

Определение ДНК – повреждающих факторов, антиоксидантов, генетических заболеваний, вирусных инфекций электрохимическими ДНК – сенсорами

Буряченко С. В.

Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, г. Харьков

E-mail: Semenb837@gmail.com

Развитием электрохимических ДНК–сенсоров является создание генетических биосенсоров, предназначенных для быстрого анализа нуклеиновых кислот. Предназначен ДНК–сенсор прежде всего для выявления генно–биотических модификаций в ДНК и РНК. Нами был создан генетический сенсор, биораспознающим компонентом которого является зонд одноцепочечный олигонуклеотид, комплементарный определенной последовательности исследуемой ДНК (мишени). В результате специфического взаимодействия ДНК–зонда, иммобилизованного на поверхности преобразователя с участком ДНК–мишени, образуется двойная спираль ДНК–дуплекс. Регистрацию проводим прямым детектированием нуклеотидов в ДНК.

Материалы и методы. Был разработан ДНК–сенсор, в котором в качестве преобразователя применен модифицированный кремневыми нанотрубками стеклянный электрод. Модельный 24–членный олигонуклеотид, несущий 5–линкер с концевой аминогруппой, ковалентно иммобилизовали на модифицированном электроде после обработки кристаллов кремния водорастворимым карбодиимидом.

Взаимодействие ДНК–зонда с исследуемой ДНК контролировали с помощью интеркалирующего антибиотика дауномицина, детектируемого при потенциале +0,3 В. Дауномицин предпочтительнее связывается с двуцепочечной ДНК, чем с одноцепочечной, поэтому в результате гибридизации он концентрируется на поверхности биосенсора, а регистрируемый сигнал резко увеличивается. Взаимодействие биосенсора с некомплементарными последовательностями сопровождается заметно меньшим изменением сигнала.

Результаты. Разработан протокол определения 19–мерной последовательности онкогена BRCA1, вызывающего рак молочной железы, с применением в качестве метки щелочной фосфатазы. Определяли накапливаемый в пробе электроактивный α –нафтол. Предел обнаружения последовательности–мишени составил от 40 до 10 ppt.