



Warszawa, 18 stycznia 2017

W dziejach życia takiej „nici” DNA jeszcze nie było

W starannie zaprojektowanym polimerze naukowcy z Instytutu Chemii Fizycznej PAN w Warszawie odcisnęli fragment pojedynczej nici DNA. Otrzymany negatyw pozostawał chemicznie aktywny i był zdolny do przyłączania odpowiednich zasad nukleinowych tworzących kod genetyczny. Polimerowa matryca – pierwsza tego typu w dziejach – funkcjonowała więc dokładnie jak fragment prawdziwego DNA.

Odciskanie cząsteczek chemicznych w polimerze, czyli wdrukowywanie molekularne, to metoda znana i rozwijana od lat. Jednak nikt wcześniej nie użył jej do skonstruowania łańcucha polimerowego dopełniającego fragment pojedynczej nici DNA. Sztuki tej właśnie dokonali naukowcy z Instytutu Chemii Fizycznej PAN (IChF PAN) w Warszawie we współpracy z University of North Texas (UNT) w Denton, USA, i University of Milan we Włoszech. W odpowiednio dobranym polimerze odwzorowali istotny genetycznie fragment DNA, zbudowany z sześciu zasad nukleinowych.

Wdrukowywanie molekularne zwykle przebiega w kilku etapach. Cząsteczki przeznaczone do wdrukowania najpierw umieszcza się w roztworze monomerów (czyli podstawowych „cegiełek”, z których powstanie przyszły polimer). Monomery są tak dobrane, żeby samoczynnie układały się wokół wdrukowywanych cząsteczek. Mieszaninę poddaje się następnie polimeryzacji, po której z utwardzonej struktury usuwa się wdrukowane cząsteczki. Efektem tych zabiegów jest konstrukcja polimerowa z lukami molekularnymi dopasowanymi do oryginalnych cząsteczek pod względem wielkości i kształtu, a nawet ich lokalnych właściwości chemicznych.

„Za pomocą wdrukowywania molekularnego potrafimy wytwarzać np. warstwy rozpoznające do czujników chemicznych, wychytujące z otoczenia wyłącznie cząsteczki konkretnego związku chemicznego – bo tylko te cząsteczki wpasują się w istniejące luki molekularne. Nie ma jednak róży bez kolców. Wdrukowywanie molekularne doskonale sprawdza się w przypadku mniejszych cząsteczek chemicznych. Jednak im większa cząsteczka, tym trudniej ją dokładnie wdrukować w polimer”, tłumaczy prof. dr hab. Włodzimierz Kutner (IChF PAN).

Cząsteczki kwasu deoksyrybonukleinowego, czyli DNA, są naprawdę duże: ich długość sięga centymetrów. Cząsteczki te na ogół składają się z dwóch długich, sparowanych ze sobą nici. Pojedyncza nić jest zbudowana z wielokrotnie powtarzających się nukleotydów, przy czym każdy z nich zawiera jedną z zasad nukleinowych: adeninę (A), guaninę (G), cytozynę (C) lub tyminę (T).

Zasady na obu niciach nie są ułożone dowolnie: adeninie na jednej nici zawsze odpowiada tymina na drugiej, a guaninie – cytozyna. Gdy więc mamy do dyspozycji jedną nić, zawsze możemy odtworzyć jej dopełnienie, czyli drugą nić.

Komplementarność zasad nukleinowych w niciach DNA jest dla komórek niezwykle ważna. Nie tylko zwiększa trwałość zapisu kodu genetycznego (uszkodzenie jednej nici można naprawić na podstawie budowy drugiej), ale także pozwala przepisywać go z DNA na RNA w procesie znanym jako transkrypcja. Transkrypcja zaś to pierwszy etap na drodze do syntezy białek.

„Nasz pomysł polegał na tym, żeby spróbować wdrukować w polimer fragment pojedynczej nici DNA. Jednocześnie zależało nam, aby odwzorować nie tylko sam kształt nici, ale także kolejność tworzących ją zasad nukleinowych”, mówi dr Agnieszka Pietrzyk-Le (IChF PAN).

