

Разработка point-of-care тест-системы на основе ДНК-наносенсоров для диагностики патогенов центральной нервной системы

Научный руководитель – Кошель Елена Ивановна

Шкоденко Любовь Алексеевна

Аспирант

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: shkodenko@scamt-itmo.ru

Ранняя диагностика - это ключ к контролируемому течению инфекционного заболевания и адекватно принятым эпидемиологическим мерам. Современные методы молекулярного анализа, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР) или иммуноферментный анализ, требуют меньше времени и помогают однозначно определить возбудителя, а также, например, антибиотикорезистентность у бактерий.

Вместе с тем любой современный метод диагностики все еще требует транспортировки образцов и их сложной пробоподготовки. Уход от этих запросов определяет концепцию приборов point-of-care. Такие приборы отличаются мобильностью и минимальными требованиями к квалификации работающего с ним персонала.

Среди наиболее пригодных для приборов point-of-care методов молекулярной диагностики особое место занимают методы изотермической амплификации, как привычный и хорошо зарекомендовавший себя метод накопления продукта, и в то же время лишенный самого важного сложного элемента классической ПЦР - температурного циклирования.

В ходе представленного проекта также используются ДНК-наносенсоры, которые формируют чувствительные участки гибридизации, способные к высокоселективному распознаванию участков интереса, и в то же время к формированию G-квадруплексных структур, которые участвуют в энзиматической трансформации.

В данном проекте по диагностике 16 патогенов центральной нервной системы (*Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *Candida albicans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, EBV, HSV1, HSV2, CMV, VZV, Human herpes virus 6, Coxsackievirus) использовался метод изотермической амплификации SPA, способный к мультиплексному варианту амплификации. Данный метод был совмещен с детекцией уникальными, созданными для каждого патогена отдельно колориметрическими ДНК-наносенсорами, способными к расплетанию двуцепочечной ДНК при комнатной температуре. Данная технология является уникальным и новым методом диагностики. Изотермическая амплификация SPA требует для своего осуществления только поддержание определенной температуры, а использование ДНК-наносенсоров позволяет идентифицировать конкретные комплементарные им последовательности с визуальным сигналом. Применение ДНК-наносенсоров, является по сути методом дополнительного контроля полученного фрагмента одновременно с визуализацией сигнала.

Разработанная технология была интегрирована в прототип автоматического диагностического устройства, с помощью которого в течение двух часов можно с высокой точностью обнаружить наличие или отсутствие указанных выше патогенов в спинномозговой жидкости пациентов.

В настоящее время проводятся клинические испытания диагностической системы, успешная реализация которых обеспечит формирование научной базы для разработки point-of-care тест-систем для диагностики широкого спектра возбудителей.