



Warszawa, 31 października 2018

## **Rekordowo długi polimerowy negatyw DNA**

*Fragment pojedynczej nici DNA, zbudowany z nukleinowych zasad cytozynowych i guaninowych, można odcisnąć w polimerze, wykazali chemicy z Warszawy, Denton i Mediolanu. Otrzymany sztuczny negatyw, rekordowy pod względem długości, chemicznie funkcjonuje jak normalna nić kwasu deoksyrybonukleinowego. Osiągnięcie ostatecznie potwierdza możliwość tworzenia polimerowych odcisków DNA, funkcjonalnie odpowiadających fragmentom DNA zawierającym wszystkie cztery zasady nukleinowe.*

Półtora roku temu polsko-amerykańsko-włoska grupa naukowców wytworzyła chemiczny negatyw DNA za pomocą techniki wdrukowania molekularnego. Molekularne luki, powstałe w starannie zaprojektowanym polimerze, pod względem chemicznym zachowywały się jak prawdziwa nić DNA (komplementarna do tej zastosowanej przy wdrukowaniu). Pierwszy oligomer „odciśnięty” w polimerze był krótki, składał się bowiem tylko z sześciu zasad adeninowych i tyminowych tworzących ciąg TATAAA. Obecnie grupa z Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk (IChF PAN) w Warszawie, kierowana przez prof. dr. hab. Włodzimierza Kutnera i współpracująca z University of North Texas w Denton (USA) i University of Milan (Włochy), zrobiła kolejny krok. Na łamach czasopisma „ACS Applied Materials & Interfaces” naukowcy przedstawili proces konstruowania negatywowego fragmentu pojedynczej nici DNA, zawierającego pozostałe zasady nukleinowe: cytozynę i guaninę.

„Oligonukleotyd, odcisnięty teraz w polimerze, jest nieco dłuższy od opisanego przez nas w poprzedniej publikacji. Nie chodziło tu jednak o bicie rekordów. Najważniejsze było wykazanie, że metodą wdrukowywania molekularnego można budować trwałe negatywy oligonukleotydów zawierających wszystkie zasady nukleinowe wchodzące w skład cząsteczki kwasu deoksyrybonukleinowego”, mówi prof. Kutner.

Każda cząsteczka DNA to skręcona w helisę wstęga, zbudowana z dwóch długich, trwale ze sobą połączonych nici. Pojedynczą nić tworzą wielokrotnie powtarzające się nukleotydy, z których każdy zawiera jedną zasadę nukleinową: adeninę (A), guaninę (G), cytozynę (C) lub tyminę (T). Ponieważ występującej na jednej nici adeninie zawsze odpowiada tymina na drugiej, a guaninie – cytozyna, na podstawie pojedynczej nici DNA łatwo odtworzyć jej dopełniającego partnera. Mechanizm ten nie tylko zwiększa trwałość zapisu kodu genetycznego, ale także pozwala przepisywać go z DNA na RNA w procesie transkrypcji, będącym pierwszym etapem syntezy białek.

„Cząsteczki DNA są bardzo długie; gdyby je rozprostować, miałyby długość mierzoną w centymetrach. W normalnych warunkach dwuniciowa wstęga DNA jest jednak powyginana i

pozwijana na różne sposoby. Odcisnięcie tak skomplikowanej przestrzennej struktury w polimerze nie tylko nie jest możliwe, ale też nie ma sensu, ponieważ różne cząsteczki tego samego DNA mogą być zwinięte w różny sposób. Dlatego z reguły podczas badań dwuniciowego DNA jego nici najpierw się rozdziela, a następnie tnie na kawałki zawierające od kilku do kilkudziesięciu nukleotydów. Fragmenty tej długości można już próbować odcisnąć w polimerze”, tłumaczy dr Agnieszka Pietrzyk-Le (IChF PAN).

W celu odcisnięcia cząsteczek w polimerze wprowadza się je do roztworu monomerów, czyli „cegielek”, z których powstanie przyszły polimer. Część monomerów dobiera się w taki sposób, aby samoczynnie układały się wokół wdrukowywanych cząsteczek. Mieszaninę poddaje się następnie elektropolimeryzacji. W jej wyniku powstaje cienka, utwardzona warstwa polimeru, z którego następnie usuwa się wdrukowane cząsteczki. Tak otrzymuje się polimer z lukami molekularnymi dopasowanymi do oryginalnych cząsteczek nie tylko pod względem wielkości i kształtu, ale nawet ich lokalnych właściwości chemicznych.

„W naszych najnowszych badaniach wykazaliśmy, że możliwe jest wdrukowanie w polimer oligonukleotydu GCGGCGGC, czyli takiego, który zawiera osiem zasad nukleinowych. Oligomer ten jest genetycznie istotny. Jego obecność między innymi zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia chorób neurodegeneracyjnych”, wyjaśnia doktorantka Katarzyna Bartoń (IChF PAN).

