

УДК 577

## **АНАЛИЗ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АУ-НАНОСЕНСОРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МЕЛАНОМЫ ГЛАЗА**

Грачёва Д. В., Кудрявцев И. А.

Самарский национальный исследовательский университет  
имени академика С. П. Королёва, г. Самара

Меланома глаза является наиболее распространенным внутриглазным злокачественным новообразованием, поражающим 5-7 человек на миллион в год. Диагностика крупных и средних глазных опухолей основывается на клинических данных и симптомах. Проблемой остается выявление небольших меланоцитарных пролифераций [1].

Для повышения эффективности обнаружения клеток увеальной меланомы были использованы наночастицы золота. На практике широкое распространение получил процесс синтеза Au-наносенсоров методом Туркевича, при котором полученные наночастицы слабо взаимодействуют с исследуемыми образцами. Для обеспечения быстрого и стабильного контакта с ДНК олигонуклеотидами предложена модификация наночастиц золота защитной дитиолоановой группой. Рассмотрен процесс обнаружения мутаций в олигонуклеотидах с помощью полученных наносенсоров. Перед добавлением РНК олигонуклеотидов к полученной системе «наночастицы+ДНК» к ДНК олигонуклеотидам привязывали флуоресцентные производные, так как только после этого возможно «раскрытие» ДНК, обладающего шпилечной структурой. В такой конформации флуоресцентная метка находилась непосредственно близка к ядру частицы, которое подавляло флуоресценцию. В результате присоединения РНК олигонуклеотида шпилечная структура ДНК раскрывалась, смещая флуоресцентную производную от ядра, вследствие чего наблюдалось повышение интенсивности флуоресценции.

Для исследования способности наночастиц золота выявлять изменения в одиночных нуклеотидах были приготовлены две модификации наночастиц, соединенных с мутантным и не мутантным ДНК и распознающих, соответственно, РНК мутантного олигонуклеотида и РНК последовательности без изменений. Синтез необходимых олигонуклеотидов осуществлялся амидофосфитным методом с помощью автоматического синтезатора MerMade4 DNA and RNA Synthesizer. Максимум излучения частицами флуоресценции был зарегистрирован на длине волны 518 нм после 20 минут выдерживания наночастиц с РНК олигонуклеотидами. Как показывает график, наночастицы, модифицированные для распознавания мутации, проявили сильную флуоресценцию. Напротив, в результате выдерживания частиц с нормальной последовательностью было замечено слабое возрастание флуоресценции.

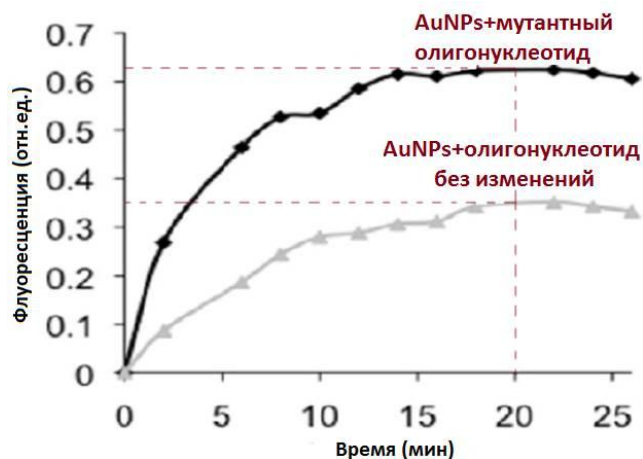


Рис. 1. Зависимость флуоресценции от времени

Измерение флуоресценции проводилось при комнатной температуре с помощью оборудования Synergy H4 microplate reader.

Таким образом, полученные Au-наносенсоры позволяют обнаруживать мутации в клетках глазной меланомы при концентрации олигонуклеотидов не менее 375 наномоль.

#### Библиографический список

1. C.L. Shields, M. Furuta, A. Thangappan, S. Nagori, A. Mashayekhi, D.R. Lally, C. C. Kelly, D.S. Rudich, A.V. Nagori, O.A. Wakade, S.Mehta, L. Forte, A. Long, E.F. Dellacava, B.Kaplan, J.A. Shields. Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter in 8033 consecutive eyes. 2009, 127, 989-98.