

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ ИММУНОСЕНСОР ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВАКЦИНЫ

Е. А. Бескровных

Научный руководитель – к.х.н., доцент Е. В. Дорожко

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 30, eab62@tpu.ru

Согласно ГФ XIV (ФС.3.3.1.0029.15) для оценки качества вакцины против гепатита А (ВГА) определяют наличие IgG к ВГА у животных (мышей и кроликов) в рамках исследования иммуногенности вакцины.

Для определения IgG в современной лабораторной практике используют иммуноферментный анализ (ИФА), основанный на определении комплекса антиген-антитело с использованием ферментных конъюгатов. Однако неустойчивость, необходимость в применении специального субстрата, небольшой срок хранения ферментных маркеров вынуждают разрабатывать более совершенные метки для иммунобиологических методов [1].

Впервые был разработан дешевый и чувствительный твердофазный электрохимический сенсор на основе SPE-электродов, для задачи определения IgG кроликов в рамках исследования иммуногенности вакцины против ВГА. В работе использован конъюгат, меченный коллоидным золотом, обладающим уникальными биофизическими свойствами, дешевой и биосовместимостью. В ходе исследований было выявлено, что электрохимическое окисление/восстановление золота невозможно вследствие пассивации поверхности электрода белками. Для усиления сигнала золота было использовано каталитическое восстановление меди на наночастицах золота конъюгата с восстановлением коферментом НАДН [2].

В исследовании использован коммерческий конъюгат AuSpA – стафилококковый белок А натуральный, меченный коллоидным золотом (Sigma-Aldrich, Германия). На первом этапе готовый антиген к ВГА был нанесен на поверхность рабочих электродов в объеме 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 в объеме 50 мкл и оставлен на 40 минут при комнатной температуре. На следующем этапе поверхность электродов была модифицирована предварительно очищенными IgG кролика против ВГА (K^+) и IgG против клещевого энцефали-

та (КЭ) (K^-) по 20 мкл. Инкубация проводилась при 4 °С 16 часов. Последним этапом было нанесение готового биоконъюгата AuSpA и его инкубация при комнатной температуре в течение 4 часов. После каждого этапа инкубации биологического слоя электрохимического иммуносенсора проводилась двукратная отмывка раствором ФСБ с pH=6,86. Для усиления сигнала золота на поверхность рабочих электродов поочередно наносилось 25 мкл раствора сульфата меди 0,01 М и 100 мкл раствора НАДН 0,01 М, а по истечении 20 минут была проведена двукратная отмывка электродов $H_2O_{дист.}$ Регистрацию тока меди проводили на приборе PalmSens (Нидерланды). Фоновый электролит – раствор хлорида калия 0,02 М и соляная кислота 1 М в общем объеме 200 мкл. Сигнал меди регистрировали методом анодной вольтамперометрии в диапазоне потенциалов от -0,4 до +1,0 В при времени накопления – 60 с и потенциале накопления -0,8 В. Скорость развертки потенциала составила 100 мВ/с. Полученные вольтамперограммы для K^- и K^+ контрольных образцов приведены на рисунке 1.

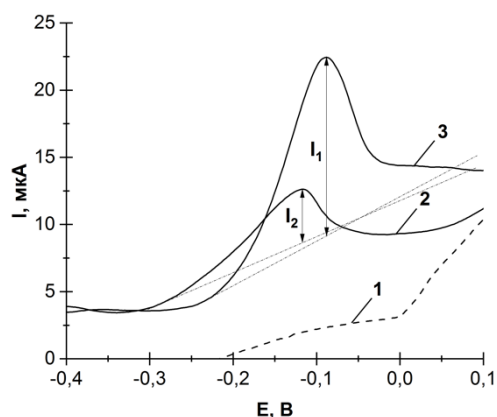


Рис. 1. Анодные вольтамперограммы меди (II) в фоновом электролите 0,1 М HCl + 0,02 М KCl (1) для K^- (2) и K^+ (3) контрольных образцов. $E_H = -0,8$ В, $t_H = 60$ с., $v = 100$ мВ/с

