

## **Förster-féle energiáttranszferre alkalmas festékpárok vizsgálata DNS oligomerek felhasználásával**

Munkám során célul tűztük ki, hogy a munkacsoportunkban előállított festékek közül Förster-féle rezonáns energiaátvitelre alkalmas párokat azonosítsunk. Festékkészletünkben tizenkettőt választottunk ki úgy, hogy a spektrum széles régióját lefedjék. A FRET-hatékonyság megállapításához, 17 bázispár hosszúságú egymással komplementer DNS oligomereket jelöltünk fluoreszcensen úgy, hogy a hibridizáció során az egymáshoz közelebbi végeken helyezkedjenek el a fluorofórok. Elsőként előállítottuk a 12 festékkel jelölt DNS oligomert és meghatároztuk spektrális tulajdonságaikat annak érdekében, hogy elméletileg alkalmas FRET párokat képezhessünk belőlük. A lehetséges 121 festékpárból első megközelítésben 48 pár tűnt ígéretesnek. Ezek körét tovább szűkítettük úgy, hogy szelektáltuk azokat, amelyeknél 20%-nál kisebb volt a donor emissziós és az akceptor gerjesztési spektruma közötti átfedés. További kizáró tényező volt, ha túl nagy volt a cross-talk vagy a bleed-through. Ezen válogatás eredményeképpen 27 festékpárt teszteltünk FRET-hatékonyság szempontjából. Ennek érdekében előállítottunk 19 oligomert, 10 donor és 9 akceptor molekulával. A FRET titrálások során a donor koncentrációját állandó értéken tartva az akceptor folyamatos adagolásával monitoroztuk a fluoreszcencia-intenzitások változását, és számoltunk belőlük hatékonyságot. A célkitűzésben három elvárást fogalmaztunk meg: legyen hatékony a FRET a donor fluoreszcencia intenzitás csökkenését illetően, egyidejűleg növekedjen számottevően az akceptor fluoreszcencia intenzitása is, ezen felül, a -biológiai minták esetében- hátrányos autofluoreszcencia elkerülése érdekében olyan donorokat preferáltunk, melyeknek donor gerjesztési hullámhossza a magasabb tartományokra esik. Olyan festékpárt nem találtunk mely egyszerre teljesítette mindhárom elvárásunkat, ezt elsősorban az hiúsította meg, hogy nem tapasztaltunk jelentős mértékű akceptor-jel-növekedést, de a különböző műszerek eltérő érzékenysége miatt nem kizárt, hogy a jelentős FRET-hatékonysággal bíró festékpárok között lesz olyan, amelynél mikroszkópos alkalmazásban az akceptor jól detektálható jelet ad. A donor csökkenésre kapott maximális FRET-hatékonyságok közül sok megközelíti vagy meghaladja a publikációban mért (72%) referencia-értékeket.