IBG UFRC RAS

BIOMICS

ISSN 2221-6197 http://biomicsj.ru

Энхансеры ПЦР. V. Наноматериалы или наноПЦР

[1]А.Р. Сахабутдинова, [2]Д.А. Чемерис, [1]Р.Р. Гарафутдинов*

[1]Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия,
[2]ООО «ГЕНВЕД», Москва, Россия
*E-mail: garafutdinovr@mail.ru

Резюме

Несмотря на кажущуюся простоту ПЦР с двумя праймерами, экспериментаторы нередко сталкиваются с тем, что даже хорошо подобранные праймеры не обеспечивают получение желаемого результата. Это может происходить в силу множества причин. Одной из них является амплификация так называемых «трудных» матриц, к которым относятся ДНК-мишени с высоким GC-составом, обусловливающим образование прочных вторичных структур, которые ДНК-полимераза не всегда способна преодолеть, а также чрезмерно протяженные ДНК-мишени, с которых ДНК-полимераза не способна синтезировать ампликоны в случае ее низкой процессивности. Помимо перечисленных, иногда имеет место ингибирование ДНК-полимеразы из-за присутствующих в реакционной смеси веществ, обычно вносимых вместе с анализируемым препаратом ДНК, мешающих полноценной работе фермента. Для преодоления этих трудностей в реакционную смесь добавляют дополнительные компоненты, или ПЦР-энхансеры. Таковыми могут выступать различные наноматериалы и нанокомпозитные субстанции, использование которых привело к появлению так называемой наноПЦР. Наиболее популярными добавками служат наночастицы золота, в том числе покрытые различными соединениями, меняющими их поверхностный заряд. Довольно широкое применение в наноПЦР находят наночастицы некоторых других металлов, их оксидов и сульфидов. Также используются материалы на основе углерода: графен, оксид графена, восстановленный оксид графена, алмазные наночастицы, углеродные нанотрубки, углеродный нанопорошок. Были попытки применения и фуллерена, но он лишь ингибировал реакцию. Помимо этих наноструктурированных соединений нередко применяются квантовые точки разного диаметра и состава. Механизмы действия разных наноматериалов в наноПЦР отличаются, но можно выделить ключевые: сорбция на поверхности наночастиц ДНК, праймеров и ДНК-полимеразы, а также увеличение теплопроводности раствора. При этом лишь незначительное превышение оптимальных концентраций таких энхансеров способно приводить к ингибированию амплификации.

Ключевые слова: ПЦР, наноПЦР, энхансер, наноматериалы

Цитирование: Сахабутдинова А.Р., Чемерис Д.А., Гарафутдинов Р.Р. Энхансеры ПЦР. V. Наноматериалы или наноПЦР. *Biomics*. 2025. 17(2). 193-205. doi: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-15

© **Авторы,** А.Р. Сахабутдинова, Д.А. Чемерис, Р.Р. Гарафутдинов, 2025

Enhancers of PCR. V. Nanomaterials or nanoPCR

[1]A.R. Sakhabutdinova, [2]D.A. Chemeris, [1]R.R. Garafutdinov*

[1]Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Russia, Ufa
[2]GENVED LLC, Moscow, Russia
*E-mail: garafutdinovr@mail.ru

Resume

Despite the apparent ease of conducting PCR with a pair of primers, experimenters often encounter the fact that even well-chosen primers do not provide the desired result, which can occur for many reasons. These include the amplification of so-called "difficult" templates, which include those with a high GC composition of the amplified DNA region, which causes the formation (after the denaturation stage) of strong secondary structures in single-stranded DNA, which DNA polymerase is sometimes unable to overcome at the elongation stage, as well as an excessively large length of amplicons with low processivity of enzyme. In addition, DNA polymerase is sometimes inhibited due to certain substances present in the reaction mixture (usually added together with the analyzed DNA preparation) and interfering with the full functioning of this enzyme. To overcome these difficulties, it is proposed to add in the reaction mixture additional components or enhancers, which may include various nanomaterials and nanocomposite substances, which led to the appearance of the so-called nanoPCR. Among them the most popular additives are gold nanoparticles, including those coated with various compounds that change their surface charge. Nanoparticles of some metals or their oxides or sulfides are also widely used in nanoPCR. Various allotropic forms of carbon are also used – graphene, graphene oxide, reduced graphene oxide, diamond nanoparticles, carbon nanotubes, carbon nanopowder. There were attempts to use fullerene, but it only inhibited the reaction. In addition to these nanocompounds, various quantum dots of different diameters and compositions, as well as some other nanoscale substances, are often used. The mechanisms of action in nanoPCR of these nanocompounds differ, primarily due to different structures, but several types can be distinguished in the form of sorption on their surfaces of both single-stranded DNA and DNA polymerase, as well as an increase in the thermal conductivity of the solution. At the same time, only a slight excess of the optimal concentrations of such enhancers can lead to inhibition of the amplification process.

Keywords: PCR, nanoPCR, enhancer, nanomaterials

Citation: Sakhabutdinova A.R., Chemeris D.A., Garafutdinov R.R. Enhancers of PCR. V. Nanomaterials or nanoPCR. *Biomics*. 2025. 17(2). 193-205. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-15

© The Authors, A.R. Sakhabutdinova, D.A. Chemeris, R.R. Garafutdinov, 2025

Введение

В недавней статье [Сахабутдинова и др., 2023], предваряющей рассмотрение усилителей ПЦР, приведен перечень различных веществ, среди которых под пунктом 10 указаны некоторые наноматериалы, хотя с ними не все однозначно. При этом вклад ряда наноматериалов и нанокомпозитов в протекание ПЦР отрицать нельзя, и даже появилась новая аббревиатура «наноПЦР». В литературе имеется несколько обзорных публикаций, в том числе последних лет, посвященных этому варианту ПЦР и использованию различных наноматериалов для улучшения амплификации, включая специфичность, чувствительность и эффективность этой реакции [Pan et al., 2012; Yuce et al., 2014; Shamsian et al., 2025], в том числе находящих применение для криминалистических целей [Vajpayee et al., 2025]. В одной из этих статей имеющиеся сведения по используемым наноматериалам и по применению наноПЦР с указанием типов нановеществ и их размеров, а также размеров получающихся ампликонов и прочей информации, авторы свели в две большие таблицы, дающих довольно полное представление об этих способах амплификации [Shamsian et al., 2025].

Однако стоит еще раз обратиться к этой теме, поскольку ряд наноразмерных соединений в этих обзорах были оставлены без внимания. К тому же требуется проведение более критического рассмотрения наноПЦР по причине подчас противоречивых сведений, приводимых в работах разных авторов. Так, поскольку в названии данной статьи, кроме посвящения ее энхансерам (отвечающим в первую очередь за амплификацию так называемых «трудных» матриц, т.е. с высоким GC-составом либо имеющих увеличенную длину), фигурирует и «наноПЦР», то следует коснуться и негативного воздействия некоторых наноматералов на амплификацию ДНК. При этом нужно иметь в виду, что превышение определенного оптимума концентрации добавляемых в ПЦР любых, даже стандартных ингредиентов, будет приводить к ухудшению протекания реакции вплоть до полного ее прекращения или к появлению «неспецифики», но для наноматериалов такой диапазон, от нулевого эффекта до отрицательного, как правило, намного меньше.

В данной статье наноматериалы, используемые в ПЦР в качестве добавок и описанные преимущественно в работах методического плана, для отдельных групп соединений, объединенных по

схожести их природы, будут рассматриваться в хронологическом порядке для того, чтобы отразить развитие исследований в этой области. Будет уделено внимание некоторым примерам использования наноПЦР в практических целях. При этом детальное описание самих наноматериалов и способов их изготовления останутся без внимания, поскольку это составляет тему отдельной публикации. Также не будут охвачены вниманием статьи, в которых наноматериалы использовались на предамплификационном этапе для экстракции нуклеиновых кислот, а также на постамплификационном этапе для улучшения детекции ампликонов, в том числе ведущие к повышению чувствительности ПЦР, но не являющиеся энхансерами самой реакции. За пределами рассмотрения останутся и варианты микрофлуидной ПЦР, где ускоренный нагрев реакционной смеси производился воздействием подходящего лазера на наночастицы, поскольку это имеет отношение в первую очередь к способам термоциклирования.

