

## **Информация о проекте, выполняемом в рамках проектной части государственного задания в сфере научной деятельности**

Задание № 16.1812.2014/К от 17.07.2014 г.

Тема: Исследование методов обнаружения патогенных микроорганизмов с использованием специфических наносенсоров

Приоритетное направление: Рациональное природопользование

Критическая технология: Биокаталитические, биосинтетические и биосенсорные технологии

Период выполнения: 17.07.2014 г. – 31.12.2016 г.

Исполнитель: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный университет нефти и газа (национальный исследовательский университет) имени И.М. Губкина» (НИЛ «Центр нанодиагностики»)

Ключевые слова: контрастирование, иммобилизация, микроорганизм, нанобиозонд, наночастицы металлов

Научный руководитель: Новиков Андрей Александрович

**1. Цель проекта:** исследование контрастирования и иммобилизации микроорганизмов с помощью нанобиозондов – функционализированных наночастиц металлов. Обнаружение патогенных микроорганизмов необходимо проводить не только в целях клинической диагностики, но и в сфере контроля качества пищевых продуктов, воды и для анализа объектов окружающей среды.

### **2. За 2014-2015 гг. проведены следующие работы:**

- Получение лабораторных образцов нанобиозондов;
- Исследование характеристик полученных нанобиозондов (дзета-потенциал, плотность прививки);
- Разработка рекомендаций по модификации поверхности оптически активных наночастиц металлов молекулами, селективными к различным группам микроорганизмов;
- Получение изображений микроорганизмов, контрастированных нанобиозондами, методами оптической и электронной микроскопии;
- Проведение спектральных исследований контрастирования микроорганизмов при помощи нанобиозондов, селективных к различным типам микроорганизмов и обладающих различными оптическими характеристиками;
- Проведение экспресс-определения устойчивости микроорганизмов к различным группам антибиотиков с помощью нанобиозондов;
- Разработка рекомендаций по выявлению типа микробиологического заражения в жидкой среде при помощи разработанных специфичных наносенсоров.

### **3. Основные результаты по проекту:**

Были получены лабораторные образцы нанобиозондов – суспензии ГКР-активных наночастиц металлов, модифицированных антибиотиками. Исследована ГКР-активность нанобиозондов с модельными аналитами – кристаллическим фиолетовым, метиленовым синим, меркаптобензойной кислотой.

Были получены зависимости дзета-потенциала (характеристики стабильности суспензий) модифицированных наночастиц от природы модифицирующего вещества и исходного стабилизатора. Было установлено, что наибольший дзета-потенциал (16,3...17,9 мВ) достигается при модификации наночастиц HS-PEG-COOH при pH=8,5 или при модификации наночастиц меркаптобензойной кислотой при pH=7,0. Результаты расчета плотности прививки модификатора показывают, что в случае прививки молекул HS-PEG-COOH (MM=3000) плотность прививки модификатора достигает около 0,1 молекул/нм<sup>2</sup>.

Были разработаны рекомендации по модификации поверхности оптически активных наночастиц металлов молекулами, селективными к различным группам микроорганизмов.

В ходе выполнения второго этапа проекта были успешно получены нанозонды и проведено контрастирование ими модельных микроорганизмов: Грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* DSM20231, *Bacillus mycoides* B-789, *Bacillus thuringiensis var. cereus* B-439, *Micrococcus luteus* Ac-2236 и Грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* JF-238. Было установлено, что наилучшими контрастирующими агентами являются наночастицы металлов с положительным дзета-потенциалом.

Были получены спектры гигантского комбинационного рассеяния модельных микроорганизмов при помощи нанобиозондов, обладающих различными оптическими характеристиками. В спектрах микроорганизмов методом изотопной метки идентифицированы диагностически важные пики при сдвигах 655, 730, 960, 1090 и 1323 см<sup>-1</sup>. Предположительно, данные пики в спектрах соответствуют колебаниям азотистых оснований (аденина, гуанина).

В результате проведенных работ были разработаны рекомендации по выявлению типа микробиологического заражения в жидкой среде при помощи разработанных специфичных наносенсоров. В качестве основы для перспективной подложки для получения спектров микроорганизмов выбран галлуазит – дешевый природный алюмосиликатный материал с развитой поверхностью. Рекомендуется также создание базы данных их спектров ГКР на различных подложках для возможности экспресс-определения типа бактериального загрязнения в различных объектах (вода, воздух, продукты питания).

Публикации по проекту:

1) Vinokurov, V.A., Kopitsyn, D.S., Kotelev, M.S., Ivanov, E.V., Lvov, Y.M., & Novikov, A.A. (2015) Natural Ceramic Nanotube Substrates for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy // *JOM*, 67, p. 2877-2880. DOI:10.1007/s11837-015-1494-5

2) М.В. Горбачевский, Д.С. Копицын, И.А. Тиунов, М.С. Котелев, В.А. Винокуров, А.А. Новиков (2016) Синтез биметаллических наночастиц золота–серебра с иницированием зародышеобразования *in situ* // *Russian Journal of Physical Chemistry A* (в печати)

#### **4. Назначение и предполагаемое использование результатов проекта:**

Предполагаемое использование – диагностика бактериальных инфекций, экспрессное обнаружение бактериальных загрязнений в продуктах питания, воде, объектах окружающей среды. Лабораторные образцы нанобиозондов будут использованы для создания тест-систем для обнаружения микроорганизмов.