

## Оптимизация мультиплексной амплификации и детекции нуклеиновых кислот патогенов центральной нервной системы

Научный руководитель – Кошель Елена Ивановна

Шкоденко Л.А.<sup>1</sup>, Мальцева Ю.И.<sup>2</sup>, Рубель М.С.<sup>3</sup>

1 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: shkodenko@scamt-itmo.ru*; 2 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: y\_maltseva@scamt-itmo.ru*; 3 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: rubel@scamt-itmo.ru*

Инфекции центральной нервной системы (ЦНС) потенциально опасны для жизни и вызываются такими патогенными микроорганизмами как бактерии, вирусы и грибы. Быстрая диагностика и лечение инфекций ЦНС имеет решающее значение для сохранения жизни пациента, так как данные заболевания вызывают высокий уровень смертности. Существующие на данный момент методы диагностики имеют ряд ограничений, таких как высокая стоимость молекулярных методов и длительность микробиологических методов. В связи с этим существует необходимость в разработке технологии, которая позволила бы снизить стоимость и время исследований.

Целью данной работы явилась оптимизация процесса экстракции, мультиплексной изотермической амплификации NASBA и мультиплексной детекции нуклеиновых кислот патогенов центральной нервной системы.

В работе была использована культура *Escherichia. coli* ATCC 25922 и клинические изоляты *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*. Для оптимизации процесса выделения РНК использовали несколько лизирующих буферов, самым оптимальным из которых оказался буфер состоящий из 0,25% SDS и 50 мМ NaOH. Сорбция РНК из лизирующего буфера проходила на наночастицы магнетита, синтезированного лабораторией нанофармацевтики института SCAMT, Университет ИТМО. В состав мультиплексной реакции NASBA входили праймеры для каждого из пяти патогенов и РНК каждого из патогенов, параллельно происходила амплификация всех патогенов одновременно. Детекция амплифицированных продуктов проводилась с помощью уникальных дезоксирибозимных бинарных сенсоров и подтверждалась в 2% агарозном геле.

В результате работы был подобран оптимальный лизирующий буфер для быстрой экстракции нуклеиновых кислот. Была произведена оптимизация мультиплексной амплификации NASBA для пяти патогенов. Электрофоретический анализ продуктов амплификации показал наличие ампликонов в каждом из вариантов мультиплекса. В результате оптимизации мультиплексной детекции были подобраны сенсоры, обладающие высокой специфичностью к анализатам.

В дальнейшем планируется оптимизация процессов амплификации и детекции на вирусных мишенях. Данная технология может стать основой для создания тест-систем для детекции патогенов центральной нервной системы.