Облікова картка ДіР

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0219U001826

Державний реєстраційний номер: 0116U002208

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 06-03-2019

II. Етап виконання ДіР

Номер етапу: 3

Назва етапу: Тестування створених ензиматичних та біосенсорних методів аналізу креатиніну на реальних клінічних зразках біологічних рідин

Початок етапу: 01.2018

Закінчення етапу: 12.2018

Вид звітного документа: Остаточний звіт

III. Відомості про виконавця ДіР

Повне найменування юридичної особи (або ПІБ фізичної особи): Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, буд. 14/16, м. Львів, Львівська обл., 79005, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Розмір організації:

Телефон: 380322612108, 380322728508, 380322740363

IV. Відомості про співвиконавців ДіР

V. Відомості про замовника ДіР

Повне найменування юридичної особи (або ПІБ фізичної особи): Національна академія наук України

Код за ЄДРПОУ: 00019270

Місцезнаходження: вул. Володимирська, буд. 54, м. Київ, 01601, Україна

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Розмір організації:

Телефон: 380442343243

VI. Джерела, напрями та обсяги фінансування ДіР

Підстава для проведення ДіР: 34 - договір (замовлення) з центральним органом виконавчої влади, академією наук (головними розпорядниками бюджетних коштів на проведення НДДКР)

Напрям фінансування: 2.2 - прикладні дослідження і розробки

Джерела фінансування

7713 - кошти держбюджету

Код програмної класифікації видатків і кредитування (КПКВК): 6541030

Фактичний обсяг фінансування (тис. грн.): 788.183

VII. Відомості про ДіР

Назва роботи українською:

Створення нових біосенсорних та ензиматичних методів визначення вмісту креатиніну як біомаркера функціонального стану нирок та контролю процесу гемодіалізу.

Назва роботи англійською:

Development of new biosensor and enzymatic methods for determination of the content of creatinine as a biomarker of kidney function and control process of hemodialysis.

Реферат українською:

Об'єкт дослідження: рекомбінантні ферменти біоаналітичного значення, біосенсорний аналіз, ензиматичний аналіз, креатинін, біологічні зразки. Мета роботи: оптимізація біосенсорного та ензиматичного методів аналізу креатиніну на реальних клінічних зразках біологічних рідин для оцінки функціонального стану нирок та ефективності гемодіалізу. Методи дослідження: біохімічні, хроматографічні, біоелектрохімічні та ензимологічні методи, підходи білкової хімії та аналітичної біотехнології. У результаті проведеної роботи: За використання КДІ та спектрофлуорометричного методу моніторингу продукту ензиматичної реакції (йонів амонію) проведено оптимізацію одночасного аналізу креатиніну та аміаку в сироватках крові людини. На основі КДІ та наночастинок Zn(Hg)S/Cu сконструйовано амперометричний біосенсор для кількісного визначення креатиніну. Створений біосенсор характеризується високою селективністю та чутливістю до креатиніну (90,8 ± 2,8 А?М-1?м-2). Лінійний діапазон біосенсора спостерігається в діапазоні від 0,03 мМ до 3,5 мМ із нижньою межею визначення креатиніну 20 мкМ. За використання альтернативної амоній-чутливої хемосенсорної мембрани - на основі електроосадженого поліаніліну (ПАНі) у комплексі із Нафіоном - сконструйовано інший біосенсор із вищою чутливістю до креатиніну (424 ± 20 А?М-1?м-2). Лінійний діапазон біосенсора спостерігається в межах від 0,015 мМ до 0,9 мМ із нижньою межею визначення креатиніну - 12 мкМ. Розроблені біосенсори на основі рекомбінантної КДІ успішно апробовано для одночасного аналізу креатиніну та амонію в реальних зразках сироваток крові. Порівняльний аналіз результатів визначення креатиніну в зразках сироватки крові пацієнтів із порушеною функцією нирок до та після проведення процедури гемодіалізу розробленими біосенсорним на ензиматично-флуорометричним методами показав високий рівень кореляції аналітичних даних (R = 0,998), що свідчить про надійність і точність запропонованих підходів. Створено лабораторний прототип біоаналітичного набору для ензиматично-флуориметричного аналізу креатиніну та амонію в біологічних рідинах людини, оптимізовано склад компонентів набору та опрацьовано Інструкцію використання набору.

Реферат англійською:

The object of research: recombinant enzymes of bioanalytical significance, biosensor analysis, enzymatic analysis, creatinine, biological samples. The aim of investigations: optimization of biosensor and enzymatic methods of creatinine analysis on real clinical samples of biological fluids for assessing the functional state of the kidneys and the effectiveness of hemodialysis.Methods: biochemical, chromatographic, bioelectrochemical and enzimological methods, approaches of protein chemistry and analytical biotechnology. The results of the work: By the use of CDI and spectrofluorimetric method for monitoring the product of the enzymatic reaction (ammonium ions), optimization of simultaneous analysis of creatinine and ammonia in human blood serum was performed. The optimization parameters were concentrations of CDI, o-phthaldehyde, EDTA, the type of buffer system, the method of preparation of samples for analysis. An amperometric biosensor for quantitative determination of creatinine was constructed on the basis of CDI and Zn(Hg)S/Cu nanoparticles. The created biosensor is characterized by a high selectivity and sensitivity to creatinine (90.8 ± 2.8 A ? M-1 ? m-2). The linear range of the biosensor is observed in the range from 0.03 mM to 3.5 mM with a low limit of determination for creatinine 20 ?M. Another biosensor with a higher sensitivity to creatinine (424 ± 20 A ? M-1 ? m-2) was constructed by the use of an

alternative ammonium-sensitive chemosensory membrane - electrodeposited polyaniline (PAN) in a complex with Nafion. The linear range of the biosensor is observed from 0.015 mM to 0.9 mM with a low limit of determination for creatinine 12 ?M. The developed biosensors, based on recombinant CDI, have been successfully tested for simultaneous analysis of creatinine and ammonium in real samples of blood serum. A comparative analysis of the results of creatinine determination in serum samples of patients with impaired renal function before and after the hemodialysis procedure by the use of biosensor and enzymatic-fluorimetric methods showed a high level of correlation of analytical data (R = 0.998), which evidences the reliability and accuracy of the proposed approaches. A laboratory prototype of the bioanalytical kit for enzymatic-fluorimetric analysis of creatinine and ammonia in biological human fluids was created, the composition of the components was optimized and the Manual for the use of the kit was proposed.

