

# RAPORT STIINTIFIC SI TEHNIC

## Aplicarea de tehnici laser pentru fabricarea de biosenzori pe baza de sisteme microfluidice de detectie in timp real (*SOLE*)

### Rezumat

**Denumire etapa:** Etapa I/2014 intermediara cu activitatile:

- Studiu bibliografic: investigarea proceselor de microfabricare a dispozitivelor microfluidice, elementelor de incalzire, protocolului de amplificare a ADN-ului, metodelor de functionalizare a suprafetelor.
- Design-ul primerilor ce vizeaza secvente specie-specifice in genomul E-coli si Staphylococcus Aureus.
- Coordonarea stiintifica a proiectului.

**Valoarea** alocata proiectului de la bugetul de stat pentru 2014: 88.000 lei.

### Concluzii

In concluzie, se poate afirma ca obiectivele primei etape au fost atinse. In cadrul acestei etape s-au obtinut urmatoarele rezultate:

- Materialele si substratele ce vor fi folosite pentru fabricarea dispozitivului microfluidic au fost alese: PDMS, PMMA si sticla.
- De asemenea au fost studiate metodele de scriere directa cu laserul a canalelor microfluidice: vor fi folositi laseri cu nanosecunde, Nd:YAG si ArF (193 nm).
- Au fost stabilite metodele de realizare a elementelor de incalzire, metodele de functionalizarea a substraturilor, precum si protocolul de amplificare a ADN-ului.
- Primerii selectati pentru protocolul de real-time PCR aplicat in detectia *E. coli* tintesc gena *uidA*. Aceasta gena codifica  $\beta$ -D-glucuronidaza, este prezenta in exclusivitate la *E. coli* si *Shigella* (organisme care prezinta o inalta omologie genetica) si a fost identificata la majoritatea tulpinilor speciei (94-96%). Pentru situatia tulpinilor *uidA*-negative s-a ales ca tinta alternativa gena *yccT*, un alt determinat cu o structura inalt conservata in cadrul speciei, care codifica o proteina a carei functie nu este inca elucidata. Primerii conceputi vor putea fi folositi atat in varianta TaqMan, cat si cu coloranti nespecifici tip SYBR Green, ceea ce confera flexibilitate protocolului de amplificare.
- Pentru *Staphylococcus aureus* am ales primerii pentru urmatoarele gene: nuc (pt. identificarea *S. aureus*), orfX (open reading frame X – pentru reducerea numarului de tulpini fals pozitive in zonele cu endemicitate MRSA ridicata), mecA (gena de rezistenta la meticilina), lukS/F (gena pentru leucocidina Panton-Valentine – factor de virulenta).
- A fost lansata o sectiune in website-ul grupului PPAM pentru a creste vizibilitatea asupra proiectului.
- La elaborarea acestui proiect au participat toti partenerii implicati in proiect.