Углеродные нанотрубки

Впервые наноматериал в виде одностенных углеродных трубок был использован в ПЦР в 2004 г. [Cui et al., 2004]. Авторы отметили незначительное увеличение наработки целевого продукта размером 410 п.н. с обычным GC-составом, однако при увеличении концентрации нанотрубок свыше 3 мкг/мкл эффект исчезал. Использование различных вариантов электронной микроскопии для анализа продуктов реакции показали адгезию к нанотрубкам цепей ДНК, которые даже оборачивались вокруг них. В другой работе в ПЦР добавляли как одностенные, так и многостенные углеродные нанотрубки, в том числе функционализированные карбоксильными группами [Yi et al., 2007]. Размер ампликона в том исследовании составил 200 п.н. и было отмечено ингибирование амплификации в присутствии разных типов нанотрубок. В еще одной статье описано влияние на ПЦР 10 разных вариантов одно- и многостенных нанотрубок, в том числе несущих различные функциональные группы; 6 из них показали положительный эффект [Zhang et al., 2008]. При этом размер ампликона превышал 14 т.п.н., однако было отмечено, что добавление трегалозы как энхансера позволило увеличить концентрацию нанотрубок, не вызывая ингибирования ПЦР. Ранее этими же авторами было опробовано применение в наноПЦР углеродного нанопорошка с размерами частиц 30 нм и выше и при этом обнаружено, что для амплификации длинных матриц с размерами 12839 и 14395 п.н., принадлежащих фагу лямбда, высокая специфичность процесса зависела от концентрации нанопорошка в реакционной смеси. При этом в ряде экспериментов ими использовался другой известный энхансер – бетаин, а еще одной мишенью служил иной фрагмент фага лямбды размером всего 584 п.н. Анализ продуктов амплификации проводился в этой работе не только с помощью гель-электрофореза, но и атомно-силовой микроскопией, показавшей адгезию ДНК к углеродному нанопорошку.

Спустя несколько лет вышла статья, в которой авторы заявили об улучшении эффективности и повышении специфичности ПЦР при амплификации фрагмента фага лямбда размером 283 п.н. при использовании многостенных нанотрубок, модифицированных полиэтиленимином [Cao et al., 2011]. При этом эффект проявляли только положительно заряженные трубки, тогда как трубки с нейтральным зарядом из-за присутствия ацетата его не оказывали.

Использование одностенных углеродных нанотрубок в концентрации выше 1 мг/мл при амплификации короткого фрагмента ДНК длиной 76 п.н. продемонстрировало игнгибирование наноПЦР [Williams et al., 2014]. В том же году вышел еще ряд статей, посвященных исследованию влиянию на ПЦР углеродных нанотрубок. Так, в одной работе было обнаружено, что на примере амплификации фрагмента ДНК фага лямбда размером 549 п.н. одно- и многостенные нанотрубки способны влиять на специфичность ПЦР при множественных повторных реамплификациях [Du et al., 2014]. Другие авторы использовали многостенные аминомодифицированные нанотрубки, а также трубки, связанные с магнитными частицами, при этом явного улучшения амплификации не прослеживалось [Yuce, Budak, 2014]. Стоит заметить, что в этой работе мишенями служили синтетические последовательности длиной 96 п.н. (или по другим данным в этой же статье - 94 п.н.), содержащие фланкирующие участки для отжига праймеров и центральный участок длиной 50 п.н. с рандомизированными последовательностями, в которых четыре азотистых основания были представлены в соотношении, близком к 1:1:1:1, то есть имели приблизительно 50% GC-пар, что свидетельствует о том, что к трудным матрицам их вряд ли можно отнести. Схожую работу эти авторы опубликовали в следующем году с ампликоном длиной 94 п.н. [Yuce et al., 2015].

Наночастицы золота

О проведении ПЦР в присутствии наночастиц золота впервые было сообщено в 2005 г. [Li et al., 2005]. Тогда было показано увеличение специфичности амплификации фрагмента ДНК фага лямбда размером 283 п.н. в присутствии 10 нм золотых частиц в концентрации 0.4 нМ, выразившееся в исключении появления неспецифических

ампликонов. При этом увеличение концентрации нанозолота до 1 нМ вело к снижению эффективности наработки целевого продукта при сохранении высокой специфичности. Авторы предположили, что наночастицы золота оказывают действие, аналогичное SSB-белку, связывающемуся с одноцепочечной ДНК, тем не менее, заключив, что механизм воздействия нанозолота на ПЦР требует дальнейшего изучения. Позднее этими же авторами исследовано сохранение специфичности наноПЦР в ходе многочисленных реамплификаций той же матрицы размером 283 п.н., отметив, что вместо вложенной ПЦР с двумя парами праймеров можно использовать одну пару вместе с нанозолотом [Pan et al., 2007].

Осенью 2005 г. вышла еще одна статья, в которой было показано усиление эффективности ПЦР благодаря добавлению в реакционную смесь в концентрации 0.7 нМ золотых наночастиц размером 13 нм и детекции различных целевых ампликонов размерами от 173 до 1236 п.н. [Li et al., 2005a]. При этом чувствительность выросла в 5-10 раз для обычной ПЦР и на четыре порядка для ПЦР в реальном времени с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I. Испытывались несколько термостабильных производных ДНК-полимеразы Taq, и все показали схожие результаты.

В последующих работах больше внимания стали уделять механизму воздействия нанозолота на протекание ПЦР, в том числе рассматривая их взаимодействие с ДНК-полимеразой [Mi et al., 2007], а также принимая во внимание размер наночастиц [Wan, Yeow, 2009]. Так, в последней работе было показано, что наночастицы золота размерами 5 нм, 10 нм и 20 нм оказывают разное влияние, причем больший размер наночастиц вызывал более заметное ингибирование амплификации ввиду связывания полимеразы. Другими авторами было показано, что наночастицы золота способствуют амплификации коротких фрагментов ДНК [Vu et al, 2008].

Было сделано предположение о трех основных типах взаимодействия нанозолота с компонентами реакционной смеси в ПЦР: 1) наночастицы золота сорбируют на себе ДНК-полимеразу за счет присутствия в ней серосодержащих аминокислот, частично исключая ее из процесса амплификации; 2) наночастицы золота влияют на отжиг полностью и неполностью спаренных праймеров, увеличивая различия в температурах их отжига; 3) наночастицы золота способствуют плавлению двуцепоченых продуктов на стадии денатурации [Lou, Zhang, 2013].

На причины увеличения специфичности и эффективности ПЦР с нанозолотом указали и другие авторы, заключившие, что, помимо улучшения диссоциации двуцепочечной ДНК, оно ведет себя подобно SSB-белку и к тому же ускоряет процессы смены температур [Lin et al., 2013]. С их последним утверждением не согласились в работе [Mandal et al., 2013], авторы которой сочли, что наибольший вклад вносят поверхностные взаимодействия наночастиц золота с компонентами реакции, в первую очередь с ДНК-полимеразой.

Были изготовлены наночастицы золота, заключенные в оболочку из полидиметиламмония, показавшие усиление специфичности и повышение эффективности наноПЦР, но при этом было обнаружено, что обеспечиваемые разными модификациями поверхностные заряды (нейтральный, положительный, отрицательный) оказывают заметное влияние на эти процессы, причем наиболее перспективным сочли положительный заряд [Yuan, He, 2013]. Ранее было показано, что гибридные нанокомпозиты из частиц золота, стабилизированные разветвленным полиэтиленамином, способны улучшать специфичность и эффективность наноПЦР в меньших концентрациях по сравнению с полиэтиленамином [Tong et al., 2012].

Довольно обстоятельное исследование влияния наночастиц золота диаметром 16 нм, в том числе функционализированных разными добавками, меняющими заряд их поверхности, выполнено отечественными авторами [Vanzha et al., 2016]. Оптимальной концентрацией была определена 0.4 нМ, но при этом отмечалось и полное ингибирование амплификации при увеличении концентрации нанозолота. Помимо сферических наночастиц ими испытаны и наночастицы золота палочкообразной формы. Эти авторы указали также на роль наночастиц золота в повышении температурной проводимости раствора и сравнили пространство вокруг данных наночастиц с неким «нанореактором», формирующим локальные условия среды. Ранее другими авторами была проведена симуляция протекания ПЦР в присутствии наночастиц золота, посчитав, что они служат неким биореактором, собирая на себе разные компоненты реакционной смеси [Chen et al., 2009].

Был предложен новый класс энхансеров наноПЦР, представлявших собой «пойманные» в дендримерную ловушку золотые наночастицы (обозначены как Au DENPS), причем аминированные дендримеры G_5NH_2 оказались еще более эффективными в улучшении амплификации, в том числе благодаря лучшей теплопроводности реакционной смеси [Chen et al., 2012; Cao et al., 2012].