Індекс УДК: 577.21:576.314;576.52;577.352, 543.94+547.495.9+577.152.35

Коди тематичних рубрик: 34.15.37

Керівники роботи

Власне Прізвище Ім'я По-батькові: Гончар Михайло Васильович

Науковий ступінь: д. б. н.

Вчене звання: професор

Ідентифікатор ORCID ID:

Додаткова інформація:

VIII. Наукова (науково-технічна) продукція (НТП)

Назва НТП українською: Створення нових біосенсорних та ензиматичних методів визначення вмісту креатиніну як біомаркера функціонального стану нирок та контролю процесу гемодіалізу

Назва НТП англійською: Development of new biosensor and enzymatic methods for determination of the content of creatinine as a biomarker of kidney function and control process of hemodialysis.

НТП, яку передбачалося створити:

Причини, через які НТП не було створено:

Отримані результати:

Галузь застосування: Дослідження та розробки в галузі природничих та технічних наук

Реєстраційний номер картки технології:

Опис НТП: Біоаналітичні методи на основі ферментів та генетично модифікованих клітин

Соціально-економічна спрямованість НТП:

Вплив НТП на довкілля:

Впровадження НТП: Не впроваджено

Практична реалізація НТП

Початок етапу: -

Закінчення етапу:

Споживачі продукції: -

Перспективні ринки: -

Характер співробітництва з інвестором

Потрібний обсяг інвестицій, тис. грн.:

Права, що надаються інвестору після завершення роботи:

Наявність бізнес-плану:

Техніко-економічне обгрунтування:

Потенціальний обсяг продажу, тис. грн.:

Очікуваний термін окупності (років):

Додаткова інформація:

IX. Бібліографічний опис

Список статей співробітників відділу аналітичної біотехнології Інституту біології клітини НАН України за 2018 рр.: 1.Kavetskyy T., Smutok O., Gonchar M., Sausa O., Kukhazh Y., Svajdlenkova H., Petkova T., Boev V., Ilcheva V. Ureasil-based polymer matrices as sensitive layers for the construction of amperometric biosensors / In book: Advanced Nanotechnologies for Detection and Defence against CBRN Agents (NATO Science for Peace and Security Series B Physics and Biophysics). - Chapter 30. - Springer, 2018. - P. 309-316. 2.Stasyuk N., Gayda G., Zakalskiy A., Zakalska O., Errachid A., Gonchar M. Highly selective apo-arginase based method for sensitive enzymatic assay of manganese (II) and cobalt (II) ions / Spectrochim. Acta Part A: Molecular and Biomolecular

Spectroscopy. - 2018. - V.193. - P. 349-356. 3.Zakalskiy A., Stasyuk N., Gonchar M. Creatinine Deiminase: Characterization, Using in Enzymatic Creatinine Assay, and Production of the Enzyme // Current Protein & Peptide Science (available online from 13 Nov 2018): http://www.eurekaselect.com/167349/article; DOI: 10.2174/1389203720666181114111731. 4.Smutok O., Karkovska M., Prokopiv T., Kavetskyy T., Sibirnyj W., Gonchar M. D?lactate?selective amperometric biosensor based on the mitochondrial fraction of Ogataea polymorpha recombinant cells // Yeast (available online from 6 Dec 2018) https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/yea.3372; DOI: https://doi.org/10.1002/yea.3372. 5.Смуток О. В., Карковська М. І., Прокопів Т. М., Гончар М.В. Оптимізація синтезу та розробка схеми очистки D-лактат:цитохром с оксидоредуктази рекомбінантного штама дріжджів Ogataea (Hansenula) polymorpha "tr6" / Біологічні Студії (Studia Biologica). - 2018. - Вип.12, №1. - С. 5-16. 6.Смуток О., Карковська М., Стасюк Н., Гончар М. Виділення, очистка, стабілізація та характеристика флавоцитохрому b2 із клітин надпродуцента Ogataea polymorpha "tr1" (gcr1 catX CYB2) / Вісник Львівського університету. Серія біологічна. - 2018. - Вип.77. - С. 3-15. Патент України A201702216 "Флуориметричний ензиматично-хімічний метод одночасного визначення вмісту L-аргініну та L-цитруліну в крові" / Стасюк Н.Є., Гайда Г.З., Фаюра Л.Р., Сибірний А.А., Гончар М.В.; МПК G01N21 (2006.1) G01N 33/52 (2006.01). Подано 09.03.2017. Опубл. 10.09.2018, бюл. №17.

X. Заключні відомості

Керівник юридичної особи

Сибірний Андрій Андрійович
д. б. н., 03.00.07, 03.00.11

Перелік осіб-виконавців

Іваш М. Ф.

Гайда Г. З.

Демків О.М.

Закальська О.М.

Закальський А.Є.

Куцяба В.І.

Прокопів Т.М.

Серкіз Р.Я.

Смуток О.В.

Стасюк Н. Є.

Стасюк Н.Є.

Відповідальний за підготовку облікових документів

Телефон

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності