

**ВЛИЯНИЕ ГИДРОФИЛЬНОСТИ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДНЫХ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ ПО C5 ПОЛОЖЕНИЮ ПИРИМИДИНОВОГО ЦИКЛА ДЕЗОКСИУРИДИНТРИФОСФАТОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ ДНК ПОЛИМЕРАЗАМИ**

*О.А. Заседателева, С.А. Суржиков, В.Е. Шершов, Р.А. Мифтахов, Д.А. Юрасов, В.Е. Кузнецова, А.В. Чудинов*

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*

Исследования субстратной специфичности полимераз, направленные на расширение и детализацию представлений о молекулярных механизмах функционирования ДНК и РНК полимераз в присутствии различных аналогов нуклеозидтрифосфатов (1,2), служат пополнению арсенала актуальных методических подходов к созданию биологически активных соединений, селективно подавляющих работу полимераз патогенов и безвредных для человека, с целью терапии инфекционных заболеваний.

Нами были синтезированы dUTPs, модифицированные по C5-положению пиримидинового цикла рядом ароматических углеводородных заместителей, обладающих различными гидрофильными свойствами. Заместители были присоединены через линкер  $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NHCO}-\text{CH}_2$ . С помощью полимераз Taq, Tth, Vent (exo-) и Deep Vent (exo-) исследована эффективность ПЦР-встраивания модифицированных дезоксиуридинов с использованием модельной ДНК-матрицы, содержащей мотивы А, АА и ААА в своей последовательности. Показано, что для всех использованных полимераз эффективность наработки ПЦР-продукта существенно повышается с ростом гидрофильности заместителя (3). При этом встраивание дезоксиуридина, модифицированного наиболее гидрофильным из исследованных фенильных заместителей – остатком 4-гидроксифенила, – происходит с эффективностью, равной 60–85 % от эффективности встраивания тимидина. Относительные эффективности встраивания дезоксиуридинов, модифицированных остатками 2-, 4-метоксифенила, фенила и 4-нитрофенила, составляют 20–50 %. А относительная эффективность встраивания дезоксиуридинов, модифицированных наиболее гидрофобными заместителями, – остатками 1-нафтадена и 4-бифенила, – оказалась существенно пониженной и составила 2–18 % (3). Повышение эффективности ПЦР с увеличением гидрофильности заместителя в C5-положении dUTPs коррелирует с ранее полученным результатом, показывающим, что dUMPs, меченные в C5-положении гидрофильными цвиттерионными аналогами цианиновых флуорофоров, обладают более высокой эффективностью встраивания Taq-ДНК-полимеразой по сравнению с dUMPs, меченными положительно или отрицательно заряженными флуорофорами (4).

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований [грант № 18–29–09151].*

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Jäger S., Rasched G., Kornreich-Leshem H., Engeser M., Thum O., Famulok M. A versatile toolbox for variable DNA functionalization at high density. *J Am Chem Soc.* 2005. 127, 15071–15082.
2. Kuwahara M., Nagashima J., Hasegawa M., Tamura T., Kitagata R., Hanawa K., Hososhima S., Kasamatsu T., Ozaki H., Sawai H. Systematic characterization of 2' – deoxynucleoside-5' – triphosphate analogs as substrates for DNA polymerases by polymerase chain reaction and kinetic studies on enzymatic production of modified DNA. *Nucleic Acids Res.* 2006. 34, 5383–5394.
3. Zasedateleva O.A., Surzhikov S.A., Shershov V.E., Miftakhov R.A., Yurasov D.A., Kuznetsova V.E., Chudinov A.V. PCR incorporation of dUMPs modified with aromatic hydrocarbon substituents of different hydrophilicities: Synthesis of C5-modified dUTPs and PCR studies using Taq, Tth, Vent (exo-) and Deep Vent (exo-) polymerases. *Bioorg Chem.* 2020. 99:103829.
4. Zasedateleva O.A., Vasiliskov V.A., Surzhikov S.A., Kuznetsova V.E., Shershov V.E., Guseinov T.O., Smirnov I.P., Yurasov R.A., Spitsyn M.A., Chudinov A.V. dUTPs conjugated with zwitterionic Cy3 or Cy5 fluorophore analogues are effective substrates for DNA amplification and labelling by Taq polymerase. *Nucleic Acids Res.* 2018. 46, e73.