

ВПЛИВ ЗАМІСНИКІВ ПОЛІМЕТИНЦІАЇНОВИХ БАРВНИКІВ НА ВЗАЄМОДІЮ З ДНК ТА РНК

Казаков-Кравченко О. С., Ярмолюк С. М.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Україна

kazakkrav44@gmail.com

Використання флуоресцентних інтеркалюючих барвників може призводити до інгібування полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Так, барвники з дуже високою афінністю до дволанцюгової ДНК, можуть підвищувати температуру плавлення подвійної спіралі ДНК, що ускладнює повну денатурацію ланцюгів під час циклів ПЛР, перешкоджаючи процесу ампліфікації. Тому, дослідження фізико-хімічних властивостей альтернативних інтеркалюючих барвників, які здатні значно знизити ризик інгібування ПЛР, зокрема, замісників поліметинціанінових барвників, є актуальним питанням сьогодення.

Нами було досліджено спектрально-люмінесцентні властивості низки барвників, які містять різні замісники (Рис.1) при взаємодії з ДНК та РНК. Порівняльний аналіз флуоресцентної відповіді поліметинціанінів (Таблиця 1) показав, що наявність гідроксильних замісників у 5-му та 6-му положеннях бензотіазольного циклу d15 та d20 забезпечує значно вищі значення приросту флуоресценції $\Delta Q = (I_{\text{ДНК/РНК}}/I_{\text{буф}})$ при взаємодії з ДНК та РНК порівняно з метокси-заміщеними аналогами d14 та d45.

Загалом, гідрокси-заміщені барвники демонструють значно вищу афінність до ДНК та РНК порівняно з метокси-аналогами, що зумовлено утворенням додаткових водневих зв'язків з азотистими основами нуклеїнових кислот. Водночас метокси-заміщені барвники характеризуються вищою кінетичною лабільністю комплексу барвник-ДНК/РНК за збереження достатньо високої інтенсивності флуоресценції, що робить їх перспективними для застосування у ПЛР у реальному часі.

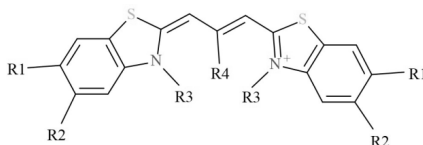


Рис. 1. Загальна структурна формула поліметинціанінового барвника

Таблиця 1. Спектральні характеристики барвників у 0,05М TRIS-HCl буфері (рН 8,0), ДНК та РНК; λ_{abs} , довжина хвилі максимуму поглинання (нм); λ_{flu} , довжина хвилі максимуму флуоресценції (нм); I, інтенсивність флуоресценції барвника на максимумі (в.о.); * – інтенсивність шуму; ΔQ , приріст інтенсивності флуоресценції.

	R1	R2	R3	R4	Буфер			Буфер+ДНК			Буфер+РНК				
					λ_{abs}	λ_{flu}	$I_{\text{буф}}$	λ_{abs}	λ_{flu}	$I_{\text{ДНК}}$	ΔQ	λ_{abs}	λ_{flu}	$I_{\text{РНК}}$	ΔQ
d15	H	OH	CH ₃	CH ₃	511	580	7	514/556	585	683	97,6	519/557	584	1636	223,7
d20	OH	H	CH ₃	C ₂ H ₅	490	582	6	516/557	585	562	93,6	521/559	594	1681	280,2
d14	H	OCH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅	488	582	19	513/557	587	361	19	517/557	587	969	51
d45	OCH ₃	H	CH ₃	C ₂ H ₅	489/553	578	21	515/560	586	436	20,7	519/560	584	1500	71,4
d13	H	OCH ₃	CH ₃	H	466	587	104	458	602	348	3,3	464	602	586	5,6
d44	OCH ₃	H	CH ₃	H	471/577	581	54	506	595	408	7,5	496	597	675	12,5
d42	H	OCH ₃	C ₅ H ₁₁	CH ₃	513	587	25	524/561	591	409	16,4	524/562	588	673	26,9
d47	H	OH	C ₃ H ₁₁	CH ₃	555	-	4*	556	590	193	48,3	561	587	281	70,3
d48	H	OH	C ₃ H ₇	CH ₃	524/556	586	9	525/563	590	464	51,5	526/564	587	1000	111,1