

XII-21 ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ ИММУНОСЕНСОР ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВАКЦИН

Е. А. Бескровных, Е. В. Дорожко

*ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»,
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30*

E-mail: eab62@tpu.ru

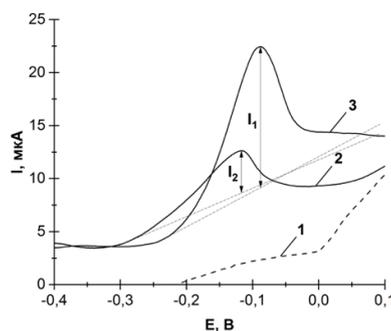
При оценке качества вакцины против вируса гепатита А (ВГА) предполагается исследование способности образования антител в организме иммунизированного животного. Чаще всего в этих целях применяется иммуноферментный анализ. Однако ферментные маркеры имеют ряд недостатков и активно заменяются более совершенными сигналообразующими метками – металлическими.

Впервые был разработан дешевый и чувствительный твердофазный электрохимический сенсор на основе печатных (SPE) электродов для задачи определения IgG кроликов в рамках оценки подлинности вакцины против ВГА. В качестве метки для регистрации сигнала в работе использовалось коллоидное золото, электрохимическое окисление/восстановление которого оказалось затруднительным вследствие пассивации поверхности электрода белками. Для усиления сигнала было использовано каталитическое восстановление меди на наночастицах золота с восстановлением коферментом НАДН [1].

На первом этапе готовый антиген к ВГА был нанесен на поверхность рабочих электродов (20 мкл) и помещен в холодильную камеру на сутки для адсорбции белка на поверхности. В качестве блокатора свободных мест связывания был нанесен 0,05% раствор бычьего сывороточного альбумина (50 мкл) и оставлен на 40 минут $T_{\text{комн}}$. Далее поверхность электродов была модифицирована IgG кролика против ВГА (K^+) и IgG против клещевого энцефалита (K^-) по 20 мкл. Инкубация проводилась при 4°C 16 часов. Последним было нанесение биоконъюгата AuSpA и его инкубация при $T_{\text{комн}}$ в течение 4 часов. После каждого этапа инкубации биологического слоя проводилась двукратная отмывка раствором ФСБ с $pH = 6,86$. Для усиления сигнала золота медью на поверхность рабочих электродов поочередно наносилось 25 мкл раствора сульфата меди 0,01М и 100 мкл раствора НАДН 0,01М, а по истечении 20 минут проведена двукратная отмывка электродов $H_2O_{\text{дист}}$.

Регистрацию тока меди проводили на приборе PalmSens (Нидерланды). Фоновый электролит – раствор KCl 0,02М / HCl 1М в общем объеме 200 мкл. Сигнал меди регистрировали методом анодной вольтамперометрии в диапазоне потенциалов $-0,4 \div +0,1$ В. Вольтамперограммы для K^- и K^+ контрольных образцов приведены на рисунке 1.

Рисунок 1. Анодные вольтамперограммы меди в фоновом электролите 0,1 М HCl/0,02 М KCl (1) для K^- (2) и K^+ (3) контрольных образцов. $E_H = -0,8$ В, $t_H = 60$ с., $v = 100$ мВ/с.



Интенсивность токов окисления меди в K^+ образце в 3,4 раза больше ($I_1 = 13,332$ мкА), чем в K^- ($I_2 = 3,969$ мкА). Таким образом, иммуносенсор позволяет регистрировать более интенсивные сигналы для положительных образцов, чем для отрицательных.

Библиографический список

1. Shlyahovsky B. // Small. 2005. Т. 1. № 2. С. 213-216.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и ЧНФ № 19-53-26001 и ГЗ «Наука» № FSWW-2020-0022.