов при отсутствии гибких линкеров и образование низкоразмерных комплексов при введении модификаций в структуру олигонуклеотидов.

Работа поддержана грантами ФИМТ 154 и ПФНИ ГАН на 2017-2020 гг. (VI.62.1.4, 0309-2016-0004).