К сожалению, во всех этих модельных экспериментах амплификация «трудных» матриц не проводилась. Однако имеются публикации, непосредственно нацеленные на проведение ПЦР с GC-богатыми матрицами в присутствии наночастиц

золота или их модификаций. Так, в одной работе основной мишенью служил фрагмент гена человека *GNAS1* размером ≈250 п.н. и с GC-составом около 84% [Yang et al., 2013]. Помимо него еще велась амплификация других мишеней с GC-составом от 67 до 80%. Было показано увеличение специфичности амплификации целевого продукта в присутствии наночастиц золота как с Pfu полимеразой, так и с Taq полимеразой. Другая статья описывает улучшение амплификации фрагмента геномной ДНК человека размером 264 п.н., имеющего 74% GC-состав, с использованием наночастиц золота, модифицированных полиэтиленгликолем и заключенных в оболочку из полиэтиленимина [Li et al., 2016].

В недавней статье, описывающей влияние наночастиц золота диаметром около 60 нм на проведение ПЦР, авторы обнаружили странный эффект усиления амплификации только в случае наличия в праймерных последовательностях палиндромных GC-богатых участков GGATCC и ACCGGT, причем первый палиндром располагался непосредственно на 3'-конце праймера[1] [Zeng et al., 2024].

Завершая данный раздел, нужно коснуться работ, в которых амплификация велась в режиме реального времени. Выше уже упоминалась одна из первых работ по наноПЦР, в которой было применено нанозолото, и тогда было отмечено увеличение чувствительности на четыре порядка [Li et al., 2005a]. В этой связи стоит упомянуть статью других авторов, где было показано, что при использовании в ПЦР 12±2 нм наночастиц золота в концентрации 0.9 нМ с SYBR Green I против их ожидания они столкнулись с эффектом гашения флуоресценции этого красителя [Haber et al., 2008]. Еще одни авторы сообщили, что им не удалось выявить улучшений при проведении ПЦР в реальном времени в присутствии наночастиц золота [Yang et al., 2008]. При проведении наноПЦР в реальном времени с использованием в качестве гибридизационного зонда системы Taqman-MGB в присутствии золотых наночастиц удалось детектировать однонуклеотидные замены в исследуемой мишени [Xue et al., 2021].

Прочие металлы, их оксиды и сульфиды

Использование аминомодифицированной «четырехногой» игольчатой наноструктуры ZnO в ПЦР привело к увеличению накопления целевого ампликона, но при этом авторы отметили, что причины этого неясны [Nie et al., 2007]. Иная структура ZnO в виде «наноцветка» также показала значительное усиление наноПЦР [Upadhyay et al., 2020].

Первые попытки использовать двуокись титана в ПЦР обернулись обнаружением ингибирования реакции, причем эффект был концентрационно зависимым из-за сорбции на этом нановеществе компонентов, которые авторы расположили в следующей последовательности: праймер > матрица > ДНК-полимераза [Li et al., 2008]. В другой работе исследовали эффект от наночастиц серебра и того же TiO_2, и при этом было обнаружено, что ингибирующий эффект для серебра возникал при концентрации 30 мкг/мл, тогда как двуокись титана проявляла даже более сильное ингибирование уже при концентрации 0,8 мкг/мл [Wan et al., 2009]. При этом было отмечено, что комбинация этих наночастиц в определенных соотношениях способна снизить ингибирующий эффект.

Позже продемонстрировано, что наночастицы TiO_2 диаметром 25 нм в концентрации 0.4 нМ повышают эффективность ПЦР благодаря лучшей теплопередаче в растворе, в том числе для GC-богатых матриц, одной из которых служила мишень длиной 1035 п.н. с 60% GC-пар [Abdul Khaliq et al., 2010]. Также было показано, что наночастицы TiO_2 меньшего диаметра (7 нм) в концентрации 0.2 нМ увеличивают выход целевого продукта в обычной ПЦР в 3-4 раза, но не способны улучшить обратно-транскрипционную ПЦР и ПЦР в реальном времени [Lenka, Weng, 2013].

В одной из работ исследовалось влияние на наноПЦР 16 различных металлических и неметаллических наноматериалов [Shen et al., 2009]. Ими послужили наночастицы золота (5 и 10 нм), платины (1 нм), серебра (1 и 20 нм), нанопорошки рения, платины, серебра, серебра-меди, рутения, тантала, диоксида титана, серебра-платины, углеродный нанопорошок, одно- и многостенные углеродные нанотрубки. Мишенью служил фрагмент ДНК фага лямбда размером около 14 т.п.н. Наибольшее увеличение эффективности амплификации отмечено для наночастиц платины, серебра-меди, золота (10 нм) и тантала. При этом нормализация результатов велась относительно наработки ампликонов с двуокисью титана.

В модельных экспериментах по детекции в аэрозолях бактерий *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis* в присутствии наночастиц серебра, а также диоксида титана и их комбинаций достигнуто увеличение чувствительности наноПЦР в 500 раз [Xu, Yao, 2013].

При использовании в ПЦР покрытых аммониевой солью олеиновой кислоты наночастиц магнетита (Fe_3O_4) размером 33 нм обнаружено, что

[1] что на самом деле абсолютно недопустимо, и мы уже неоднократно обращали на это внимание [Чемерис и др. (Chemeris et al.), 2012; Гарафутдинов и др. (Garafutdinov et al.), 2019]

эффективность амплификации с ними превышала таковую со стабилизированными цитратом 25 нм частицами серебра и 19 нм наночастицами золота [Kambli, Kelkar-Mane, 2016]. В качестве объяснений авторы предположили, что помимо теплопроводности, эффект оказывает интенсивная адсорбция компонентов ПЦР на наночастицах магнетита. Здесь нужно заметить, что другими авторами отмечено ингибирование ПЦР наночастицами магнетита [Aysan et al., 2017].

Отдельного внимания заслуживает работа, в которой наночастицы платины размером около 2 нм в качестве гостевой молекулы заключались в тороидальную полость водорастворимого β-циклодекстрина и при их добавлении в реакционную смесь усиливали теплопроводность, и тем самым повышалась эффективность наноПЦР [Petralia et al., 2012]. Такое же объяснение улучшения наноПЦР за счет улучшенной теплопередачи предложили другие авторы для наночастиц серебра размером около 50 нм [Hemanta, Varsha, 2014]. При замене в реакционной смеси хлорида магния на наночастицы MgO было отмечено улучшение (ускорение) протекания ПЦР [Narang et al., 2016]. Недавно аналогичное увеличение чувствительности ПЦР (в 13 раз) было отмечено при заменена хлористого магния на наночастицы оксида магния при детекции в наноПЦР вируса скручивания листьев у томата [Devika et al., 2024]. Использование наночастиц оксида цинка, серебра, золота и некоторых их комбинаций в наноПЦР в том числе при проведении RAPD-анализа показало улучшение процесса амплификации [Al-Dhabaan et al., 2018].

Наночастицы CuO, Al_2O_3, а также оксида графена, примененные при детекции патогенных амеб, привели к ускорению амплификации мишеней размерами 177, 950 и 1075 п.н. и были определены оптимальные концентрации этих наносоединений (CuO, Al_2O_3, оксид графена), составившие 0.4; 0.04 и 0.4 мкг/мл соответственно [Gabriel et al., 2018].

При использовании в качестве энхансера дисульфида вольфрама обнаружено его превосходство в этом плане над имеющим в целом схожую планарную структуру оксидом графена, увеличивая как специфичность, так и эффективность процесса, в том числе при сниженной температуре отжига праймеров в большом диапазоне концентраций от 0.5 до 50 мкг/мл и амплификации фрагмента ДНК длиной 291 п.н. [Zhang et al., 2019]. Также имеющие планарную структуру наночастицы нитрида бора обеспечили ускорение процесса амплификации и 20-ти кратное увеличение наработки целевого продукта, в том числе при сниженной температуре отжига праймеров [Rasheed et al., 2020].

Усиление амплификации фрагмента фага лямбда размером 283 п.н. в наноПЦР было показано благодаря использованию металл-органических структур UiO-66 и ZIF-8, в том числе при реамплификации [Sun et al., 2019].

Квантовые точки

Растущий интерес к квантовым точкам как источникам флуоресцентного сигнала способствовал также их применению в качестве энхансеров ПЦР. Впервые об этом сообщалось в 2009 г., когда модифицированные тиогликолевой кислотой квантовые точки CdTe с диаметром 2-10 нм увеличили специфичность ПЦР при разных температурах [Wang et al., 2009]. Мишенями служили фрагменты ДНК размерами от 297 до 8000 п.н. В этой же работе исследовалось влияние на ПЦР наночастиц золота диаметром 13 нм, показавшее с ростом их концентрации снижение наработки целевого ампликона размером 297 п.н. при одновременном увеличении специфичности процесса амплификации.

