

Основные результаты I этапа проекта

В ходе выполнения проекта по Соглашению о предоставлении субсидии от 17 июня 2014 года №14.574.21.0028 с Минобрнауки России в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» на этапе 1 в период с 17 июня по 31 декабря 2014 года выполнялись следующие работы:

составлен аналитический обзор современной научно-технической, нормативной, методической литературы, затрагивающей научно-техническую проблему;

проведены патентные исследования; разработаны теоретические подходы к созданию бактериальных клеток-репортеров и создана генетическая конструкция; разработана топология микрожидкостного чипа;

проведен скрининг образцов почв, донных отложений, воды, загрязненных полихлорированными бифенилами (ПХБ), с оценкой концентрации ПХБ аналитическими методами; подобраны условия использования экстрактов из загрязненных ПХБ образцов почвы, донных образцов, воды при применении микрожидкостной технологии.

При этом были получены следующие результаты. На основании обзора литературных данных и анализа патентных исследований были сделаны выводы об отсутствии в настоящее время патентов, которые могут препятствовать применению в Российской Федерации биосенсоров для детекции и мониторинга полихлорированных бифенилов (ПХБ) в компонентах окружающей среды с использованием бактериальных клеток и микрожидкостного чипа, а также о наличии ряда преимуществ разрабатываемого биосенсора перед известными способами определения ПХБ в окружающей среде. Предложены теоретические подходы к созданию бактериальных клеток-репортеров для детекции ПХБ при использовании в микрожидкостном чипе (МЖЧ). В процессе работы над созданием клеток *E. coli* с репортерным генным слиянием для детекции ПХБ исходный алгоритм их конструирования был заменён более эффективным. Полученное генное слияние с использованием метода гомологичной рекомбинации было перенесено в хромосому *E. coli*. Отбор целевых клонов производили по устойчивости к ампициллину, в связи с чем в настоящий момент ведутся работы по удалению из хромосомы *E. coli* гена устойчивости к этому антибиотику.

Разработана методология изготовления МЖЧ, по технологии мягкой литографии изготовлен мастер для реплицирования МЖЧ, создан общий чертеж образца МЖЧ. Проведены экспериментальные работы и разработана методика подготовки

биологических образцов (клеток *E. coli* в «агарозных бусинах»). Изготовлена партия МЖЧ, проведены экспериментальные работы по иммобилизации «агарозных бусин» в МЖЧ, составлено методическое указание. Запущен процесс тестирования биоселективного элемента биосенсора на определение времени биологической активности бактерий *E. coli*, заключенных в «агарозных бусины» при температуре -20°C. Изучена возможность использования гексана, как экстрагента ПХБ из компонентов окружающей среды, в МЖЧ с иммобилизованными бактериальными клетками-репортерами. При скрининге 27 проб в образцах почвы, донных отложений и воды, отобранных с территорий бывшего производства галогенсодержащих соединений (г. Чапаевск, Самарской области) были обнаружены ПХБ в количестве от 3,6 до 17,9 раз превышающем предельно допустимые концентрации.

Полученные за отчетный период результаты свидетельствуют об успешном завершении работ по этапу 1 проекта.

Комиссия Минобрнауки России признала обязательства по Соглашению на отчетном этапе исполненными надлежащим образом.

Проект реализуется сотрудниками кафедры ботаники и генетики растений биологического факультета, кафедры общей физики физического факультета и лаборатории молекулярной биологии и генетики ЕНИ ПГНИУ.