

3. Smith G.N., Brown P., James C., Kemp R., Khan A.M., Plivelic T.S., Rogers S.E., Eastoe J.J. *Colloid Interface Sci.*, 2016.– V.465.– P.316–322.
4. Smith G.N., Kemp R., Pegg J.C., Rogers S.E., Eastoe J. *Langmuir*, 2015.– V.31.– P.13690–13699.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИГЕНА ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА МЕТОДОМ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

П.Г. Шевелева

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

Национальный исследовательский Томский политехнический университет  
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, polina.sheveleva.1996@mail.ru

Клещевой энцефалит (КЭ) – природно-очаговая инфекция, встречающаяся весной и летом, с пиком в мае-июне и августе-сентябре, когда клещи высоко активны. Переносчиками вируса являются иксодовые клещи – таежный и европейский. Тяжесть заболевания, которая приводит к инвалидности и летальным исходам, является причиной постоянного внимания к его профилактике и лечению. Часто используемым лабораторным методом определения КЭ является ИФА, основанный на специфическом связывании антитела с антигеном [1].

В работе предложено заменить ферментную метку на серебряную, благодаря ее уникальным физико-химическим свойствам и биоспецифическому связыванию с молекулами-мишенями и использовать непрямой формат тест-системы – сэндвич [2]. Синтез НЧ серебра проводили по методике [3]. Весь биологический материал для экспериментальных работ был взят из набора реагентов для иммуоферментного выявления антигена вируса КЭ «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Биоконъюгаты наночастиц (НЧ) серебра с противоклещевыми иммуноглобулинами Ig G (1 600 ед/мл) были получены методом пассивной сорбции. Соотношение Ig G и НЧ серебра подбиралось методом раститровки антител в полистирольном планшете при фиксированном объеме раствора НЧ серебра 100 мкл в присутствии раствора NaCl 10% 100 мкл. Была проведена очистка биоконъюгатов на высокоскоростной центрифуге Beckman Coulter при следующих условиях: 25 000 об/мин, время – 30 минут, температура – 4 °С. На первом этапе исследования контрольные образцы, содержащие антиген КЭ (K<sup>+</sup>), не содержащие его (K<sup>-</sup>) и испытуемая вакцина КЭ «ЭнцеВир» культуральная очищенная концентрированная инактивированная сорбированная были раскапаны по 75 мкл в лунки план-

шета с иммобилизованными моноклональными антителами к вирусу КЭ и инкубированы 1 час на термошейкере BioShake iQ при температуре 37 °С, скорость – 250 об/мин. После инкубирования лунки планшета были трижды промыты промывочным раствором ФСБ-Т\*25. Далее в лунки был введен предварительно синтезированный биоконъюгат, меченный серебром, в объеме по 100 мкл. Для усиления сигнала от серебра был использован 1 % раствор нитрата серебра и проявитель – ментол, который приводит к восстановлению серебра на поверхности НЧ серебра биоконъюгатов, выполняющие функции катализаторов. Образовавшийся комплекс антиген – антитело был растворен с помощью концентрированной уксусной кислоты в объеме 200 мкл. Затем весь объем переносился в электрохимическую ячейку с фоновым электролитом – нитрат калия 0,040 М и азотная кислота 0,15 М, и регистрировался сигнал окисления серебра методом инверсионной анодной вольтамперометрии в диапазоне от –0,200 до +0,600 В на анализаторе TA-Lab при таких параметрах развертки: время накопления – 80 секунд, потенциал накопления –0,600 В. Результаты интенсивности тока окисления серебра в отрицательных, положительных контрольных образцах и в испытуемой вакцине представлены в таблице 1.

Таким образом, разработанную электрохимическую тест – систему с использованием биоконъюгатов НЧ серебра с противоклещевыми иммуноглобулинами Ig G можно применять для

**Таблица 1.** Интенсивность тока окисления в исследуемых образцах

Образец	Интенсивность тока окисления серебра
Отрицательный контроль	65,0±6,5 нА
Положительный контроль	0,23±0,02 мкА
Вакцина	0,40±0,04 мкА

контроля качества вакцин к вирусу клещевого энцефалита и может быть рекомендована для

определения антигена в биологических образцах.

### Список литературы

1. Бородин Е.А. ИФА и ПЦР – современные методы клинической лабораторной диагностики // *Лабораторная диагностика*, 2012.– №22.– С.16–22.
2. *Noble Metal Nanoparticles for Biosensing Applications* / Gonçalo Doria, João Conde, Bruno Veigaset al. // *Sensors*, 2012.– V.12.– P.1657–1687.
3. Mulfinger L.; Solomon S.D.; Bahadory M.; Jeyarajasingam A.V.; Rutkowsky S.A.; Boritz C. *Synthesis 350 and study of silver nanoparticles*. *J. Chem. Educ.*, 2007.– 84.– 322–325. DOI.10.1021/ed084p322.