Покрытые меркаптоуксусной кислотой или стрептавидином квантовые точки CdSe диаметром около 4 нм позволили сохранить специфичность амплификации фрагмента ДНК длиной 120 п.н., в том числе даже при резко сниженной температуре отжига праймеров [Ma et al., 2009]. При этом сама по себе меркаптоуксусная кислота подобного эффекта не оказывала. В другой работе квантовые точки CdTe диаметром около 4 нм при повторных реамплификациях фрагмента ДНК пшеницы размером 310 п.н. поддерживали специфичность реакции [Liang et al., 2011]. Аналогично, квантовые точки CdTe позволили сохранить специфичность реамплификации с использованием Pfu полимеразы, чего нельзя было сказать про Taq полимеразу [Sang et al., 2015]. Ранее эти авторы отметили ускорение протекания наноПЦР с Pfu полимеразой в присутствии CdTe квантовых точек, завершавшейся в три раза быстрее - за 46 мин вместо обычных 143 мин [Fuming et al., 2013]. Также они показали пригодность CdTe квантовых точек в реал-тайм ПЦР с красителем EvaGreen [Sang et al., 2013] и как альтернативу горячем старту [Sang et al., 2014].

Использование квантовых точек CdSe/ZnS, покрытых амфифильным сополимером, вело к некоторому ингибированию амплификации, которое, впрочем, могло быть купировано увеличением концентрации Ex Taq ДНК полимеразы [Xun et al., 2013]. Было показано, что выход целевого GC-богатого ампликона длиной 80 п.н. усиливается при использовании графеновых квантовых точек, в первую очередь за счет их взаимодействия с праймерами [Zhu et al., 2015].

Графен, его производные и прочие углеродные наноматериалы

Спустя несколько лет после повторного открытия графена, его многослойные нанохлопья толщиной около 8 нм были использованы в наноПЦР в качестве энхансера [Abdul Khaliq et al., 2012]. При этом авторы отметили, что эквивалентное количество амплифицируемой ДНК нарабатывается за уменьшенное на 65% число циклов по сравнению с обычной ПЦР, при этом обратив внимание, что слишком высокая концентрация графеновых нанохлопьев вызывает ингибирование реакции. В том же году в качестве энхансера для ПЦР был испытан графен оксид (GO) и восстановленный графен оксид (RGO) [Jia et al., 2012]. При повторных амплификациях 300 п.н. фрагмента ДНК RGO зарекомендовал себя лучше, чем GO, поскольку первый имел меньше нарушений в гексагональной графеновой решетке и имел лучшую аффинность к одноцепочечной ДНК. Причем проведенное секвенирование ампликона длиной 794 п.н., наработанного в присутствии RGO, подтвердило качество (точность) амплификации целевого продукта.

Другие авторы вместе с оксидом графена добавляли в реакционную смесь наночастицы золота, создав нанокомпозит Au/GO, и отметили их совместный эффект, превосходящий таковой для этих веществ по отдельности [Jeong et al., 2015]. Привитый к оксиду графена полиэтиленгликоль способствовал усилению наноПЦР, поскольку, по мнению авторов, уменьшал неспецифический отжиг праймеров, выступая аналогично SSB-белку, и не ингибировал ДНК полимеразу [Kim et al., 2016]. Целый ряд модификаций оксида графена в качестве энхансеров наноПЦР показал определенные отличия в эффективности [Zhong et al., 2016]. Так, оксиды графена с отрицательно заряженной полиакриловой кислотой (PAA), положительно заряженным полиакриламидом (PAM), нейтральным полиэтиленгликолем (PEG), цвиттер-ионом поли(сульфобетаином) (pSB) выстроились в следующий ряд по их усилению специфичности ПЦР: GO-PAA< GO-PAM < GO-PEG < GO-pSB. При этом авторы обратили внимание, что RGO за счет более совершенной поверхности прочнее связывается с Pfu полимеразой, несущей в своем составе 84 остатка ароматических аминокислот.

Улучшение наноПЦР с помощью оксида графена было также приписано его взаимодействию с комплексом матрица/праймер [Wang et al., 2017]. В этой же работе на примере фрагмента ДНК фага лямбда длиной 283 п.н. и отличающихся праймеров к нему предположили роль оксида графена в супрессии амплификации с не полностью спаренными праймерами. Относительно недавно было сообщено, что присутствие в реакционной смеси оксида графена с привитым полиэтиленгликолем в значительной степени улучшало как специфичность, так и эффективность наноПЦР за счет адсорбции одноцепочечной ДНК [Chauhan et al., 2023].

Углерод в виде алмаза также использовался при проведении ПЦР [Madadelahi et al., 2019]. Было обнаружено, что наночастицы алмаза диметром около 10 нм в концентрации 0.4 нМ в 2-5 раз улучшают наработку целевого ампликона. В этой же работе проводилось сравнение улучшения ПЦР для алмазных наночастиц с наночастицами такого же размера из двуокиси титана, и эффект оказался схожим.

Справедливости ради следует заметить, что в одной из работ было обнаружено, что в результате проведения наноПЦР в присутствии оксида графена с ДНК, выделенной из восьми видов бактерий и грибов, после секвенирования ампликонов генов 16S рРНК и внутренних транскрибируемых спейсеров выявились химерные последовательности в виде перестановок отдельных участков в них, и авторы отнесли эти ошибки амплификации на счет оксида графена [Li et al., 2020], хотя ранее другими авторами подобных нарушений при секвенировании ампликонов выявлено не было [Jia et al., 2012].

Использовали в качестве компонентов реакционной смеси в ПЦР и иные углеродные наноматериалы. Так, в ряде работ испытывали влияние фуллерена, но было обнаружено, что он только ингибировал протекание данной реакции, видимо, взаимодействуя с термостабильной ДНК полимеразой, а также связываясь с мишенью [Meng et al., 2007; Yang et al., 2008]. Позже к аналогичному выводу на основе компьютерной симуляции пришли и другие авторы [Nedumpully Govindan et al., 2012].

Заключение

Как можно видеть из изложенного выше, наноПЦР как вариант ПЦР имеет право на существование, обеспечивая во многих случаях усиление амплификации. Однако при незначительных изменениях концентрации тех или иных наночастиц или нанокомпозитов, от усиления реакции до ее ингибирования подчас совсем небольшая «дистанция». Да и доказательств амплификации трудных матриц (длинных, GC-богатых) в присутствии различных наночастиц не так пока много. Тем не менее, определенный потенциал их применения есть, и его нужно использовать при необходимости. При этом пока наиболее активно на практике используются наночастицы золота, но даже их потенциал не полностью раскрыт.

