

**Резюме проекта (ПНИР), выполняемого
в рамках ФЦП
«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-
технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы»
по этапу №1**

Номер Соглашения о предоставлении субсидии/ государственного контракта:
14.616.21.0011

Тема: «Разработка наносенсорной биомагнитной тест-системы на основе нуклеиновых кислот для быстрого детектирования заболеваний разной этиологии»

Приоритетное направление: Проведение исследований в области индустрии наносистем с участием научно-исследовательских организаций стран-членов ЕС

Критическая технология: Технологии биоинженерии, Технологии наноустройств и микросистемной техники, Технологии снижения потерь от социально значимых заболеваний.

Период выполнения проекта: 17.09.2014-31.12.2016

Период выполнения 1 этапа проекта: 17.09.2014-31.12.2014

Исполнитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Партнер ЕС: Департамент микротехнологии и нанонауки – МС2 Чалмерского университета технологии, Гетеборг. Швеция.

Ключевые слова: Магнитные наночастицы, ДНК-аптамеры, биотиновые группы, аффинность нуклеопротеидных комплексов, молекулярное узнавание, броуновская релаксация, высокотемпературная сверхпроводимость (ВТСП), ВТСП СКВИД-магнитометр, нанотехнология изготовления

1. Цель прикладного научного исследования и экспериментальной разработки

Разработка наносенсорной биомагнитной тест-системы на основе нуклеиновых кислот для быстрого детектирования заболеваний разной этиологии.

Данная поисковая работа направлена на создание методик и аппаратуры для реализации безразделительной схемы иммуноанализа с использованием магнитных наночастиц и чувствительного магнитометра, регистрирующего изменение скорости броуновской релаксации магнитных наночастиц при связывании присоединенных к ним аптамеров с белками-мишенями, как это делается для пары антитело-антиген.

1.1. Методы проведения исследований

На данном этапе выполнения проекта, в его биологической части, для получения белков-мишеней, ускоряющих развитие онкологических заболеваний, и целевых молекул нуклеиновых кислот (аптамеров) со специфичными свойствами к белкам-мишеням, использовались современные методы аналитической биохимии и биоинженерии. В физико-технической части проекта

для получения экспериментальных образцов многослойных ВТСП пленок, необходимых для создания регистрирующего прибора – ВТСП СКВИД магнитометра использовались современные методы микро и наноэлектроники и методики измерения электрофизических характеристик получаемых образцов.

2. Основные результаты проекта

1.1 Выполнен аналитический обзор, содержащий 55 ссылок на современную научно-техническую, нормативную, методическую литературу по целевым свойствам аптамеров и способам построения биомагнитных тест-систем.

1.2 Обоснованно выбраны направления исследований, методов и средств проведения исследований.

1.3 Проведены патентные исследования по ГОСТ Р 15.011-96: проанализировано более 500 источников информации и не выявлено сведений о наличии завершенных исследований и конструктивных реализаций, порочащих новизну проводимых исследований.

1.4 Получены оценки для величины полезного сигнала при размере магнитных наночастиц 150 нм, концентрации 1мг/мл и размещения СКВИДа и объема с аналитом на расстоянии 1мм.

1.5.Разработана методика поиска и выборки белковых мишеней среди crucialных белков, ускоряющих развитие онкологических заболеваний.

1.6 Разработана методика получения целевых белковых мишеней с различной молекулярной массой (от 22kDa до100kDa).

1.7 Получены экспериментальные образцы белков-мишеней различной молекулярной массы в количестве 10 штук.

1.8 Разработана методика получения целевых молекул нуклеиновых кислот (аптамеров) со специфичными свойствами к конкретным белкам-мишеням, ускоряющим развитие онкологических заболеваний.

За счет средств Иностранного партнера:

1.9 Исследованы физические закономерности формирования многослойных ВТСП структур, обеспечивающие получение образцов с критическими температурами, ТС, слоев не менее 77 К и критическими плотностями тока не менее $1,5 \cdot 10^4$ ампер на квадратный сантиметр.

1

2

1

2



Рисунок 1 – Электрофорез выделенных препаратов С-His-Lon-протеазы –(а) и ее мутантной формы Lon-S679A - (б). (ПААГ, SDS, 1 - белки-маркеры, 2 - целевые белки).

1.10 Разработана методика нанесения буферных слоев и сверхпроводящего слоя на поверхность подложек, обеспечивающих согласование кристаллической структуры слоев на наноразмерном уровне.

1.11 Разработана методика измерения электрофизических характеристик экспериментальных образцов многослойных ВТСП пленок.

1.12 Разработан общий дизайн (см. Рис. 2), спроектированы и изготовлены части измерительной ВТСП СКВИД-системы (ВТСП СКВИД с трансформатором магнитного потока, электронные цепи вывода сигнала).

