

Применение спектрофлуориметра ChronosDFD с цифровой обработкой сигнала в частотной области (ISS, США) в биохимических исследованиях.

Аннотация статьи:

STRAIN PROMOTED CLICK CHEMISTRY OF 2- OR 8-AZIDOPURINE AND 5-AZIDOPYRIMIDINE NUCLEOSIDES AND 8-AZIDOADENOSINE TRIPHOSPHATE WITH CYCLOOCTYNES

Jessica Zayas, Marie Annoual, Jayanta Kumar Das, Quentin Felty, Walter G. Gonzalez, Jaroslava Miksovska, Nima Sharifai, Akira Chiba, Stanislaw F. Wnuk. Bioconjug Chem., 2016, 26(8), 1519-32.

ПРОМОТИРУЕМЫЕ НАПРЯЖЕНИЕМ ЦИКЛА РЕАКЦИИ КЛИК-ХИМИИ 2- И 8-АЗИДОПУРИНОВЫХ И 5-АЗИДОПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ, 8-АЗИДОАДЕНОЗИНТРИФОСФАТА С ЦИКЛООКТИНАМИ

Всё больший интерес среди исследователей вызывают химические реакции, предназначенные для быстрого и надёжного получения химических веществ путём соединения между собой отдельных маленьких элементов, получившие общее название клик-химии. Исследователей интересует применение методов клик-химии в синтезе диагностически и терапевтически значимых соединений, структурно-функциональных исследованиях биополимеров и механизмов биохимических реакций, сборке биоконъюгатов, наноструктур и клеточных ассоциатов. Среди реакций клик-химии отдельно следует выделить реакции 1,3-диполярного азид-алкинового циклоприсоединения, промотируемых напряжением цикла при которых образуются замещённые триазолы. Эти реакции протекают в мягких физиологических условиях, и в отличие от других реакций клик-химии не требуют каких-либо дополнительных медных катализаторов или ультрафиолетового облучения. Интерес к реакциям азид-алкильного циклоприсоединения обусловлен тем, что они могут быть использованы для селективной модификации биологических макромолекул и живых клеток, в том числе для визуализации гликопротеинов клеточной поверхности.

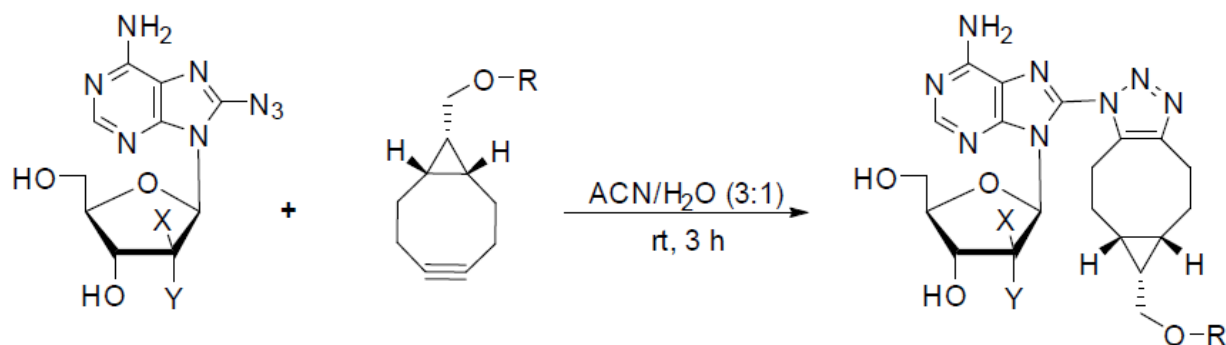


Рис. 1. Промотируемая напряжением цикла реакция клик-химии с участием 8-азидоаденозинов.

К настоящему времени проведены различные исследования, посвящённые получению биоконъюгатов путём реакции нуклеозидов, нуклеотидов и олигонуклеотидов, к которым присоединена алкильная группа, содержащая азидную группу, флуоресцентными красителями, сахарами и пептидами. Одной из таких работ, стало исследование, проведённое группой американских учёных под руководством Станислава Внука из Флоридского международного университета. В качестве исходных соединений были использованы 2- и 8-азидоаденозины, 8-азидоаденозинтрифосфат, а также 5-азидоуридин и 5-азидо-2'-уридин. В качестве алкилсодержащих соединений были использованы различные производные бициклононина.

Для изучения полученных соединений, учёные провели исследования флуоресцентных свойств полученных триазолов с помощью спектрофлуориметра ChronosDFD компании ISS. Отличием данного прибора является функция цифровой обработки сигналов в частотной области. Источником света являются лазерный диод и светодиоды, которые работают с установленной пользователем модуляцией частоты сигнала. Сигнал флуоресценции содержит основную частоту, повторяющую скорость работы лазера, и

гармонические сигналы, отстающие по фазе. Математическая обработка полученного сигнала позволяет определить амплитуду и отставание по фазе для каждого компонента. По разности фаз между флуоресценцией и возбуждением на заданной частоте и по отношению амплитуд происходит вычисление времени жизни флуоресценции. Данная технология позволяет с высокой точностью определять время затухания флуоресценции в диапазоне 10^{-12} — 1 с в широкой области длин волн.

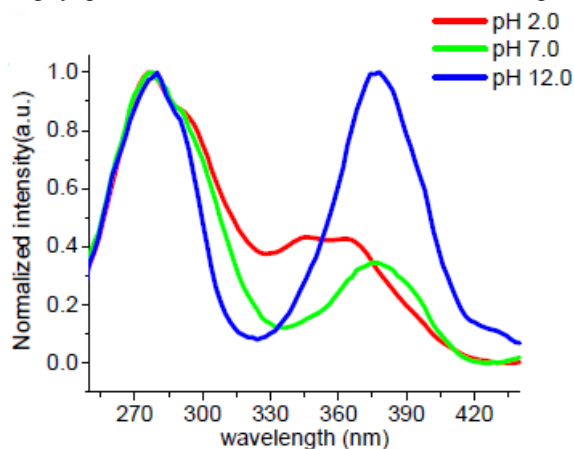


Рис. 2. Влияние pH на интенсивность флуоресценции продукта реакции 5-азидоуридина с бициклономимом.

Учёных интересовало определение флуоресцентных характеристик исследуемых ими соединений — время жизни флуоресценции, спектры поглощения и испускания, а также влияние на них различных факторов окружающей среды. Исследованные ими соединения были успешно использованы для флуоресцентной визуализации клеток опухолевой линии MCF-7. По мнению исследователей полученные ими триазольные соединения могут быть использованы для проведения динамических измерений и наблюдения за процессами внутри клетки.

Подготовил Алексей Шнитко
ООО «НКЦ «ЛАБТЕСТ»
тел.: +7 495 605 35 07
факс: +7 495 605 39 44
a.shnitko@lab-test.ru
www.lab-test.ru