Do badań, po stronie polskiej finansowanych z grantów Fundacji na rzecz Nauki Polskiej i Narodowego Centrum Nauki, badacze z IChF PAN zastosowali fragmenty kodu genetycznego znanego jako TATAAA. Sekwencja ta pełni ważną rolę biologiczną: współdecyduje o uaktywnieniu leżącego za nią genu. TATAAA występuje w większości komórek eukariotycznych (a więc zawierających jądro komórkowe); u ludzi jest obecna w pobliżu co czwartego genu.

Kluczowy etap pracy badawczej polegał na zaprojektowaniu syntetycznych monomerów poddawanych polimeryzacji elektrochemicznej. Musiały one być zdolne do dokładnego otoczenia wdrukowywanej cząsteczki w taki sposób, aby każdej tyminie i adeninie z nici DNA towarzyszyły komplementarne do nich zasady. Ważne były również wymogi mechaniczne: po spolimeryzowaniu matryca musiała być trwała. Odpowiednie monomery zostały zsyntetyzowane przez grupę prof. D'Souzy (UNT).

„Gdy mamy już przygotowane wszystkie odczynniki i aparaturę, samo wdrukowywanie oligonukleotydu TATAAA nie jest specjalnie skomplikowane. Najważniejsze procesy przebiegają samoczynnie w roztworach, w ciągu nie więcej niż kilkudziesięciu minut. Ostatecznie na elektrodzie zastosowanej do elektropolimeryzacji otrzymujemy warstwę przewodzącego polimeru z lukami molekularnymi, w których zasady nukleinowe układają się w sekwencję TTTATA, a więc w dopełnienie usuniętego oryginału”, opisuje doktorantka Katarzyna Bartold (IChF PAN).

Czy tak przygotowane matryce polimerowe rzeczywiście odtwarzają oryginalny fragment łańcucha DNA? Aby odpowiedzieć na to pytanie, w IChF PAN przeprowadzono dokładne badania właściwości nowych polimerów oraz wykonano szereg eksperymentów, które potwierdziły oddziaływanie polimerów z różnymi zasadami nukleinowymi w roztworach. Wyniki nie pozostawiają wątpliwości: polimerowy negatyw DNA rzeczywiście jest chemicznie aktywny i selektywnie wiąże oligonukleotyd TATAAA, poprawnie odtwarzając kolejność zasad nukleinowych.

Możliwość stosunkowo łatwego i taniego wytwarzania polimerowych, trwałych odpowiedników fragmentów DNA to ważny krok w rozwoju genetyki syntetycznej, zwłaszcza w zakresie jej upowszechnienia w zastosowaniach biotechnologicznych i medycynie molekularnej. Jeśli metodę opracowaną w IChF PAN uda się w przyszłości udoskonalić, w matrycach polimerowych będzie można odwzorowywać dłuższe fragmenty kodu genetycznego. Otwierają się tu inspirujące perspektywy związane nie tylko z poznawaniem szczegółów procesu transkrypcji w komórkach czy budową chemosensorów do zastosowań w nanotechnologiach operujących na łańcuchach DNA, ale także z trwałym archiwizowaniem oraz replikowaniem kodu genetycznego różnych organizmów.

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

dr **Agnieszka Pietrzyk-Le**
Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie
tel. +48 22 3433280, +48 22 3433171
email: apietrzyk@ichf.edu.pl

mgr **Katarzyna Bartold**
Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie
tel. +48 22 3433055
email: kbartold@ichf.edu.pl

PUBLIKACJE NAUKOWE:

1. „Programmed transfer of sequence information into molecularly imprinted polymer (MIP) for hexa(2,2'-bithien-5-yl) DNA analog formation towards single nucleotide polymorphism (SNP) detection”

K. Bartold, A. Pietrzyk-Le, T.-P. Huynh, Z. Iskierko, M. I. Sosnowska, K. Noworyta, W. Lisowski, F. M. E. Sannicolo, S. Cauteruccio, E. Licandro, F. D'Souza, W. Kutner

ACS Applied Materials & Interfaces 2017
DOI: 10.1021/acsami.6b14340

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.

MATERIAŁY GRAFICZNE:

IChF170118b_fot01s.jpg

HR: http://ichf.edu.pl/press/2017/01/IChF170118b_fot01.jpg

Polimerowy negatyw fragmentu kodu genetycznego, aktywny chemicznie i zdolny przyłączać komplementarne zasady nukleinowe, stworzyli naukowcy z Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie. (Źródło: IChF PAN, Grzegorz Krzyżewski)