Литература

1. Гарафутдинов Р.Р., Баймиев Ан.Х., Малеев Г.В. и др. Разнообразие праймеров для ПЦР и принципы их подбора. *Biomics*. 2019. 11(1). 23-70. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-04
2. Сахабутдинова А.Р. Чемерис Д.А., Чемерис А.В. и др. Энхансеры ПЦР. I. Общие сведения. *Biomics*. 2023. Т.15(3). С.218-223. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-20
3. Чемерис А.В., Магданов Э.Г., Гарафутдинов Р.Р. и др. Как исключить появление ложно-позитивных результатов при проведении полимеразной цепной реакции? *Вестн. биотехнол. физ.-хим. биол*. 2012. 8(3). 34-45.
4. Abdul Khaliq R, Kafafy R, Salleh HM et al. Enhancing the efficiency of polymerase chain reaction using graphene nanoflakes. *Nanotechnology*. 2012. 23(45). 455106. doi: 10.1088/0957-4484/23/45/455106
5. Abdul Khaliq R, Sonawane PJ, Sasi BK et al. Enhancement in the efficiency of polymerase chain reaction by TiO2 nanoparticles: crucial role of enhanced thermal conductivity. *Nanotechnology*. 2010. 21(25). 255704. doi: 10.1088/0957-4484/21/25/255704
6. Al-Dhabaan FA, Yousef H, Shoala T et al. Enhancement of fungal DNA templates and PCR amplification yield by three types of nanoparticles. *J. Plant Protection Research*. 2018. 58(1). 66-72. doi: 10.24425/119119.
7. Aysan AB, Knejzlík Z, Ulbrich P et al. Effect of surface functionalisation on the interaction of iron oxide nanoparticles with polymerase chain reaction. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2017. 153. 69-76. doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.02.005
8. Cao X, Chen J, Wen S et al. Effect of surface charge of polyethyleneimine-modified multiwalled carbon nanotubes on the improvement of polymerase chain reaction. *Nanoscale*. 2011, 3(4). 1741-1747. doi: 10.1039/c0nr00833h
9. Cao X, Shen M, Zhang X eet al. Effect of the surface functional groups of dendrimer-entrapped gold nanoparticles on the improvement of PCR. *Electrophoresis*. 2012. 33(16). 2598-2603. doi: 10.1002/elps.201200061
10. Chauhan K, Kim DM, Cho E et al. Facilitation of Dye-Based Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction with Poly(ethylene glycol)-Engrafted Graphene Oxide. *Nanomaterials (Basel).* 2023. 13(8). 1348. doi: 10.3390/nano13081348
11. Chen C, Zhang A, Zhang X et al. Numerical simulation of Au nanoparticles effect on the PCR process. *J Biomech Eng*. 2009. 131(7). 074512. doi: 10.1115/1.3147746
12. Chen J, Cao X, Guo R t al. A highly effective polymerase chain reaction enhancer based on dendrimer-entrapped gold nanoparticles. *Analyst*. 2012. 137(1). 223-228. doi: 10.1039/c1an15816c
13. Cui D, Tian F, Kong Y et al. Effects of single-walled carbon nanotubes on the polymerase chain reaction. *Nanotechnology*. 2004. 15(1). 154-157. doi: 10.1088/0957-4484/15/1/030
14. Devika PP, Alex S, Soni KB et al. Nano-PCR for the early detection of tomato leaf curl virus. *3 Biotech*. 2024 Jan;14(1):5. doi: 10.1007/s13205-023-03842-2
15. Du X, An H, Jin B et al. Carbon nanotubes altering specificity of repeated PCR and DNA integrity properties. *J Nanosci Nanotechnol*. 2014. 14(7). 5547-5551. doi: 10.1166/jnn.2014.8874
16. Fuming S, Yang Y, Hexiang Z et al. CdTe quantum dots accelerate the speed of Pfu-based polymerase chain reaction. *Journal of Experimental Nanoscience*. 2013. 10(6). 476–482. doi: 10.1080/17458080.2013.843208
17. Gabriel S, Rasheed AK, Siddiqui R et al. Development of nanoparticle-assisted PCR assay in the rapid detection of brain-eating amoebae. *Parasitol Res*. 2018. 117(6). 1801-1811. doi: 10.1007/s00436-018-5864-0
18. Haber AL, Griffiths KR, Jamting AK et al. Addition of gold nanoparticles to real-time PCR: effect on PCR profile and SYBR Green I fluorescence. *Anal Bioanal Chem*. 2008. 392(5). 887-896. doi: 10.1007/s00216-008-2358-4
19. Hemanta MR, Varsha K. Enhancement in Efficiency of Polymerase Chain Reaction by Silver NanoParticles. *Intern. Res. J. Biol. Sci*. 2014. 3(2). 30-33.
20. Jeong H, Baek SH, Chang S-J et al. A hybrid composite of gold and graphene oxide as a PCR enhancer. *RSC Adv.* 2015. 5. 93117-93121. doi: 10.1039/C5RA12932J
21. Jia J, Sun L, Hu N et al. Graphene enhances the specificity of the polymerase chain reaction. *Small*. 2012. 8(13). 2011-2015. doi: 10.1002/smll.201200139
22. Kambli P, Kelkar-Mane V. Nanosized Fe_3O_4 an efficient PCR yield enhancer-Comparative study with Au, Ag nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2016. 141. 546-552. doi: 10.1016/j.colsurfb.2016.02.024
23. Kim HR, Baek A, Lee IJ et al. Facilitation of Polymerase Chain Reaction with Poly(ethylene glycol)-Engrafted Graphene Oxide Analogous to a Single-Stranded-DNA Binding Protein. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016. 8(49). 33521-33528. doi: 10.1021/acsami.6b13223
24. Lenka G, Weng W-H. Nanosized particles of titanium dioxide specifically increase the efficiency of conventional polymerase chain reaction. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures.* 2013. 8(4). 1435-1445.
25. Li A, Zhou B, Alves CS et al. Mechanistic Studies of Enhanced PCR Using PEGylated PEI-

Entrapped Gold Nanoparticles. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016. 8(39). 25808-25817. doi: 10.1021/acsami.6b09310
26. Li H, Huang J, Lv J et al. Nanoparticle PCR: nanogold-assisted PCR with enhanced specificity. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2005. 44(32). 5100-5103. doi: 10.1002/anie.200500403
27. Li M, Lin YC, Wu CC et al. Enhancing the efficiency of a PCR using gold nanoparticles. *Nucleic Acids Res*. 2005a. 33(21). e184. doi: 10.1093/nar/gni183
28. Li S, Wang Z, Wang Y et al. Effects of graphene oxide on PCR amplification for microbial community survey. *BMC Microbiol*. 2020. 20(1). 278. doi: 10.1186/s12866-020-01965-7
29. Li S, Zhu H, Zhu R. et al. Impact and mechanism of TiO2 nanoparticles on DNA synthesis *in vitro. Sci. China Ser. B-Chem.* 2008. 51. 367–372. doi: 10.1007/s11426-008-0049-9
30. Liang G, Ma C, Zhu Y et al. Enhanced Specificity of Multiplex Polymerase Chain Reaction via CdTe Quantum Dots. *Nanoscale Res Lett.* 2011. 6(1). 51. doi: 10.1007/s11671-010-9797-5
31. Lin Y, Li J, Yao J. et al. Mechanism of gold nanoparticle induced simultaneously increased PCR efficiency and specificity. *Chin. Sci. Bull*. 2013. 58. 4593–4601. doi: 10.1007/s11434-013-6080-z
32. Lou X, Zhang Y. Mechanism studies on nanoPCR and applications of gold nanoparticles in genetic analysis. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2013. 5(13). 6276-6284. doi: 10.1021/am4013209
33. Ma L, He S, Huang J, Cao L, Yang F, Li L. Maximizing specificity and yield of PCR by the quantum dot itself rather than property of the quantum dot surface. *Biochimie*. 2009. 91(8). 969-973. doi: 10.1016/j.biochi.2009.04.020
34. Madadelahi M, Ghazimirsaeed E, Shamloo A. Design and fabrication of a two-phase diamond nanoparticle aided fast PCR device. *Anal Chim Acta*. 2019. 1068. 28-40. doi: 10.1016/j.aca.2019.02.050
35. Mandal S, Hossain M, Muruganandan T et al. Gold nanoparticles alter Taq DNA polymerase activity during polymerase chain reaction. *RSC Adv*. 2013. 3. 20793-20799. doi: 10.1039/C3RA41882K
36. Meng X, Li B, Chen et al. Inhibition of a thermophilic deoxyribonucleic acid polymerase by fullerene derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2007. 22(3). 293–296. doi: 10.1080/14756360601114270
37. Mi L, Zhu H, Zhang X et al. Mechanism of the interaction between Au nanoparticles and polymerase in nanoparticle PCR. Chinese Sci Bull. 2007. 52. 2345–2349. doi: 10.1007/s11434-007-0327-5
38. Narang J, Malhotra N, Narang S et al. Replacement of magnesium chloride with magnesium nanoparticles in polymerase chain reaction. *Protocols Exchange*. 2016. DOI: 10.1038/protex.2016.021
39. Nedumpully Govindan P, Monticelli L et al. Mechanism of Taq DNA polymerase inhibition by fullerene derivatives: insight from computer simulations. *J Phys Chem B*. 2012. 116(35). 10676-10683. doi: 10.1021/jp3046577
40. Nie L, Gao L, Yan X et al. Functionalized tetrapod-like ZnO nanostructures for plasmid DNA purification, polymerase chain reaction and delivery. Nanotechnology. 2006. 18(1). 015101. doi: 10.1088/0957-4484/18/1/015101
41. Pan J, Li H, Cao X et al. Nanogold-assisted multi-round polymerase chain reaction (PCR). *J Nanosci Nanotechnol*. 2007. 7(12). 4428-4433. doi: 10.1166/jnn.2007.887
42. Petralia S, Barbuzzi T, Ventimiglia G. Polymerase chain reaction efficiency improved by water soluble β-cyclodextrins capped platinum nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*. 2012. 32(4). 848-850. doi: 10.1016/j.msec.2012.01.036
43. Rasheed AK, Siddiqui R, Ahmed SMK et al. hBN Nanoparticle-Assisted Rapid Thermal Cycling for the Detection of Acanthamoeba. *Pathogens*. 2020. 9(10). 824. doi: 10.3390/pathogens9100824
44. Sang F, Yang Y, Lin Y et al. A hot start alternative for high-fidelity DNA polymerase amplification mediated by quantum dots. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2014. 46(6). 502-511. doi: 10.1093/abbs/gmu026
45. Sang F, Yang Y, Yuan L et al. Development of a high-throughput real time PCR based on a hot-start alternative for Pfu mediated by quantum dots. *Nanoscale*. 2015. 7(38). 15852-15862. doi: 10.1039/c5nr03596a
46. Sang F, Zhang Z, Xu Z. et al. CdTe Quantum Dots Enhance Feasibility of EvaGreen-Based Real-Time PCR with Decent Amplification Fidelity. *Mol Biotechnol*. 2013. 54. 969–976. doi: 10.1007/s12033-013-9650-z
47. Shamsian S, Siddique AB, Kordzadeh-Kermani V et al. Nanomaterials in PCR: exploring light-to-heat conversion mechanisms and microfluidic integration. *Microsyst Nanoeng*. 2025. 11(1). 127. doi: 10.1038/s41378-025-00898-3
48. Shen C, Yang W, Ji Q et al. NanoPCR observation: different levels of DNA replication fidelity in nanoparticle-enhanced polymerase chain reactions. *Nanotechnology*. 2009. 20(45). 455103. doi: 10.1088/0957-4484/20/45/455103
49. Sun C, Cheng Y, Pan Y et al. Efficient polymerase chain reaction assisted by metal-organic frameworks. *Chem Sci.* 2019. 11(3). 797-802. doi: 10.1039/c9sc03202a
50. Tong W, Cao X, Wen S et al. Enhancing the specificity and efficiency of polymerase chain reaction