Согласно данным рисунка интенсивность токов окисления меди в положительных образцах в $\approx 3,4$ раза больше ($I_1 = 13,332$ мкА) чем в отрицательных контрольных образцах ($I_2 = 3,969$

мкА). Таким образом, разработан вольтамперометрический иммуносенсор, который позволяет регистрировать более интенсивные сигналы для положительных образцов, чем для отрицательных. При дальнейшей доработке данный сенсор может быть альтернативой ИФА IgG по деше-

визне, чувствительности и времени, затраченному на анализ.

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

Список литературы

1. Христунова Е. П. // *Известия высших учебных заведений. Химия и химическая технология*, 2020. – Т. 63. – № 4. – С. 28–33.
2. Shlyahovsky B. // *Small*, 2005. – V. 1. – № 2. – P. 213–216.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО СЕНСОРА НА ОСНОВЕ КОМПОЗИТНЫХ ТОКОПРОВОДЯЩИХ МАТЕРИАЛОВ

В. Богословский

Научный руководитель – д.х.н., профессор ИШПР Г. Б. Слепченко

Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, vmb3@tpu.ru

Несмотря на подавляющее доминирование традиционных методов определения органических и неорганических элементов для здоровья и экологии, в последние годы все более широкое распространение получили электрохимические подходы. Это связано с тем, что возросли потребности в аналитическом контроле объектов окружающей среды, фармацевтических препаратов и биологических объектов, что вынуждает химиков-аналитиков решать новые трудности в разработке высокочувствительных электрохимических сенсоров и методик на их основе. При изготовлении модифицированных электродов особое внимание уделяется возможности их применения для быстрого и селективного определения большого количества органических соединений в различных объектах.

Предложен новый подход разработки универсальных электрохимических сенсоров для определения широкого ряда органических веществ, таких как водорастворимые витамины (В1, В2 и С), пестицидов (на примере п-нитрофенола) и лекарственных субстанций (на примере ловастатина). Для создания сенсора нами использованы такие модификаторы, как мезопористый углерод, микропористый углерод, углеродные нанотрубки и нанопорошки оксидов металлов. Разработан способ поверхностного модифицирования существующих сенсоров, основанный на методе drop casting. В раство-

ренную полимерную матрицу поливинилиденфторида добавляется модификатор в виде многостенных углеродных нанотрубок, мезопористого углерода или нанопорошков оксидов металлов. В ходе экспериментов было выяснено влияние типа и концентрации модификаторов на чувствительность электрохимического сенсора. На основании патентного, литературного обзоров и экспериментальных данных были составлены следующие перспективные композиции:

- многостенные углеродные нанотрубки + мезопористый углерод;

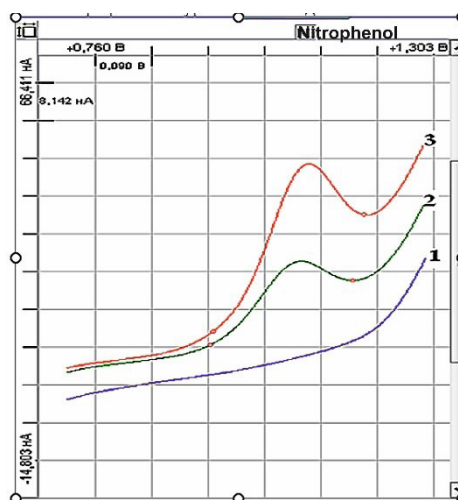


Рис. 1. Вольтамперограммы п-нитрофенола ($C = 0,2 \text{ мг/дм}^3$) на различных электродах: 1 – фон $0,1 \text{ М NaOH}$, 2 – графитовый электрод, 3 – электрохимический сенсор