

**КОМПЛЕКС ПРИБОРОВ И МЕТОДОВ  
ДЛЯ БИОЧИПОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ.  
ПРОЕКТ № 126**

**Координатор:** акад. Власов В. В.

**Исполнители:** ИХБФМ, КТИ ПМ, ИФП, ЛИИ СО РАН

**Цель** проекта — создание новых технологий, методов и приборов для исследований в области молекулярной биологии и медицинской диагностики.

1. Разработана принципиально новая стратегия гибридного анализа ДНК, основанная на использовании «минизондов» — *сосставных* и *«сшитых»* тандемов коротких олигонуклеотидов, комплементарных участку анализируемой ДНК. Показано, что «минизонды» более чувствительны к SNP и точечным мутациям в структуре ДНК, по сравнению с обычно используемыми протяженными олигонуклеотидами.

Разработанная методология является универсальной, поскольку позволяет определять любые точечные мутации и SNP в последовательностях ДНК.

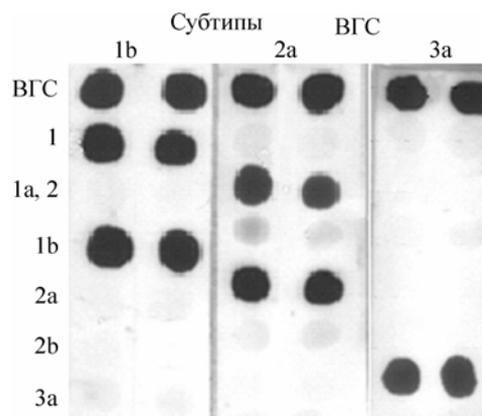
2. Разработаны и внедрены в ЦКБ СО РАН тест-системы выявления и генотипирования вируса гепатита С (ВГС). Разработанные тест-системы *обеспечивают* высокую чувствительность, достоверность и экономичность анализа и пригодны для широкого использования в медицинской практике.

3. Разработана технология получения микроканальных кремниевых матриц, пригодных для иммобилизации олигонуклеотидов.

4. Разработан новый тип нанокompозитного покрытия для стеклянных слайдов, пригодных для создания ДНК-чипов.

5. Разработан *универсальный* подход к созданию ДНК-чипов на различных твердых подложках (стекло, нейлон, лавсан, золото, полистирол, кремний и пр.), основанный на использовании полиаминсодержащих олигонуклеотидных конъюгатов. Показана применимость созданных ДНК-чипов для детекции ПЦР

фрагментов ДНК. На созданных ДНК-чипах можно детектировать 5—10 фемтомолей вещества.



*Рис. 1.* Типичные результаты выявления и генотипирования ВГС с использованием капронового «биочипа» (5 × 15 мм), несущего набор типоспецифичных зондов.

*Fig. 1.* The typical results of the revealing and genotyping of HCV using the nylon «biochip» (5 × 15 mm) bearing the set of type-specific probes.



*Рис. 2.* Внешний вид ДНК-сенсора.

*Fig. 2.* DNA sensor.

6. Создана лабораторная модель оптико-поляризационного ДНК-сенсора. Показано, что он пригоден для детекции ДНК-фрагментов с применением стеклянных ДНК-чипов, созданных по разработанной авторами технологии.

Чувствительность биосенсора составляет 1—100 фемтомолей вещества. После усовершенствования прибора по ряду параметров он может быть использован в медицинской практике.

### Основные публикации

1. *Pyshnaya I. A., Pyshnyi D. V., Lomzov A. A., Zarytova V. F., Ivanova E. M.* The influence of the non-nucleotide insert on the hybridization properties of oligonucleotides// *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*. 2004. V. 23, N 6—7. P. 1065—1071.
2. *Kabilov M., Pyshnyi D., Dymshits G., Zarytova V., Ivanova E.* A new approach to revealing point mutations in DNA analyzed by colorimetric detection// *Ibid.* P. 1023—1030.
3. *Levina A., Mikhaleva E., Zarytova V.* Preparation of DNA chips using polyamine-oligonucleotide conjugates// *Ibid.* P. 931—934.
4. *Annenkov V. V., Danilovtseva E. N., Filina E. A., Mikhaleva A. I., Skotheim T. A., Trofimov B. A.* Sol-Gel synthesis. Reaction of poly (vinyl butyral) with tetraethyl orthosilicate: Grafting of siloxane chains// *Polymer International*. 2004. V. 53, N 6. P. 772—776.

### Патенты

1. *Зарытова В. Ф., Левина А. С., Михалева Е. А.* Получение ДНК-чипов. Патент РФ № 2236467, приоритет от 14.04.2003.
2. *Скобельцына Л. М., Пышный Д. В., Иванова Е. М., Пышная И. А., Дымищ Г. М., Зарытова В. Ф.* Способ определения однонуклеотидных замен в известных последовательно-
- стях нуклеиновых кислот. Патент на изобретение № 2247781, приоритет от 10.03.2005.
3. *Пышный Д. В., Иванова Е. М., Пышная И. А., Зарытова В. Ф.* Способ выявления анализируемой последовательности ДНК. Патент на изобретение № 2259402, приоритет от 16.09.2003.