

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU (W JĘZYKU POLSKIM)

Nanotechnologia, pomimo że jako dziedzina naukowa wyodrębniła się stosunkowo niedawno, budzi olbrzymie zainteresowanie wśród naukowców. Cechą charakterystyczną nanomateriałów jest wielkość mieszcząca się w granicach od kilku do ok. 100 nm. Już w chwili obecnej znajdują coraz szersze zastosowanie w technice, medycynie i życiu codziennym. Szczególnie duże oczekiwania stawia się tym materiałom w chemii bioanalitycznej i inżynierii biomedycznej. Na uwagę zasługują nanoklaster srebrowy (Ag NCs), które są nową klasą barwników fluorescencyjnych o unikalnych właściwościach spektralnych, szczególnie kiedy do stabilizowania i tworzenia rusztowania dla jonów Ag^+ stosuje się DNA. Dla biologii jako nauki, nie ma większej ikony niż obraz podwójnej nici DNA. Jak się okazuje, sekwencje kwasów nukleinowych bogate w guaninę (G) mogą tworzyć alternatywne czteroniciowe formy zwane G-kwadrupeksami (G4 DNA). Unikalna struktura kwadrupeksów stymuluje rozwój nowych biosensorów, nanomaszyn molekularnych oraz inteligentnych sond oligonukleotydowych opartych na fluorescencyjnym rezonansowym transferze energii (FRET).

Głównym celem prezentowanego projektu jest weryfikacja nowatorskiej koncepcji wykorzystania fluorescencyjnych nanoklasterów srebra tworzonych na matrycy oligonukleotydowej bogatej w zasady cytozynowe (C) wbudowanej w monowarstwę Langmuira za pomocą ugrupowania alkilowego (OD) lub cholesterolowego (CH) oraz oligonukleotydowych sond fluorescencyjnych do monitorowania procesu przeniesienia energii typu FRET. Zaproponowany układ FRET obejmuje dwa komponenty: (i) amfifilowy oligonukleotyd bogaty w zasady cytozynowe (C) zdolny do generowania nanoklasterów srebra (Ag NCs) i będący donorem energii oraz (ii) fluorescencyjną sondę oligonukleotydową zdolną do tworzenia struktur G-kwadrupeksowych i będącą akceptorem energii. Warunkiem koniecznym do generowania sygnału FRET jest przestrzenne zbliżenie się fluorofora do powierzchni fluorescencyjnych nanoklasterów srebra, co jest możliwe w przypadku odpowiedniej reorganizacji sondy, np. utworzenie struktury kwadrupeksowej. Czteroniciowa helisa DNA (G-kwadrupeks, G4 DNA) jest tworzona dzięki tetradom guaninowym – cztery zasady guaninowe formujące tę strukturę są stabilizowane przez wiązania wodorowe typu Hoogsteena oraz wybrane kationy, głównie K^+ i Na^+ .

Próba wyjaśnienia molekularnej natury oddziaływań i procesów fotofizycznych zachodzących w projektowanych układach będzie w dużej mierze bazowała na technice Langmuira oraz na pomiarach widm fluorescencji, także na powierzchni monowarstwy lipidowej. Pierwszy etap badań obejmuje syntezę i projektowanie oligonukleotydowych sond fluorescencyjnych oraz nanoklasterów srebra na matrycy DNA (DNA-Ag NCs) z ugrupowaniem hydrofobowym. Istotą wstępnych badań będzie dokładna charakterystyka spektroskopowa (spektroskopia UV-Vis i spektroskopia fluorescencyjna) zaprojektowanych nanoklasterów srebra i sond oligonukleotydowych zbudowanych na bazie sekwencji o udokumentowanej zdolności do przyjmowania struktury G-kwadrupeksowej: $(G_3TTA)_3G_3$ - fragment ludzkiego telomerowego DNA oraz $(G_2T_2G_2)TGT(G_2T_2G_2)AT_3$ - aptamer antytrombinowy (TBA). Wyniki dichroizmu kołowego CD oraz pomiary temperatur topnienia UV pozwolą określić stabilność tworzenia struktur G4 DNA. Znaczenie diagnostyczne dla oceny efektywności Ag NCs/membrana oraz sondy, będą miały zarówno procesy wygaszania lub podwyższania emisji sondy jak i efektywność transferu energii (FRET). Oligonukleotydy o potencjalnym zastosowaniu terapeutycznym, aby optymalnie działać, muszą przenikać przez błonę komórkową. W celu zwiększenia przenikalności, lipofilowa grupa R (oktadecylowa (OD) lub cholesterolowa (Ch)) zostanie przyłączona do sondy DNA jak i do nanoklasterów srebra Ag NCs. Weryfikację założonego modelu oddziaływań w układzie Ag NCs/monowarstwa – oligonukleotydowa sonda fluorescencyjna umożliwią badania z udziałem wanny Langmuira (izoterma π -A/ciśnienie powierzchniowe-powierzchnia, profile π -t /ciśnienie powierzchniowe-czas), światłowodowego układu pomiarowego do rejestracji widm fluorescencyjnych na powierzchni monowarstwy, alternatywna depozycja filmów LB na nośniki stałe oraz widma fluorescencyjne liposomów zawierających sondę oligonukleotydową.

Uważa się, że struktury G4 DNA mają potencjalne znaczenie w terapii antynowotworowej oraz w diagnostyce biomedycznej (telomerowe DNA, promotory onkogenów). Tak więc badanie właściwości struktur kwadrupeksowych w obecności modelowych membran lipidowych z udziałem nanoklasterów srebra jest zadaniem aktualnym i o dużym znaczeniu. Proponowany układ analityczny niesie ze sobą duże potencjalne zastosowanie bioanalityczne (sondy HIV DNA, ATP, detekcja jonów K^+ , Hg^{2+} , białek), posiada cenne walory poznawcze dotyczące właściwości fotofizycznych Ag NCs, w zorganizowanych mediach (monowarstwy, filmy LB) i przede wszystkim posiada nowatorski charakter, brak jest doniesień w literaturze przedmiotu dotyczących podobnych rozwiązań sensorowych.