

УДК 577.113.4; 547.97; 54.057

**НОВЫЙ ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВЫЙ КРАСИТЕЛЬ ДЛЯ МАРКИРОВАНИЯ
БИОЛОГИЧЕСКИХ МАКРОМОЛЕКУЛ****В.Е. Шершов, В.Е. Кузнецова, Р.А. Мифтахов, А.В. Чудинов***Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*

В современной медицинской диагностике важное место занимают методы оптической визуализации, основанные на использовании флуоресцентных красителей. Одними из видов флуоресцентных красителей являются цианиновые красители, которые широко используются для маркирования биомолекул, включая антитела, ДНК-зонды, авидин, стрептавидин, липиды, биохимические аналоги, пептиды и лекарства, а также для различных приложений, таких как секвенирование ДНК, ДНК- и белковые микрочипы, вестерн-блоттинг, анализ проточной цитометрии. Условиями использования данных красителей является высокая растворимость в водно-солевых растворах, т.к. биологические процессы протекают в водных средах, восприимчивость ДНК-полимеразами, если речь идет о процессах связанных с амплификацией флуоресцентно-меченых фрагментов ДНК, термо- и флоростабильность и др. Помимо вышесказанного, использование красителей ближнего ИК-диапазона (700–900 нм) позволяют перейти в область с наименьшей собственной фоновой флуоресценцией биологического материала, что увеличивает чувствительность регистрации флуоресцентно-меченых биологических макромолекул.

Нами синтезирован новый водорастворимый нейтрально заряженный цвиттер-ионный индотрикарбоцианиновый краситель, активная форма которого представлена на рисунке 1. Синтезированный краситель обладает достаточной водорастворимостью за счет наличия сульфо и сульфамидоалкильных групп, что обеспечивает его использование в водных и водно-органических средах. Циклогексеновый фрагмент в полиметиновой цепи обеспечивает жесткость хромофора увеличивая его хемо- и термостабильность. За счет наличия активированной карбоксильной группы, в виде N-оксисукцинимидного эфира, краситель пригоден для последующей конденсации с модифицированными нуклеозидтрифосфатами, олигонуклеотидами и другими разнообразными биологически активными макромолекулами, которые содержат первичную алифатическую аминогруппу, для получения соответствующего флуоресцентно-меченного соединения. За счет того, что общий заряд хромофора скомпенсирован и является нейтральным, пиримидиновые нуклеотиды флуоресцентно-меченные данным красителем по 5-положению основания через 3-амино-1-пропенный линкер встраиваются ДНК-полимеразами в растущую цепь ДНК в ходе ПЦР. Представленный краситель имеет максимумы поглощения и флуоресценции 774 нм и 794 нм (в PBS) соответственно. Квантовый выход флуоресценции равен 14 % и коэффициент молярной экстинкции – $2,8 \cdot 10^5$ (л*моль⁻¹*см⁻¹).

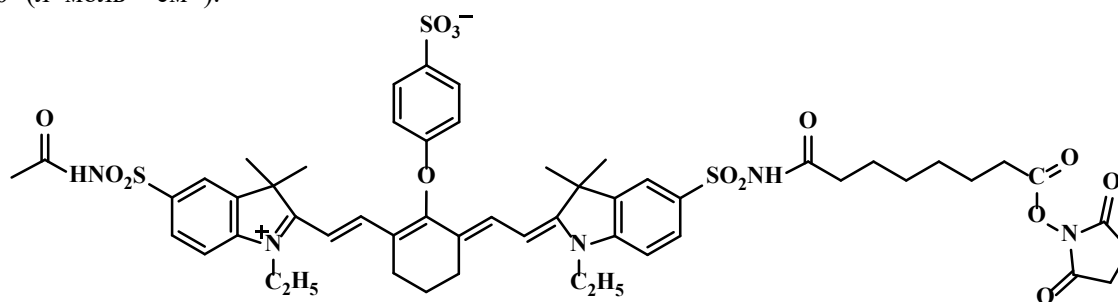


Рисунок 1 – Химическое строение N-оксисукцинимидного эфира индотрикарбоцианинового красителя.

Работа выполнена при финансовой поддержке «Стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики на 2018–2020 гг. (СП-274.2018.4)»