Pierwszy polimerowy negatyw, z odcisniętym oligomerem adeninowo-tyminowym, był w pełni selektywny: w lukach molekularnych lokowały się wyłącznie cząsteczki TATAAA uprzednio zastosowane do przygotowania tego polimeru. W obecnie zsyntetyzowanym polimerze luki guaninowo-cytozynowe są także wysoce selektywne, ale ta selektywność wciąż pozostawia wiele do życzenia. Jeśli wychwytywany z roztworu oligonukleotyd różni się tylko jedną zasadą od oligonukleotydu GCGGCGGC użytego do wdrukowania, luka może tej różnicy nie zauważyć. Badacze przypisują to zachowanie silniejszemu wiązaniu guaniny z cytozyną niż adeniny z tyminą.

„Co ciekawe, pod pewnymi względami właściwości naszego negatywu DNA przewyższają właściwości naturalnej nici DNA. Prawdziwa nić ma bowiem rdzenie nukleotydowe naładowane elektrycznie ujemnie, co sprawia, że w roztworze jej cząsteczki się odpychają. Chemicy muszą więc ten ładunek zubożnić, na przykład wprowadzając dodatnie jony sodu. U nas luki molekularne są już obojętne elektrycznie. Zatem stosując nasz polimerowy analog DNA eliminujemy jeden etap badań – zubożnianie”, zauważa dr Pietrzyk-Le.

W najbliższym czasie naukowcy zamierzają udoskonalić opracowaną technikę, wdrukując coraz dłuższe fragmenty DNA, tak by można było odwzorowywać oligonukleotydy składające się z przynajmniej kilkunastu nukleotydów. Warstwy polimerowe z tak długimi lukami molekularnymi umożliwiłyby konstruowanie efektywnych detektorów wykrywających ważne genetycznie fragmenty DNA. Byłoby to możliwe, ponieważ masa polimeru z lukami wypełnionymi oligomerami wychwyconymi z badanego roztworu się zwiększa, zmienia się też przewodnictwo elektryczne polimeru, a zmiany tych parametrów można łatwo wykryć. W przyszłości możliwe byłoby także inne zastosowanie. Warstwy polimerowe z odcisniętymi fragmentami DNA i lukami molekularnymi wypełnionymi tymi fragmentami będzie można stosować w badaniach nowych leków skierowanych przeciwko chorobom genetycznym.

Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk (<http://www.ichf.edu.pl/>) został powołany w 1955 roku jako jeden z pierwszych instytutów chemicznych PAN. Profil naukowy Instytutu jest silnie powiązany z najnowszymi światowymi kierunkami rozwoju chemii fizycznej i fizyki chemicznej. Badania naukowe są prowadzone w dziewięciu zakładach naukowych. Działający w ramach Instytutu Zakład Doświadczalny CHEMIPAN wdraża, produkuje i komercjalizuje specjalistyczne związki chemiczne do zastosowań m.in. w rolnictwie i farmacji. Instytut publikuje około 200 oryginalnych prac badawczych rocznie.

#### **KONTAKT:**

prof. dr hab. **Włodzimierz Kutner**  
Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie  
tel. +48 22 3433217  
email: [wkutner@ichf.edu.pl](mailto:wkutner@ichf.edu.pl)

dr **Agnieszka Pietrzyk-Le**

Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie

tel. +48 22 3433280, +48 22 3433171

email: [apietrzyk@ichf.edu.pl](mailto:apietrzyk@ichf.edu.pl)

mgr **Katarzyna Bartold**

Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie

tel. +48 22 3433055

email: [kbartold@ichf.edu.pl](mailto:kbartold@ichf.edu.pl)

#### **PUBLIKACJE NAUKOWE:**

1. „Oligonucleotide Determination via Peptide Nucleic Acid Macromolecular Imprinting in an Electropolymerized CG-Rich Artificial Oligomer Analogue”  
K. Bartold, A. Pietrzyk-Le, K. Golebiewska, W. Lisowski, S. Caeteruccio, E. Licandro, F. D'Souza, W. Kutner  
ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10 (33), pp 27562–27569  
DOI: 10.1021/acsami.8b09296

#### **POWIĄZANE STRONY WWW:**

<http://www.ichf.edu.pl/>

Strona Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk.

<http://www.ichf.edu.pl/press/>

Serwis prasowy Instytutu Chemii Fizycznej PAN.

<http://www.ichfdlafirm.pl/>

Oferta Instytutu Chemii Fizycznej PAN skierowana do przedsiębiorców i przemysłu.

#### **MATERIAŁY GRAFICZNE:**

**ICHF181031b\_fot01s.jpg**

HR: [http://ichf.edu.pl/press/2018/10/ICHF181031b\\_fot01.jpg](http://ichf.edu.pl/press/2018/10/ICHF181031b_fot01.jpg)

W Instytucie Chemii Fizycznej PAN w Warszawie odcisnięto w polimerze fragment DNA rekordowej długości. (Źródło: IChF PAN, Grzegorz Krzyżewski)