

лата – в воздухе. Для синтеза полимеров использованы два различных функциональных мономера – акриламид и метакриловая кислота, взятые в различных соотношениях с темплатом (1:1, 2:1 и 3:1). В качестве сшивающего агента применялся этиленгликольдиметакрилат, инициатором полимеризации служил азобисизобутиронитрил; реакцию проводили в среде этанола. Полученные полимеры измельчали и просеивали на ситах с диаметром 40 мкм, после чего удаляли темплат промыванием хлороформом. Рецепторные покрытия сенсоров наносили на серебряные электроды пьезокварцевого резонатора в виде суспензии полимера и поливинилхлорида в тетрагидрофуране с последующим испарением растворителя.

Аналитический сигнал сенсора регистрировали по дифференциальной схеме относительно сенсора сравнения на основе полимера, полученного без добавления темплата (для исключения влияния неспецифической сорбции компонентов воздуха). Взаимодействие динонилфталата с сайтами связывания полимера протекает аналогично реакции антиген - антитело, поэтому для исследования кинетики связывания использован метод Скетчарда. Линейный характер зависимости в координатах Скетчарда указывал на энергетическую однородность сайтов связывания на полимерном покрытии сенсора. Исследована зависимость аналитического сигнала от концентрации паров динонилфталата: градуировочный график линеен в диапазоне концентраций 0,01–0,08 мкМ. Установлено, что минимальный предел обнаружения и максимальная концентрационная чувствительность определения динонилфталата наблюдается у сенсоров на основе полимеров с соотношением функциональный мономер : темплат = 2:1 (как для акриламидных, так и для метакрилатных полимеров). Регенерацию покрытия проводили промыванием поверхности сенсора этанолом до возвращения аналитического сигнала к исходному значению. Сенсор апробирован для определения динонилфталата в воздухе.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К ДНК С ПОМОЩЬЮ ПЬЕЗОКВАРЦЕВОГО ИММУНОСЕНСОРА С ПРИМЕНЕНИЕМ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ

Шашканова О.Ю., Гордиенко А.Е., Ермолаева Т.Н.
Липецкий государственный технический университет

Антитела к ДНК (Ат) являются важным серологическим маркером аутоиммунных заболеваний. Наблюдение за изменением концентрации антител к ДНК в организме человека может использоваться не только

для диагностики, но и прогнозирования течения аутоиммунных заболеваний.

Предложен пьезокварцевый иммуносенсор для ранней клинической диагностики аутоиммунных заболеваний. В качестве физического преобразователя использованы резонаторы АТ–среза с частотой колебаний в 10 МГц с серебряными или золотыми электродами. Изучены условия получения многослойного покрытия сенсора: формирование подложки (конканавалин А, γ -аминопропилтриэтоксисилан, меркаптопропионовая кислота, 11-меркаптоундеканол, L-полилизин), модификация поверхности с помощью бифункциональных реагентов (глутаровый альдегид, 1-этил-3-(3-диметиламинопропилкарбодимид) и N-гидросукцин-имид) и иммобилизация нативных или денатурированных молекул ДНК. Показано, что природа и технология получения подложки определяет массу биорецепторного слоя, и, следовательно, диапазон определяемых содержаний Аг, а также концентрацию поверхностных функциональных групп, за счет которых проводится последующая иммобилизация молекул ДНК.

Разработана методика проточно-инжекционного определения антител к ДНК в сыворотке крови. Для усиления аналитического сигнала сенсора в пробу вводили растворы коллоидного золота (Au), выдерживали с Аг для образования конъюгатов, центрифугировали и растворяли полученный преципитат в фосфатном буферном растворе. Золотые наночастицы получали восстановлением золотохлороводородной кислоты трехзамещенным цитратом натрия (размер частиц оценивали спектрофотометрическим методом). Исследована зависимость аналитического сигнала сенсора от соотношения Аг : Au в конъюгате. Анализ растворов осуществляли в режиме реального времени при пропускании пробы через ячейку детектирования, включающую пьезокварцевый иммуносенсор. В качестве раствора-носителя использовали фосфатный буферный раствор (рН =7,2). Применение Au позволило расширить диапазон определяемых содержаний до 10^5 МЕ/мл.

Методика апробирована при определении антител к ДНК в сыворотках крови больных аутоиммунными заболеваниями (системная красная волчанка, гломерулонефрит и ревматоидный полиартрит). Результаты удовлетворительно совпадают с данными, полученными методом иммуноферментного анализа. Правильность определения антител к ДНК проверена методом «введено-найдено». Разработанная методика рекомендована для анализа образцов сывороток крови для ранней диагностики аутоиммунных заболеваний.