using polyethyleneimine-based derivatives and hybrid nanocomposites. *Int J Nanomedicine*. 2012. 7. 1069-1078. doi: 10.2147/IJN.S28947

51. Upadhyay A, Yang H, Zaman B et al. ZnO Nanolower-Based NanoPCR as an Efficient Diagnostic Tool for Quick Diagnosis of Canine Vector-Borne Pathogens. *Pathogens*. 2020. 9(2). 122. doi: 10.3390/pathogens9020122
52. Vajpayee K, Paida V, Shukla RK. Nanoparticle-assisted PCR: fundamentals, mechanisms, and forensic implications. *Int J Legal Med*. 2025. 139(3). 945-964. doi: 10.1007/s00414-024-03402-0
53. Vanzha E, Pylaev T, Khanadeev V et al. Gold nanoparticle-assisted polymerase chain reaction: effects of surface ligands, nanoparticle shape and material. *RSC Adv*. 2016. 6. 110146-110154. doi: 10.1039/C6RA20472D
54. Vu BV, Litvinov D, Willson RC. Gold nanoparticle effects in polymerase chain reaction: favoring of smaller products by polymerase adsorption. *Anal Chem*. 2008. 80(14). 5462-5467. doi: 10.1021/ac8000258
55. Wan W, Yeow JT. The effects of gold nanoparticles with different sizes on polymerase chain reaction efficiency. *Nanotechnology*. 2009. 20(32). 325702. doi: 10.1088/0957-4484/20/32/325702
56. Wan W, Yeow JTW, Van Dyke MI. Effect of silver and titanium dioxide nanoparticles on PCR efficiency. 9th IEEE Conference on Nanotechnology (IEEE-NANO), Genoa, Italy. 2009. 458-461.
57. Wang L, Zhu Y, Jiang Y et al. Effects of quantum dots in polymerase chain reaction. *J Phys Chem B*. 2009. 113(21). 7637-7641. doi: 10.1021/jp902404y
58. Wang Y, Wang F, Wang H et al. Graphene oxide enhances the specificity of the polymerase chain reaction by modifying primer-template matching. *Sci Rep.* 2017. 7(1). 16510. doi: 10.1038/s41598-017-16836-x
59. Williams RM, Nayeem S, Dolash BD et al. The effect of DNA-dispersed single-walled carbon nanotubes on the polymerase chain reaction. *PLoS One*. 2014. 9(4). e94117. doi: 10.1371/journal.pone.0094117
60. Xu S, Yao M. NanoPCR detection of bacterial aerosols. *Journal of Aerosol Science*. 2013. 65. 1-9. doi: 10.1016/j.jaerosci.2013.06.005
61. Xun Z, Zhao X, Guan Y. Improved thermal cycling durability and PCR compatibility of polymer coated quantum dot. *Nanotechnology*. 2013. 24(35). 355504. doi: 10.1088/0957-4484/24/35/355504
62. Xue Z, You M, Peng P et al. Taqman-MGB nanoPCR for Highly Specific Detection of Single-Base Mutations. *Int J Nanomedicine*. 2021. 16. 3695-3705. doi: 10.2147/IJN.S310254
63. Yang W, Li X, Sun J et al. Enhanced PCR amplification of GC-rich DNA templates by gold nanoparticles. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2013. 5(22). 11520-11524. doi: 10.1021/am4040448
64. Yang W, Mi L, Cao X et al Evaluation of gold nanoparticles as the additive in real-time polymerase chain reaction with SYBR Green I dye. *Nanotechnology*. 2008. 19(25). 255101. doi: 10.1088/0957-4484/19/25/255101
65. Yang X, Meng X, Li B et al. Inhibition of in vitro amplification of targeted DNA fragment and activity of exonuclease I by a fullerene-oligonucleotide conjugate. *Biologicals*. 2008. 36(4). 223-226. doi: 10.1016/j.biologicals.2007.11.006
66. Yi C, Fong C-C, Chen W et al. Interactions between carbon nanotubes and DNA polymerase and restriction endonucleases. *Nanotechnology*. 2007. 18(2). 025102. doi: 10.1088/0957-4484/18/2/025102
67. Yuan L, He Y. Effect of surface charge of PDDA-protected gold nanoparticles on the specificity and efficiency of DNA polymerase chain reaction. *Analyst*. 2013. 138(2). 539-545. doi: 10.1039/c2an36145k
68. Yuce M, Budak H. Dispersion quality of amine functionalized multiwall carbon nanotubes plays critical roles in polymerase chain reaction enhancement. *J Nanopart Res* 2014. 16. 2768. doi: 10.1007/s11051-014-2768-5
69. Yüce M, Uysal E, Budak H. Amplification yield enhancement of short DNA templates using bulk and surface-attached amine-functionalized single-wall carbon nanotubes. *Applied Surface Science*. 2015. 349. 147-155. doi: 10.1016/j.apsusc.2015.04.216
70. Zeng R, Du Z, Ma H et al. The 60 nm gold nanoparticles improve qPCR amplification efficiency through specific palindromic sequences (GGATCC or ACCGGT) in primers. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2024. 1868(4). 130560. doi: 10.1016/j.bbagen.2024.130560
71. Zhang D, Li Y, Zhang X et al. Enhancement of the polymerase chain reaction by tungsten disulfide. *RSC Adv.* 2019. 9(17). 9373-9378. doi: 10.1039/c8ra09689a
72. Zhang Z, Shen C, Wang M et al. Aqueous suspension of carbon nanotubes enhances the specificity of long PCR. *BioTechniques*. 2008. 44(4). 537-545. doi: 10.2144/000112692
73. Zhong Y, Huang L, Zhang Z et al. Enhancing the specificity of polymerase chain reaction by graphene oxide through surface modification: zwitterionic polymer is superior to other polymers with different charges. *Int J Nanomedicine*. 2016. 11. 5989-6002. doi: 10.2147/IJN.S120659
74. Zhu M, Luo C, Zhang F et al., Interactions of the primers and Mg^{2+} with graphene quantum dots enhance PCR performance. *RSC Adv*. 2015. 5. 74515-74522. doi: 10.1039/C5RA12729G

