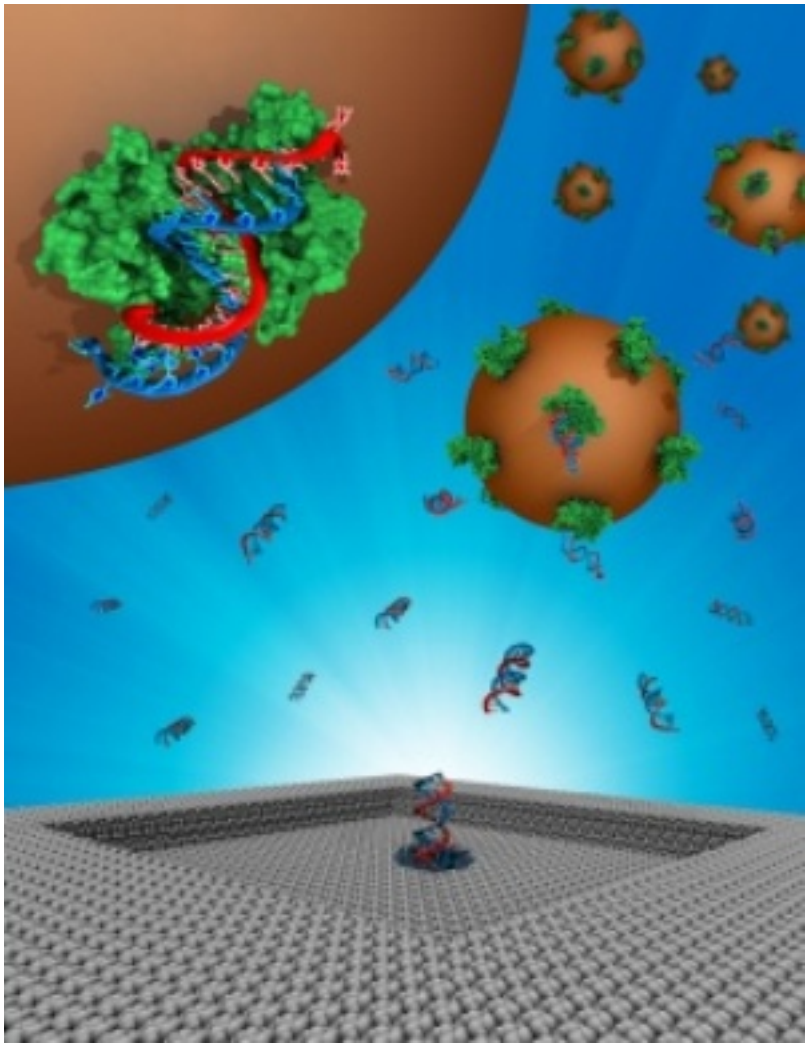

Зонд-микроРНК дуплексы перемещаются через тонкие нанопоры. *(Artwork: Robert Johnson)*

Ученые Университета Пенсильвании (University of Pennsylvania – Penn) разработал и новый электронный метод обнаружения микроРНК, выделенных из живых клеток. Молекулы микроРНК – это класс малых биомолекул, регулирующих экспрессию генов и синтез белков. Это – клетки-«рабочие». Взаимодействуя со специфическими матричными РНК, кодирующими белки, они, таким образом, подавляют белковый синтез.

МикроРНК (microRNA, или miRNA) были впервые обнаружены у круглых червей в 1993 году. С тех пор биологи установили, что микроРНК регулируют экспрессию генов, что сделало их объектом повышенного интереса со стороны ученых в качестве потенциальных терапевтических средств для подавления раковых и других связанных с развитием заболеваний генов.

Проблема обнаружения микроРНК заключается в том, что количество их копий в клетках очень невелико. Группа ученых из Университета Пенсильвании разработала метод получения нанопор в самых тонких на сегодняшний день мембранах из нитрида кремния толщиной около 6 нанометров.

Сначала ученые показали, что такие нанопоры усиливают разрешение сигнала при чтении молекул ДНК. После демонстрации повышенной чувствительности им был необходим метод выделения специфических микроРНК из клеток. Поэтому они объединились с группой, возглавляемой **Ларри МакРейнолдсом** (Larry McReynolds) из New England Biolabs.

Ларри и его сотрудники проделали ловкий трюк: сначала они гибридизировали целевые микроРНК с зондами, а затем для прочного связывания дуплексов зонд-микроРНК использовали вирусный белок p19. **Мени Вануну** (Meni Wanunu), научный сотрудник Penn, говорит: «Таким образом, мы разработали план, позволяющий использовать этот белок для выделения очень маленьких количеств специфических микроРНК, которые мы затем можем измерить с помощью наших пор».

Исследователи сосредоточили свое внимание на обнаружении miR122a, специфичной для печени млекопитающих.

Сначала они продемонстрировали, что их поры достаточно надежны для количественной оценки концентраций этих мельчайших молекул, длина которых составляет всего 22 нуклеотидных основания, или около 6 нанометров. Получив

ультратонкие мембраны локальным травлением нитрида кремния, ученые затем использовали электронные пучки для бурения нанопор.

«Такие дуплексные молекулы РНК могут только протиснуться сквозь поры диаметром 3 нанометра и в процессе этого выдают хороший электронный сигнал», - говорит Вануну. «Мы были очень довольны. Это самые маленькие синтетические поры, учитывая все измерения, и это просто удивительно, как они надежны и стабильны. Теперь мы используем их для различных исследований. Это наш новый технический уровень».

Таким образом, уменьшив толщину мембраны с нанопорами до 6 нанометров, ученые добились увеличения амплитуды сигнала от биомолекул, а сокращение диаметра нанопор до 3 нм позволило обнаруживать и различать малые нуклеиновые кислоты по их физическим размерам. Такой подход позволяет определять количество микроРНК на уровне пикограммов.

«Это замечательно, увидеть ожидаемое улучшение соотношения сигнал/шум с помощью таких тонких нанопор», – говорит **Мария Дрндич** (Marija Drndić), адъюнкт-профессор физики и руководитель группы проекта. «Несмотря на их размеры, они достаточно надежны и, кажется, функционируют многократно, так как не имеют тенденции к засорению гидрофобными загрязнителями, позволяя беспрепятственно проходить через себя. Все это делает их идеальными кандидатами для различных биофизических приложений».

Сейчас команда из Penn работает над специфическими методами обнаружения других малых молекул, а также над интеграцией своих нанопор в жидкостные системы для повышения их чувствительности.

По материалам

University of Pennsylvania Scientists Develop Method for Detecting MicroRNA From Living Cells

Аннотация к статье: Rapid electronic detection of probe-specific microRNAs using thin nanopore sensors