

**Резюме проекта НИР, выполненного
в рамках ФЦП
«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-
технологического комплекса России на 2007 – 2013 годы»
/Итоговое/**

Номер контракта: № 16.518.11.7045

Тема: «Проведение исследований в области живых систем путем развития методов флюоресцентной микроскопии сверхвысокого разрешения с использованием уникальной комплексной установки для исследования динамики нанобиомашин на одномолекулярном уровне» (шифр УСУ «Лазерный пинцет»)»

Приоритетное направление: Живые системы

Критическая технология: Клеточные технологии, Нанотехнологии и наноматериалы, Технологии биоинженерии

Период выполнения: с «11» мая 2011 г. по «16» ноября 2012 г.

Плановое финансирование проекта: 5,5 млн. руб.

Бюджетные средства - 5,5 млн. руб.,

Внебюджетные средства - 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: Уникальная установка, лазерный пинцет, флюоресцентная микроскопия, клеточные структуры, биотехнология, биоинженерия, наномолекулы, научные приборы, диагностика, характеристика, наноматериалы

1. Цель исследования, разработки

1.1. К настоящему времени стало ясно, что основную работу в клеточных структурах совершают наномашинны – макромолекулярные комплексы, выполняющие механические, химические, биофизические функции. Все события развиваются в наномасштабах, на которых механические движения и химические превращения легко переходят друг в друга. Исследование работы таких комплексов лежит в основе понимания природы многих нормальных и патологических процессов, таких как деление клеток, дифференцировка стволовых клеток, развитие онкологических заболеваний, болезнь Альцгеймера и проч. Используя последние достижения в области флюоресцентной микроскопии сверхвысокого разрешения (ФМСР), можно реализовать метод исследования динамики молекулярных и клеточных структур на одномолекулярном уровне, создание которого чрезвычайно востребовано научным сообществом, в особенности в областях биологии, биотехнологии и медицины.

1.2. В данной работе будет:

а) разработан метод субдифракционной флюоресцентной микроскопии с целью исследования динамики молекулярных и клеточных структур в пространстве 3D с временным разрешением (ФМСР). При этом будут достигнуты следующие параметры метода:

- пространственное разрешение вдоль аксиальной оси не более 150 ± 30 нанометров;
- латеральное разрешение не более 70 ± 20 нанометров;
- временное разрешение на более 1.0 ± 0.2 секунды.

б) проведено исследование с помощью этого метода динамики на одномолекулярном уровне образования комплексов ДНК с белками, играющими важную роль в развитии онкологических заболеваний.

Все исследования будут выполнены на установке «Лазерный пинцет». Целями проекта являются:

- получение новых знаний и результатов в области биотехнологии.
- обеспечение научно-исследовательских, опытно-конструкторских и технологических работ, проводимых организациями Российской Федерации, с предоставлением им возмож-

ности использования методов научных исследований, разработанных или освоенных для уникальной установки, стенда (УСУ).

- разработка метода субдифракционной флюоресцентной микроскопии с целью исследования динамики молекулярных и клеточных структур в пространстве 3D с временным разрешением.

- проведение исследований с помощью разработанного метода одномолекулярной динамики образования комплексов ДНК с белками, играющими важную роль в развитии онкологических заболеваний.

2. Основные результаты проекта

В целом в ходе проведения исследований с использованием УСУ были получены новые знания и результаты в области биотехнологии. Были проведены следующие исследования:

- исследование динамики образования комплекса ДНК-белок в режиме прямой визуализации без сверхвысокого разрешения;
- исследование пространственно-временных характеристик определяющих параметры ФМСР метода;
- исследование динамики образования комплекса ДНК-белок методом ФМСР;
- исследования, проводимые в рамках разработки новых методов и методик.

При выполнении НИР была создана следующая научно-техническая продукция:

- 1) метод субдифракционной флюоресцентной микроскопии для исследования на одномолекулярном уровне динамики молекулярных и клеточных структур в пространстве 3D с временным разрешением;
- 2) методика формирования объектов исследования биологических систем для характеристики их методом флюоресцентной микроскопии сверхвысокого разрешения (ФМСР), включающую разработку конструкции проточной кюветы, способ фиксации объекта исследования в кювете и определения параметров жесткости оптической ловушки;
- 3) методика окраски объекта флуоресцентными красителями для реализации метода ФМСР;
- 4) методика калибровки уникальной установки «Лазерный пинцет»;
- 5) методика обработки экспериментальных данных полученных методом ФМСР;
- 6) блок-схема модернизированной УСУ для исследования на одномолекулярном уровне динамики молекулярных и клеточных структур в пространстве 3D с временным разрешением методом ФМСР.

Все требования технического задания госконтракта выполнены в полном объеме.

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

Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД) не создавались.

4. Назначение и область применения результатов проекта

Результаты проведенных НИР могут быть использованы для проведения опытно-конструкторских и опытно-технологических работ, направленных на создание новых нанобиотехнологий, и для проведения опытно-конструкторских работ направленных на создание принципиально нового класса нанодиагностической техники для использования в областях биологии, биотехнологии и медицины, не имеющей на сегодняшний день аналогов в мире. Результаты могут быть востребованы в таких исследовательских организациях как: Институт биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Гематологический научный центр РАМН, Институт Цитологии РАН, НИИ Онкологии Росздрава, а также другими научно исследовательскими организациями и приборостроительными организациями работающими в области живых систем, в связи с чем целесообразно провести ОТП по разработке соответствующего прототипа прибора.

Создание метода ФМСР является революционным шагом по пути создания современных технологий исследования биологических структур. На сегодняшний день в этой

области идет реальная конкуренция ведущих зарубежных научных коллективов и фирм производителей. Использование этого метода чрезвычайно востребовано научным сообществом в областях биологии, биотехнологии и медицины.

5. Эффекты от внедрения результатов проекта

Метод ФМСП при его практическом внедрении в лечебные учреждения, в которых проводится гистологическая диагностика человеческих тканей на предмет выявления онкотрансформированных клеток, позволит существенно увеличить процент достоверных данных и тем самым снизить риск смертности, за счет своевременно поставленного диагноза.

6. Формы и объемы коммерциализации результатов проекта

Коммерциализация проектом не предусмотрена

Исследования с использованием УСУ должны обеспечивать получение новых знаний в области: биологии (биофизика, цитология), биотехнологии (клеточная инженерия, молекулярная биология и др.), биоинженерии и создать задел для внедрения микроскопии со сверхвысоким разрешением в медицинскую практику.

Исполнительный директор ОНТИ
ФГБОУ ВПО "СПбПУ"

А.А. Попович

Научный руководитель
Старший научный сотрудник

С.В. Мурашов

М.П.

