

Szerokie zainteresowanie tetrapleksową strukturą DNA (G-kwadrupleks, G4 DNA) obejmuje poszukiwania ligandów skutecznie stabilizujących kwadrupleksy do zastosowań w terapii antyrakowej oraz wykorzystanie G4 DNA jako elementu konstrukcyjnego w nanomaszynach molekularnych i inteligentnych sondach oligonukleotydowych do fluorescencyjnej detekcji białek oraz prostych jonów ( $K^+$ ) w układach biologicznych. Szczególnym zainteresowaniem cieszą się sondy fluorescencyjne czułe na jony potasowe, co wynika z roli jaką pełnią jony  $K^+$  w organizmie. Sondy fluorescencyjne stanowią zatem cenne narzędzie umożliwiające monitorowanie jonów potasu wewnątrz lub na zewnątrz komórki przy pomocy mikroskopu fluorescencyjnego. Takie informacje są nieocenione w procesie racjonalnego projektowania leków oraz do monitorowania skuteczności terapii.

W niniejszym projekcie podjęto próbę zbadania przydatności sond G-kwadrupleksowych do monitorowania jonów potasu w modelowym układzie naśladującym błonę komórkową, jakim jest membrana lipidowa na granicy faz woda/powietrze. W tym celu zaprojektowano i otrzymano grupę fluorescencyjnych sond oligonukleotydowych, różniących się sekwencją łańcucha, typem transdukcji sygnału fluorescencyjnego, jak i obecnością hydrofobowej grupy cholesterolowej. Podstawą działania tych układów sensorowych jest selektywne kompleksowanie jonów potasu przez znakowany oligonukleotyd, czemu towarzyszy utworzenie struktury czteroniciowej (kwadrupleks G4) a reorganizacja przestrzenna sondy skutkuje generacją sygnału fluorescencyjnego.

Uzyskano monowarstwę kationowego lipidu na granicy faz woda powietrze, zawierającą poszczególne sondy oligonukleotydowe i zbadano ich właściwości (koryto Langmuira). Skonstruowano i zoptymalizowano układ do rejestracji widm fluorescencji sond oligonukleotydowych w monowarstwie lipidowej na powierzchni subfazy wodnej i zarejestrowano widma fluorescencyjne badanych sond G-kwadrupleksowych – zbadano wpływ ciśnienia powierzchniowego monowarstwy oraz wpływ kationów sodu i potasu. Na podstawie uzyskanych rezultatów wyciągnięto następujące wnioski: (i) sondy są adsorbowane na powierzchni monowarstwy głównie w wyniku oddziaływań elektrostatycznych i w postaci zaadsorbowanej zachowują zdolność do tworzenia G-kwadrupleksów w obecności kationów metali, (ii) efektywność procesu FRET lub zdolność do tworzenia ekscymeru dla sond adsorbowanych na powierzchni monowarstwy zmniejsza się w porównaniu z roztworami wodnymi, (iii) wprowadzenie cholesterolowej grupy kotwicowej zwiększa powinowactwo sondy do adsorpcji na monowarstwie, ale parametry spektralne sondy uległy pogorszeniu, (iv) nie stwierdzono wyraźnych różnic w zachowaniu się sond ze względu na różnice w ich budowie, (v) sondy zawierające ugrupowanie cholesterolowe wydają się być korzystniejsze do pomiarów membranowych ze względu na ich wyższe powinowactwo do adsorpcji na powierzchni monowarstwy lipidowej.

