

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-173

**СУБСТРАТНЫЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
ФОСФОРАМИДНЫХ АЗОЛЬНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ*****SUBSTRATE AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES
OF PHOSPHORAMIDATE AZOLE OLIGONUCLEOTIDES**

Ф. В. Морозова, В. М. Голышев, А. А. Ломзов

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск
Новосибирский государственный университет*

F. V. Morozova, V. M. Golyshev, A. A. Lomzov

*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk
Novosibirsk State University*

✉ fainamorozova@bk.ru

Аннотация

Для повышения специфичности и чувствительности методов ПЦР-анализа в составе праймеров вводят различные типы модификаций. Одним из перспективных аналогов НК для этого являются фосфорамидные азольные олигонуклеотиды (ФАО). В работе исследованы физико-химические и субстратные по отношению к Taq-полимеразе свойства комплексов ДНК с ФАО для совершенных и несовершенных комплексов (имеющих мисматч).

Abstract

To enhance the specificity and sensitivity of PCR assays, various types of nucleic acid (NA) modifications are commonly introduced into primer design. One promising class of NA analogs for this purpose is phosphoramidate azole oligonucleotides (PAOs). In this work, we investigated the physicochemical properties and substrate compatibility with Taq polymerases of DNA/PAO complexes, fully complementary and containing single-nucleotide mismatches.

ФАО — новый класс (PN)-замещенных олигонуклеотидных производных, содержащих замещенные азольные (имидазольные, оксазольные и тиазольные) фосфорамидные группы. Такие модификации могут быть введены в структуру олигонуклеотида в рамках автоматического твердофазного фосфитамидного синтеза. На данный момент уже получены первые сведения о физико-химических свойствах ФАО [1, 2] и возможности их применения в качестве праймеров в ПЦР [3].

В работе были исследованы физико-химические свойства комплексов ДНК с ФАО (N-бензимида(окса, тиа)зольные) не только для комплементарных комплексов, но и тех, в которых присутствуют одиночные нуклеотидные несоответствия (мисматчи). Вместе с тем изучена эффективность элонгации модифицированных праймеров Taq-ДНК-полимеразой. Была исследована скорость и эффективность элонгации тринадцатизвенных ФАО-праймеров в комплексе с двадцатидвухзвенной ДНК-матрицей как для систем с одиночными нуклеотидными несоответствиями, так и комплементарные комплексы при процессировании их ДНК-зависимой ДНК-полимеразой. Анализ продуктов удлинения ФАО-праймеров Taq-ДНК-полимеразой позволил определить важные для действия фермента положения ФА-групп в праймере, замедляющие или препятствующие удлинению олигомера.

Полученные данные показывают, что среди трех типов модификаций праймеры с N-бензоксазольной модификацией могут значимо ингибировать удлинение для несовершенных комплексов и обладают практически одинаковой с нативными праймерами эффективностью элонгации праймера до полноразмерного продукта и показывают себя как наиболее перспективный тип ФАО-модификации для их применения в ПЦР-анализе в составе праймеров.

Литература

1. Golyshev V. M., Yushin I. I., Gulyaeva O. A. et al. Properties of phosphoramidate benzoazole oligonucleotides (PABAOs). I. Structure and hybridization efficiency of N-benzimidazole derivatives // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2024. Vol. 693. P. 149390.
2. Yushin I. I., Golyshev V. M., Novgorodtseva A. I. et al. Properties of phosphoramidate benzoazole oligonucleotides (PABAOs). II. Structure and hybridization efficiency of N-benzoxazole derivatives // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2024. Vol. 740. P. 150997.
3. Chubarov A. S., Baranovskaya E. E., Oscorbin I. P. et al. Phosphoramidate Azole Oligonucleotides for Single Nucleotide Polymorphism Detection by PCR // Int. J. Mol. Sci. 2024. Vol. 25, No. 1. P. 617.

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-74-01116).

© Ф. В. Морозова, В. М. Голышев, А. А. Ломзов, 2025