

Дорожко Е.В., Липских О.И., Короткова Е.И.
(Национальный исследовательский
Томский политехнический университет г. Томск)

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЕ ИММУНОСЕНСОРЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОКОНЬЮГАТОВ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ФАРМПРЕПАРАТОВ

Контроль качества лекарственных препаратов (ЛП), содержащих антитела и антигены человека и животных, является обязательным и играет важную роль в системе национальной безопасности страны. В работе разработаны вольтамперометрические иммуносенсоры с использованием конъюгатов антивидовых антител, маркированных коллоидным серебром $Ab@НЧАg$ для анализа ЛП, содержащих антитела и антигены. Введение маркеров на основе золей серебра имеют перед ферментными маркерами ряд преимуществ, такие как: получение НЧ предельно просто; связывание НЧ Ag с иммуноглобулинами производится щадящим сорбционным способом с минимальными потерями биологического материала; полученные конъюгаты с НЧ Ag стабильны в относительно широком диапазоне физико-химических условий; НЧ Ag в качестве маркеров более доступны, чем ферменты [1].

Предложено несколько форматов электрохимических иммуносенсоров. Для контроля качества ЛП «Иммуноглобулин против клещевого энцефалита» (ФГУП «НПО «Микроген») использовали золото-углеродсодержащий электрод (ООО «НПП «Томьаналит»), на поверхности которого был иммобилизован специфичный антиген по схеме непрямого неконкурентного твердофазного анализа антител (АО «Вектор-Бест»). После связывания $Ab@НЧАg$ с поверхностью сенсора, сигнал от серебряной метки конъюгата регистрировали методом катодной инверсионной вольтамперометрии (КИВ) при следующих условиях: фоновый электролит – 0,1 М KNO_3 , 0,1 М HNO_3 , 0,01 М KCl ; диапазон потенциалов регистрации сигнала от $-0,2$ В до $+0,6$ В; $v = 0,1$ В/с, $E_{нак} = -0,6$ В, $t_{нак} = 60$ с [2]. Аналогичным способом было определено содержание антител против вируса гепатита А (ВГА) в контрольных модельных образцах сыворотки крови кроликов (АО «Вектор-Бест»). Другие виды электрохимических иммуносенсоров связаны с иммобилизацией биологического материала в лунках титровального планшета. Разработаны вольтамперометрические сенсоры по типу

непрямого неконкурентного «сэндвич» формата для определения антигена клещевого энцефалита и овальбумина в ЛП – вакцине [32]. Для увеличения чувствительности электрохимических сенсоров после связывания конъюгатов $Ab@НЧAg$, $Ab@НЧАu$ с антигеном биорецепторного слоя в лунки титровального планшета вводили по 100 мкл 0,5% раствора $AgNO_3$ и 1% раствор восстановителя – метола. Время восстановления серебра на НЧ Ag и Au конъюгатов составило 2 мин. После промывок лунок планшета от несвязанных компонентов, серебро растворяли смесью $CH_3COOH:HNO_3$ (1:1) и переносили в электрохимическую ячейку. Вольтамперометрические условия регистрации сигнала серебра: рабочий электрод – графитовый дисковый электрод (диаметр 4 мм) (ООО «ЮМХ», г.Томск); фоновый электролит – 0,1 М KNO_3 ; диапазон потенциалов регистрации сигнала от -0,2 В до +0,6 В; $v=0,1$ В/с; $E_{нак} = -0,6$ В; $t_{нак}=60$ с.

Разработанные электрохимические иммуносенсоры могут являться альтернативой традиционно-используемому методу ИФА в диагностических лабораториях. Замена традиционно используемых в ИФА ферментных меток на коллоидное серебро в перспективе позволит значительно удешевить процедуру анализа биологических препаратов, а также упростить технологию хранения реагентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Khristunova, Y., Korotkova, E., Kratochvil, B., Berek, J., Dorozhko, E., Vyskocil, V., Plotnikov E., Voronova O., Sidelnikov, V. Preparation and Investigation of Silver Nanoparticle-A ntibody Bioconjugates for Electrochemical Immunoassay of Tick-Borne Encephalitis // *Sensors*, 2019, V.19(9), P. 2103–2113. doi:10.3390/s19092103
2. Khristunova, E., Berek, J., Kratochvil, B., Dorozhko, E., Korotkova, E., Vyskocil, V., Electrochemical immunoassay for the detection of antibodies to tick-borne encephalitis virus by using various types of bioconjugates based on silver nanoparticles // *Bioelectrochemistry*, 2020. doi.org/10.1016/j.bioelechem.2020.107576
3. Христунова Е.П., Дорожко Е.В., Короткова Е.И., Кратохвил Б. Исследование электрохимических свойств наночастиц серебра, конъюгированных с антителами к вирусу клещевого энцефалита, для разработки электрохимического иммуносенсора // *Изв. вузов. Химия и хим. технология*, 2020, Т. 63. № 4, С 28–33. doi: 10.6060/ivkkt.20206304.6160