

**Итоговое резюме проекта НИР, выполненного
в рамках ФЦП**

«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007 – 2013 годы»

Номер контракта: № 16.552.11.7037 от «29» июля 2011 г.

Тема: «Проведение центром коллективного пользования научным оборудованием «Аналитический центр нано- и биотехнологий ГОУ СПбГПУ» научно-исследовательских работ в области живых систем путем развития методов диагностики состава, структуры и свойств биологически активных соединений»

Приоритетное направление: Живые системы, Индустрия наносистем и материалов, Рациональное природопользование.

Критическая технология: Биомедицинские и ветеринарные технологии жизнеобеспечения и защиты человека и животных, Биокаталитические, биосинтетические и биосенсорные технологии, Геномные и постгеномные технологии создания лекарственных сред, Клеточные технологии, Нанотехнологии и наноматериалы, Технологии биоинженерии.

Период выполнения: С «29» июля 2011 г. по «12» августа 2012 г.

Плановое финансирование проекта:

Бюджетные средства - 20,0 млн. руб.,

Внебюджетные средства - 5,0 млн. руб.

Исполнитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный политехнический университет» (ФГБОУ ВПО «СПбГПУ»), г. Санкт-Петербург

Ключевые слова: белки, лазерный пинцет, одномолекулярный уровень, TIR49a/TIR49b, Rvb1/Rvb2, понтин, репин, АТФ, ДНК, субдифракционная флюоресцентная микроскопия, оптическая лазерная ловушка, ЯМР спектроскопия, масс спектрометрия, протеомика, онкомаркеры, онкотрансформированные клетки, мелфалан.

1. Цель исследования, разработки

1.1 Проведение поисковых научно-исследовательских работ в области нанобиотехнологий и получение значимых научных результатов.

2. Основные результаты проекта

1) *Краткое описание основных полученных результатов*

1.1 Проведены исследования динамики образования комплекса дн-ДНК – белок TIR 49 с помощью метода оптической ловушки «Лазерный пинцет».

1.2 Проведены исследования методами структурно протеомных исследований и динамического светорассеяния структурно-функциональных различий экзосом, продуцируемых нормальными и онкотрансформированными клетками;

1.3 Проведена разработка метода динамической субдифракционной флюоресцентной микроскопии клеточных структур

1.4 Проведены исследования по определению амлодипина, валсартана, мелфалана и цисплатина в биологической матрице;

Для проведения этих исследований разработаны:

- Метод оценки распределения экзосом по размерам с помощью динамического светорассеяния;
- Методика сравнительного анализа онкоспецифичных белков и сигнальных липидов экзосом, продуцируемых нормальными и онкотрансформированными клетками на основе структурно протеомных исследований;

- Методика исследования на одномолекулярном уровне методом оптической ловушки динамики образования комплекса белок TIR 49a-ДНК;

- Методика определения сайтов связывания белка TIR 49a с ДНК с помощью ЯМР и масс спектрометрии;

- Метод динамической субдифракционной микроскопии клеточных структур с помощью лазерного пинцета;

- Методика исследования на одномолекулярном уровне методом оптической ловушки динамики образования комплекса белок TIR 49a-ДНК

- Методика определения сайтов связывания белка TIR 49a с ДНК с помощью ЯМР и масс-спектрометрии.

- Стандартные операционные процедуры (СОП) пробоподготовки биологических объектов и фармакологических субстанций с использованием жидкостно-жидкостной и твердофазной экстракции, определения указанных препаратов;

Разработаны и аттестованы в системе ГОСТ Р

- Четыре методики хромато-масс-спектрометрического определения соответственно для амлодипина, валсартана, мелфалана и цисплатина в плазме крови в соответствии с текущими критериями и рекомендациями FDA и TPD (точность, воспроизводимость, достоверность, чувствительность, устойчивость, линейность, LLOQ).

2) Основные характеристики созданной научной (научно-технической, инновационной) продукции

Динамическая субдифракционная микроскопия клеточных структур:

- Пространственное разрешение 30 нм±5нм; Временное разрешение – 1 +/- 0.2сек.

Исследования на одномолекулярном уровне динамики образования комплекса белок T1P 49a – ДНК:

- Пространственное разрешение оптической ловушки 1 нм±0,2нм; Диапазон измерения сил лазерным пинцетом 0.01 – 200 пН; - Число одновременно детектируемых объектов -2.

По направлению исследования экзосом

- Разрешающая способность масс-спектрометрических измерений – 1 000 000;

- Погрешность количественного определения белков не более 10 %;

По биоаналитическому направлению

- Предел детектирования биологически активных соединений до 500 пг/мл

- Предел количественного определения биологически активных соединений 0,6 нг/мл (в зависимости от фармацевтического препарата);

3) Оценка элементов новизны научных (конструкторских, технологических) решений

Реализованы 4D подходы при исследовании клеточных структур методом субдифракционной микроскопии и исследовании на одномолекулярном уровне динамики комплекса белок T1P 49a-ДНК методом оптической ловушки.

4) Сопоставление с результатами аналогичных работ, определяющими мировую ровень.

4.1 Полученные результаты по исследованию взаимодействия белок- днднк на примере T1P 49 получены впервые в мире, опубликована статья журнале Structure (Cell) с импакт фактором 6,5.

4.2 Разработанный метод динамической субдифракционной микроскопии клеточных структур впервые реализован в России и соответствует мировому уровню.

Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД), полученные в рамках исследования, разработки

Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД) не создавались.

3. Назначение и область применения результатов проекта

Результаты НИР могут быть использованы в биологии, биотехнологии и медицине, для выработки персонифицированных подходов при лекарственной терапии сердечно сосудистых и онкологических заболеваниях и создания новых диагностических систем для анализа биологически активных веществ на молекулярном, клеточном и физиологическом уровнях.

4. Эффекты от внедрения результатов проекта

Внедрение полученных результатов позволит повысить информативность, точность и экспересность медицинской диагностики, что приведет к снижению риска смертности.

5. Формы и объемы коммерциализации результатов проекта

Возможной формой коммерциализация результатов проекта является предоставление лицензии на право использования результатов интеллектуальной деятельности и аттестованных методов и методик.

Исполнительный директор ОНТИ
ФГБОУ ВПО СПбГУ

Научный руководитель
Ведущий научный сотрудник

Приложение 14 резюме проекта _7037-14

А.А.Попович

М.А. Ходорковский