Все выполненные научные исследования соответствуют мировому уровню, а по ряду направлений - превышают мировой уровень.

3. Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД), полученные в рамках прикладного научного исследования и экспериментальной разработки

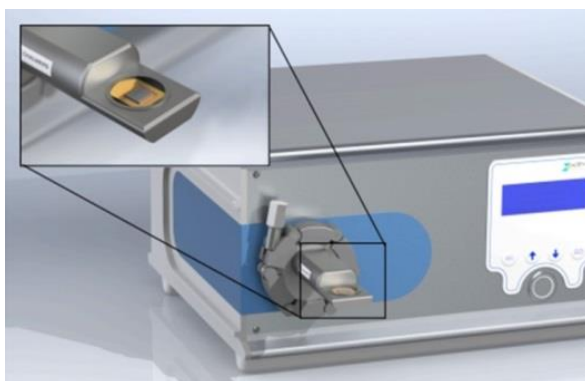
На данном этапе получение охраняемых РИД не планировалось.

4. Назначение и область применения результатов проекта

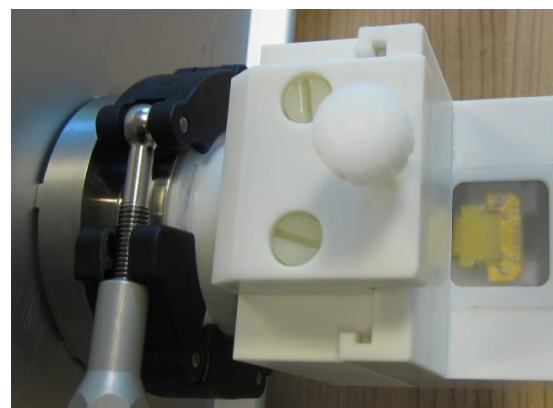
В прикладном плане разрабатываемая наносенсорная биомагнитная тест-система на основе магнитных наночастиц с иммобилизованными аптамерами к белкам, ускоряющим развитие онкологических заболеваний, таким, например, как интерлейкин-6, а также Lon-протеаза, сопровождающая сборку онкобелков, будет основой нового поколения диагностической медицинской аппаратуры.

Области применения и способы использования ожидаемых научных и научно-технических результатов данного поискового исследования определены содержанием и целями

проекта. Разработанный новый способ безразделительного иммуноанализа после его оптимизации будет применяться в биохимических лабораториях мира.



(а)



(б)

Рисунок 2 – (а) Предлагаемый вариант настольного диагностического прибора. В окне увеличения показан разрабатываемый интерфейс между СКВИДом и микрофлюидной платой для подачи образца в чувствительную зону. Круглое окно для интерфейса имеет диаметр порядка 1 см. (б) Пластиковая вакуумная камера с сапфировым окном, с предусмотренной возможностью выравнивания относительно СКВИДа в собранном виде, реализующая текущую версию интерфейса между СКВИДом и микрофлюидной платой для подачи образца в чувствительную зону.

Безусловной областью применения полученных результатов будет биомедицинская практика. Связывание белка-мишени с магнитными частицами через аптамер поможет исследовать структуры эпитопов как цитокина, так и рецепторов, вычлняя отдельные домены, участвующие в этих процессах. С помощью иммобилизованного ДНК-аптамера можно будет разработать упрощенную тест-систему по определению концентрации белка интерлейкина-6 или в плазме крови или так называемой Lon-протеазы в эпителиальных клетках.

5. Эффекты от внедрения результатов проекта, значимость проекта для решения научной проблемы

Внедрение новых методов быстрого детектирования заболеваний (включая онкологические) вне всяких сомнений приведет к снижению риска смертности и повышению качества жизни населения.

6. Формы и объемы коммерциализации результатов проекта

Коммерциализации подлежит непосредственно разрабатываемая наносенсорная биомагнитная тест-система на основе магнитных наночастиц с иммобилизованными аптамерами. Однако для практического использования в клинических условиях, жидкий азот должен быть заменен

Резюме проекта за Этап №1. Соглашение 14.616.21.0011

безжидкостной системой охлаждения. В рамках настоящего проекта был спроектирован и реализован прототип криокулера Джоуля-Томпсона (ДТ), основанный на коммерчески доступной системе Kryo3 BV (Нидерланды), который должен удовлетворить данную потребность. Прототип включает так называемый “холодный палец” с интерфейсом оптимизированным для СКВИД задач и с прозрачным окном для интеграции с микрожидкостной системой. Общая потребность только нашей страны в подобных оптимизированных тест-системах составляет сотни единиц.

7. Наличие соисполнителей

Нет