References

1. Abdul Khaliq R, Kafafy R, Salleh HM et al. Enhancing the efficiency of polymerase chain reaction using graphene nanoflakes. *Nanotechnology*. 2012. 23(45). 455106. doi: 10.1088/0957-4484/23/45/455106
2. Abdul Khaliq R, Sonawane PJ, Sasi BK et al. Enhancement in the efficiency of polymerase chain reaction by TiO2 nanoparticles: crucial role of enhanced thermal conductivity. *Nanotechnology*. 2010. 21(25). 255704. doi: 10.1088/0957-4484/21/25/255704
3. Al-Dhabaan FA, Yousef H, Shoala T et al. Enhancement of fungal DNA templates and PCR amplification yield by three types of nanoparticles. *J. Plant Protection Research*. 2018. 58(1). 66-72. doi: 10.24425/119119.
4. Aysan AB, Knejzlík Z, Ulbrich P et al. Effect of surface functionalisation on the interaction of iron oxide nanoparticles with polymerase chain reaction. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2017. 153. 69-76. doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.02.005
5. Cao X, Chen J, Wen S et al. Effect of surface charge of polyethyleneimine-modified multiwalled carbon nanotubes on the improvement of polymerase chain reaction. *Nanoscale*. 2011, 3(4). 1741-1747. doi: 10.1039/c0nr00833h
6. Cao X, Shen M, Zhang X eet al. Effect of the surface functional groups of dendrimer-entrapped gold nanoparticles on the improvement of PCR. *Electrophoresis*. 2012. 33(16). 2598-2603. doi: 10.1002/elps.201200061
7. Chauhan K, Kim DM, Cho E et al. Facilitation of Dye-Based Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction with Poly(ethylene glycol)-Engrafted Graphene Oxide. *Nanomaterials (Basel).* 2023. 13(8). 1348. doi: 10.3390/nano13081348
8. Chemeris AV, Magdanov EG, Garafutdinov RR et al. How to exclude the appearance of false-positive results during the polymerase chain reaction? *Vestn. biotechnol. fiz.-chem. biol.* 2012. V. 8(3). P. 34-45. (In Russian)
9. Chen C, Zhang A, Zhang X et al. Numerical simulation of Au nanoparticles effect on the PCR process. *J Biomech Eng*. 2009. 131(7). 074512. doi: 10.1115/1.3147746
10. Chen J, Cao X, Guo R t al. A highly effective polymerase chain reaction enhancer based on dendrimer-entrapped gold nanoparticles. *Analyst*. 2012. 137(1). 223-228. doi: 10.1039/c1an15816c
11. Cui D, Tian F, Kong Y et al. Effects of single-walled carbon nanotubes on the polymerase chain reaction. *Nanotechnology*. 2004. 15(1). 154-157. doi: 10.1088/0957-4484/15/1/030
12. Devika PP, Alex S, Soni KB et al. Nano-PCR for the early detection of tomato leaf curl virus. *3 Biotech*. 2024 Jan;14(1):5. doi: 10.1007/s13205-023-03842-2
13. Du X, An H, Jin B et al. Carbon nanotubes altering specificity of repeated PCR and DNA integrity properties. *J Nanosci Nanotechnol*. 2014. 14(7). 5547-5551. doi: 10.1166/jnn.2014.8874
14. Fuming S, Yang Y, Hexiang Z et al. CdTe quantum dots accelerate the speed of Pfu-based polymerase chain reaction. *Journal of Experimental Nanoscience*. 2013. 10(6). 476–482. doi: 10.1080/17458080.2013.843208
15. Gabriel S, Rasheed AK, Siddiqui R et al. Development of nanoparticle-assisted PCR assay in the rapid detection of brain-eating amoebae. *Parasitol Res*. 2018. 117(6). 1801-1811. doi: 10.1007/s00436-018-5864-0
16. Garafutdinov RR, Baymiev AnKh, Maleev GV et al. Diversity of PCR primers and principles of their design. *Biomics*. 2019. 11(1). 23-70. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-04 (In Russian)
17. Haber AL, Griffiths KR, Jamting AK et al. Addition of gold nanoparticles to real-time PCR: effect on PCR profile and SYBR Green I fluorescence. *Anal Bioanal Chem*. 2008. 392(5). 887-896. doi: 10.1007/s00216-008-2358-4
18. Hemanta MR, Varsha K. Enhancement in Efficiency of Polymerase Chain Reaction by Silver NanoParticles. *Intern. Res. J. Biol. Sci*. 2014. 3(2). 30-33.
19. Jeong H, Baek SH, Chang S-J et al. A hybrid composite of gold and graphene oxide as a PCR enhancer. *RSC Adv.* 2015. 5. 93117-93121. doi: 10.1039/C5RA12932J
20. Jia J, Sun L, Hu N et al. Graphene enhances the specificity of the polymerase chain reaction. *Small*. 2012. 8(13). 2011-2015. doi: 10.1002/smll.201200139
21. Kambli P, Kelkar-Mane V. Nanosized Fe_3O_4 an efficient PCR yield enhancer-Comparative study with Au, Ag nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2016. 141. 546-552. doi: 10.1016/j.colsurfb.2016.02.024
22. Kim HR, Baek A, Lee IJ et al. Facilitation of Polymerase Chain Reaction with Poly(ethylene glycol)-Engrafted Graphene Oxide Analogous to a Single-Stranded-DNA Binding Protein. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016. 8(49). 33521-33528. doi: 10.1021/acsami.6b13223
23. Lenka G, Weng W-H. Nanosized particles of titanium dioxide specifically increase the efficiency of conventional polymerase chain reaction. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures.* 2013. 8(4). 1435-1445.
24. Li A, Zhou B, Alves CS et al. Mechanistic Studies of Enhanced PCR Using PEGylated PEI-Entrapped Gold Nanoparticles. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016. 8(39). 25808-25817. doi: 10.1021/acsami.6b09310
25. Li H, Huang J, Lv J et al. Nanoparticle PCR: nanogold-assisted PCR with enhanced specificity. *Angew*

Chem Int Ed Engl. 2005. 44(32). 5100-5103. doi: 10.1002/anie.200500403
26. Li M, Lin YC, Wu CC et al. Enhancing the efficiency of a PCR using gold nanoparticles. *Nucleic Acids Res*. 2005a. 33(21). e184. doi: 10.1093/nar/gni183
27. Li S, Wang Z, Wang Y et al. Effects of graphene oxide on PCR amplification for microbial community survey. *BMC Microbiol*. 2020. 20(1). 278. doi: 10.1186/s12866-020-01965-7
28. Li S, Zhu H, Zhu R. et al. Impact and mechanism of TiO2 nanoparticles on DNA synthesis *in vitro. Sci. China Ser. B-Chem.* 2008. 51. 367–372. doi: 10.1007/s11426-008-0049-9
29. Liang G, Ma C, Zhu Y et al. Enhanced Specificity of Multiplex Polymerase Chain Reaction via CdTe Quantum Dots. *Nanoscale Res Lett.* 2011. 6(1). 51. doi: 10.1007/s11671-010-9797-5
30. Lin Y, Li J, Yao J. et al. Mechanism of gold nanoparticle induced simultaneously increased PCR efficiency and specificity. *Chin. Sci. Bull*. 2013. 58. 4593–4601. doi: 10.1007/s11434-013-6080-z
31. Lou X, Zhang Y. Mechanism studies on nanoPCR and applications of gold nanoparticles in genetic analysis. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2013. 5(13). 6276-6284. doi: 10.1021/am4013209
32. Ma L, He S, Huang J, Cao L, Yang F, Li L. Maximizing specificity and yield of PCR by the quantum dot itself rather than property of the quantum dot surface. *Biochimie*. 2009. 91(8). 969-973. doi: 10.1016/j.biochi.2009.04.020
33. Madadelahi M, Ghazimirsaeed E, Shamloo A. Design and fabrication of a two-phase diamond nanoparticle aided fast PCR device. *Anal Chim Acta*. 2019. 1068. 28-40. doi: 10.1016/j.aca.2019.02.050
34. Mandal S, Hossain M, Muruganandan T et al. Gold nanoparticles alter Taq DNA polymerase activity during polymerase chain reaction. *RSC Adv*. 2013. 3. 20793-20799. doi: 10.1039/C3RA41882K
35. Meng X, Li B, Chen et al. Inhibition of a thermophilic deoxyribonucleic acid polymerase by fullerene derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2007. 22(3). 293–296. doi: 10.1080/14756360601114270
36. Mi L, Zhu H, Zhang X et al. Mechanism of the interaction between Au nanoparticles and polymerase in nanoparticle PCR. Chinese Sci Bull. 2007. 52. 2345–2349. doi: 10.1007/s11434-007-0327-5
37. Narang J, Malhotra N, Narang S et al. Replacement of magnesium chloride with magnesium nanoparticles in polymerase chain reaction. *Protocols Exchange*. 2016. DOI: 10.1038/protex.2016.021
38. Nedumpully Govindan P, Monticelli L et al. Mechanism of Taq DNA polymerase inhibition by fullerene derivatives: insight from computer simulations. *J Phys Chem B*. 2012. 116(35). 10676-10683. doi: 10.1021/jp3046577
39. Nie L, Gao L, Yan X et al. Functionalized tetrapod-like ZnO nanostructures for plasmid DNA purification, polymerase chain reaction and delivery. Nanotechnology. 2006. 18(1). 015101. doi: 10.1088/0957-4484/18/1/015101
40. Pan J, Li H, Cao X et al. Nanogold-assisted multi-round polymerase chain reaction (PCR). *J Nanosci Nanotechnol*. 2007. 7(12). 4428-4433. doi: 10.1166/jnn.2007.887
41. Petralia S, Barbuzzi T, Ventimiglia G. Polymerase chain reaction efficiency improved by water soluble β-cyclodextrins capped platinum nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C.* 2012. 32(4). 848-850. doi: 10.1016/j.msec.2012.01.036
42. Rasheed AK, Siddiqui R, Ahmed SMK et al. hBN Nanoparticle-Assisted Rapid Thermal Cycling for the Detection of Acanthamoeba. *Pathogens*. 2020. 9(10). 824. doi: 10.3390/pathogens9100824
43. Sakhabutdinova AR, Chemeris DA, Chemeris AV et al. PCR enhancers. I. General information. *Biomics*. 2023. T.15(3). C. 218-223. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-20 (In Russian)
44. Sang F, Yang Y, Lin Y et al. A hot start alternative for high-fidelity DNA polymerase amplification mediated by quantum dots. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2014. 46(6). 502-511. doi: 10.1093/abbs/gmu026
45. Sang F, Yang Y, Yuan L et al. Development of a high-throughput real time PCR based on a hot-start alternative for Pfu mediated by quantum dots. *Nanoscale*. 2015. 7(38). 15852-15862. doi: 10.1039/c5nr03596a
46. Sang F, Zhang Z, Xu Z. et al. CdTe Quantum Dots Enhance Feasibility of EvaGreen-Based Real-Time PCR with Decent Amplification Fidelity. *Mol Biotechnol*. 2013. 54. 969–976. doi: 10.1007/s12033-013-9650-z
47. Shamsian S, Siddique AB, Kordzadeh-Kermani V et al. Nanomaterials in PCR: exploring light-to-heat conversion mechanisms and microfluidic integration. *Microsyst Nanoeng*. 2025. 11(1). 127. doi: 10.1038/s41378-025-00898-3
48. Shen C, Yang W, Ji Q et al. NanoPCR observation: different levels of DNA replication fidelity in nanoparticle-enhanced polymerase chain reactions. *Nanotechnology*. 2009. 20(45). 455103. doi: 10.1088/0957-4484/20/45/455103
49. Sun C, Cheng Y, Pan Y et al. Efficient polymerase chain reaction assisted by metal-organic frameworks. *Chem Sci.* 2019. 11(3). 797-802. doi: 10.1039/c9sc03202a
50. Tong W, Cao X, Wen S et al. Enhancing the specificity and efficiency of polymerase chain reaction using polyethyleneimine-based derivatives and hybrid

