

Аннотация

Научно-квалификационная работа посвящена исследованию межмолекулярных взаимодействий в двойной спирали ДНК при помощи механических методов. Методом АСС получены данные о влиянии различных факторов, таких как температура, солевые условия среды, нуклеотидный состав и степень комплементарности последовательностей, на прочность дуплекса ДНК. Методами АСС и REVS исследованы энергетические профили денатурации модельных ДНК/ДНК-комплексов. Обнаружено, что в сдвиговом режиме механическая денатурация двойной спирали ДНК протекает с преодолением двух потенциальных барьеров, первый из которых связан с растяжением двойной спирали ДНК, а второй - с разрывом водородных связей между цепями. Исследовано влияние однонуклеотидных несоответствий на положения барьеров и кинетику их преодоления.

Исполнитель (Ф.И.О.): Курусь Нина Николаевна

Наименование НКР: Исследование межмолекулярных взаимодействий в двойной спирали ДНК методами атомно-силовой спектроскопии и сканирования явлений отрыва

Объект исследования: двойные спирали ДНК (дуплексы ДНК, ДНК/ДНК-комплексы) длиной 20 и 30 пар оснований.

Цель: Исследование механизма денатурации молекулы ДНК измерением сил разрыва коротких ДНК/ДНК-комплексов.

Методы исследования: атомно-силовая спектроскопия, метод сканирования явлений отрыва на кварцевом резонаторе (REVS).

Научная новизна:

1. Впервые метод REVS применен в исследовании энергетического профиля диссоциации биомолекулярного комплекса.
2. В исследовании профиля денатурации молекул ДНК одновременно применены два механических метода - АСС и REVS, что позволило

расширить динамический диапазон измерений. Показана применимость как АСС, так и REVS, в качестве альтернативы методам УФ-спектроскопии и калориметрии, к исследованию температурной зависимости прочности двойных спиралей ДНК.

3. Экспериментально обнаружено присутствие третьего состояния на энергетическом профиле денатурации двойной спирали ДНК в сдвиговом режиме.

Теоретическая/практическая значимость исследования:

Результаты, представленные в данной работе, являются ключевыми при разработке биосенсорных устройств, предназначенных для экспресс-анализа степени совпадения последовательностей ДНК. При решении задач детектирования необходима информация не только о прочности, но и о механизмах протекания процессов формирования и распада двойной спирали ДНК.

Область применения: Биомедицина, персонализированная медицина, биосенсоры.

Список ключевых слов: ДНК, олигонуклеотиды, сила связи, стабильность, прочность, специфичность, энергетический профиль, мисматч, АСС, REVS.

Апробация работы:

Публикации по теме диссертации:

Список статей:

1. Kurus N. N. Measurement of the unwinding force of a DNA double helix / Kurus N. N., Dultsev F. N. //Journal of Structural Chemistry. – 2017. – Т. 58. – №. 2. – С. 315-339. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0022476617020135>
2. Dultsev F. N. Temperature dependence of unwinding forces between complementary oligonucleotides / Dultsev F. N., Kurus N. N //Journal of microbiological methods. – 2017. – Т. 143. – С. 94-97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.10.011>

3. Kurus N. N., Dultsev F. N. Determination of the Thermodynamic Parameters of DNA Double Helix Unwinding with the Help of Mechanical Methods //ACS Omega. – 2018. – Т. 3. – №. 3. – С. 2793-2797
4. Kurus N. N. et al. Effect of the relief on the measurement of bond rupture force with the help of AFM: the dynamics of interaction and optimization of the procedure / Kurus, N. N., Dultsev, F. N., Shevelev, G. Y., Lomzov, A. A., & Pyshnyi, D. V. //Analytical Methods. – 2018. – Т. 10. – №. 28. – С. 3498-3505.

Тезисы докладов:

1. Измерение силы разрыва молекулы ДНК методом атомно-силовой спектроскопии / Курусь Н.Н., Дульцев Ф.Н., Шевелев Г.Ю., Ломзов А.А., Пышный Д.В. / Химическая биология: материалы международной конференции / Российская академия наук и др. – Новосибирск, 2016. – с. 195
2. Дульцев Ф.Н., Курусь Н.Н., Шевелев Г.Ю., Ломзов А.А., Пышный Д.В. Измерение сил молекулярных взаимодействий для биологических и медицинских исследований, Всероссийская конференция с международным участием «Биотехнология— медицине будущего», Новосибирск, 24-26 июля 2017г.
3. Nina N. Kurus Investigation of the energy profile of helix unwinding in DNA by means of atomic force spectroscopy / Nina N. Kurus, Georgiy Yu. Shevelev // IX International Voevodsky Conference Physics and Chemistry of Elementary Chemical Processes / V.V. Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, SB RAS– Novosibirsk, Russia, 2017. – p. 137
4. Kurus N.N., Dultsev F.N., Shevelev G.Y., Lomzov A.A., Pyshnyi D.V., DETERMINATION OF DNA MELTING TEMPERATURE WITH THE HELP OF QCM, XXI International Conference on Chemical Thermodynamics in Russia, Novosibirsk, Russia, 26-30 June 2017.
5. Н.Н. Курусь, Ф.Н. Дульцев, Г.Ю. Шевелев, А.А. Ломзов, Д.В. Пышный, Исследование процесса денатурации ДНК-комплексов методом

- атомно-силовой спектроскопии, 2-й Международный форум "Техноюнити - Электронно-лучевые технологии для микроэлектроники", Москва, Зеленоград, 9-12 октября 2017г.
6. Н.Н. Курусь, Ф.Н. Дульцев, А.А. Ломзов, Г. Ю. Шевелёв, Е.С. Дюдеева, Д.В. Пышный, Исследование энергетического профиля денатурации ДНК/ДНК- комплексов методом атомно-силовой спектроскопии, V Международная конференция молодых ученых: биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов, АНО «Инновационный центр Кольцово». — Новосибирск , 22-25 октября 2018г.
 7. Исследование кинетики гибридизации олигонуклеотидов ДНК методом VFDM/ Е.С. Дюдеева, Н.Н. Курусь, Ф.Н. Дульцев, А.А. Ломзов, Г. Ю. Шевелёв, Д.В. Пышный / VIII Международная школа молодых учёных по молекулярной генетике на тему: «Генетическая организация и молекулярные механизмы функционирования живых систем»/ ФГУБН Институт молекулярной генетики РАН- Москва, Звенигород, 19-23 ноября 2018г.
 8. Использование кварцевого резонатора для определения термодинамических параметров механической денатурации двойной спирали ДНК / Д.В. Некрасов, Н.Н. Курусь, Ф.Н. Дульцев, А.А. Ломзов, Г. Ю. Шевелёв, Д.В. Пышный / VIII Международная школа молодых учёных по молекулярной генетике на тему: «Генетическая организация и молекулярные механизмы функционирования живых систем»/ ФГУБН Институт молекулярной генетики РАН- Москва, Звенигород, 19-23 ноября 2018г.