nanocomposites. *Int J Nanomedicine*. 2012. 7. 1069-1078. doi: 10.2147/IJN.S28947
51. Upadhyay A, Yang H, Zaman B et al. ZnO Nanolower-Based NanoPCR as an Efficient Diagnostic Tool for Quick Diagnosis of Canine Vector-Borne Pathogens. *Pathogens*. 2020. 9(2). 122. doi: 10.3390/pathogens9020122
52. Vajpayee K, Paida V, Shukla RK. Nanoparticle-assisted PCR: fundamentals, mechanisms, and forensic implications. *Int J Legal Med*. 2025. 139(3). 945-964. doi: 10.1007/s00414-024-03402-0
53. Vanzha E, Pylaev T, Khanadeev V et al. Gold nanoparticle-assisted polymerase chain reaction: effects of surface ligands, nanoparticle shape and material. *RSC Adv*. 2016. 6. 110146-110154. doi: 10.1039/C6RA20472D
54. Vu BV, Litvinov D, Willson RC. Gold nanoparticle effects in polymerase chain reaction: favoring of smaller products by polymerase adsorption. *Anal Chem*. 2008. 80(14). 5462-5467. doi: 10.1021/ac8000258
55. Wan W, Yeow JT. The effects of gold nanoparticles with different sizes on polymerase chain reaction efficiency. *Nanotechnology*. 2009. 20(32). 325702. doi: 10.1088/0957-4484/20/32/325702
56. Wan W, Yeow JTW, Van Dyke MI. Effect of silver and titanium dioxide nanoparticles on PCR efficiency. 9th IEEE Conference on Nanotechnology (IEEE-NANO), Genoa, Italy. 2009. 458-461.
57. Wang L, Zhu Y, Jiang Y et al. Effects of quantum dots in polymerase chain reaction. *J Phys Chem B.* 2009. 113(21). 7637-7641. doi: 10.1021/jp902404y
58. Wang Y, Wang F, Wang H et al. Graphene oxide enhances the specificity of the polymerase chain reaction by modifying primer-template matching. *Sci Rep.* 2017. 7(1). 16510. doi: 10.1038/s41598-017-16836-x
59. Williams RM, Nayeem S, Dolash BD et al. The effect of DNA-dispersed single-walled carbon nanotubes on the polymerase chain reaction. *PLoS One*. 2014. 9(4). e94117. doi: 10.1371/journal.pone.0094117
60. Xu S, Yao M. NanoPCR detection of bacterial aerosols. *Journal of Aerosol Science*. 2013. 65. 1-9. doi: 10.1016/j.jaerosci.2013.06.005
61. Xun Z, Zhao X, Guan Y. Improved thermal cycling durability and PCR compatibility of polymer coated quantum dot. *Nanotechnology*. 2013. 24(35). 355504. doi: 10.1088/0957-4484/24/35/355504
62. Xue Z, You M, Peng P et al. Taqman-MGB nanoPCR for Highly Specific Detection of Single-Base Mutations. *Int J Nanomedicine*. 2021. 16. 3695-3705. doi: 10.2147/IJN.S310254
63. Yang W, Li X, Sun J et al. Enhanced PCR amplification of GC-rich DNA templates by gold nanoparticles. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2013. 5(22). 11520-11524. doi: 10.1021/am4040448
64. Yang W, Mi L, Cao X et al Evaluation of gold nanoparticles as the additive in real-time polymerase chain reaction with SYBR Green I dye. *Nanotechnology*. 2008. 19(25). 255101. doi: 10.1088/0957-4484/19/25/255101
65. Yang X, Meng X, Li B et al. Inhibition of in vitro amplification of targeted DNA fragment and activity of exonuclease I by a fullerene-oligonucleotide conjugate. *Biologicals*. 2008. 36(4). 223-226. doi: 10.1016/j.biologicals.2007.11.006
66. Yi C, Fong C-C, Chen W et al. Interactions between carbon nanotubes and DNA polymerase and restriction endonucleases. *Nanotechnology*. 2007. 18(2). 025102. doi: 10.1088/0957-4484/18/2/025102
67. Yuan L, He Y. Effect of surface charge of PDDA-protected gold nanoparticles on the specificity and efficiency of DNA polymerase chain reaction. *Analyst*. 2013. 138(2). 539-545. doi: 10.1039/c2an36145k
68. Yuce M, Budak H. Dispersion quality of amine functionalized multiwall carbon nanotubes plays critical roles in polymerase chain reaction enhancement. *J Nanopart Res* 2014. 16. 2768. doi: 10.1007/s11051-014-2768-5
69. Yüce M, Uysal E, Budak H. Amplification yield enhancement of short DNA templates using bulk and surface-attached amine-functionalized single-wall carbon nanotubes. *Applied Surface Science*. 2015. 349. 147-155. doi: 10.1016/j.apsusc.2015.04.216
70. Zeng R, Du Z, Ma H et al. The 60 nm gold nanoparticles improve qPCR amplification efficiency through specific palindromic sequences (GGATCC or ACCGGT) in primers. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2024. 1868(4). 130560. doi: 10.1016/j.bbagen.2024.130560
71. Zhang D, Li Y, Zhang X et al. Enhancement of the polymerase chain reaction by tungsten disulfide. *RSC Adv.* 2019. 9(17). 9373-9378. doi: 10.1039/c8ra09689a
72. Zhang Z, Shen C, Wang M et al. Aqueous suspension of carbon nanotubes enhances the specificity of long PCR. *BioTechniques*. 2008. 44(4). 537-545. doi: 10.2144/000112692
73. Zhong Y, Huang L, Zhang Z et al. Enhancing the specificity of polymerase chain reaction by graphene oxide through surface modification: zwitterionic polymer is superior to other polymers with different charges. *Int J Nanomedicine*. 2016. 11. 5989-6002. doi: 10.2147/IJN.S120659
74. Zhu M, Luo C, Zhang F et al., Interactions of the primers and Mg^{2+} with graphene quantum dots enhance PCR performance. *RSC Adv*. 2015. 5. 74515-74522. doi: 10.1039/C5RA12729G