

ВЛИЯНИЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ НА УВЕЛИЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА НА ОСНОВЕ ПЛАЗМОННЫХ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Мельникова Я.И.¹, Коктыш И.В.¹, Кулакович О.С.², Романенко А.А.², Маскевич С.А.¹

¹*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ*

²*Институт физики им. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Описаны непростатические источники простатического специфического антигена (ПСА) как у мужчин, так и у женщин. Для исследования возможности использования ПСА в качестве биомаркера непростатических раков требуется увеличение чувствительности существующих иммунохимических тестов. Цель: разработка подхода, позволяющего интегрировать наночастицы серебра, способные усиливать флуоресценцию анализита, в стандартную процедуру иммунофлуоресцентного анализа ПСА.

Материалы и методы исследований. Для создания пленок из наночастиц серебра использовали полиэлектролиты: полидиаллилдиметиламмоний хлорид (ПДАДМАХ, 1 г/л в 0,5 моль/л хлорида натрия) и поли-L-лизин гидробромид (20 мкг/мл, Sigma, США). Серебряные наночастицы осаждали в лунки планшета как описано ранее [1-2]. Использован двуцентровый иммунофлуоресцентный анализ связывания ПСА с моноклональными антителами: иммобилизованными на твердой фазе (№10184, Abcam, США) и мечеными флуоресцеином изотиоцианатом (ФИТЦ, №178776, Abcam, США). Регистрация флуоресценции: 460 нм (возбуждение), 518 нм (эмиссия).

Результаты исследований. Поверхность пленок «наночастицы серебра-ПДАДМАХ-полистирол», организована как слой сферических наночастиц размером 30–80 нм. [1-2]. Поверхность полистирольный планшета покрывали разными способами: поли-L-лизин, ПДАДМАХ, «ПДАДМАХ – наночастицы серебра – поли-L-лизин», «ПДАДМАХ – наночастицы серебра-ПДАДМАХ». В качестве контроля – интактная поверхность полистирола. Установлено, что по сравнению с контролем использование поли-L-лизина, приводит к увеличению интенсивности флуоресценции на 10-17%, при покрытии ПДАДМАХ – на 30-45%, в присутствии комплекса «ПДАДМАХ-наночастицы серебра-поли-L-лизин» – в 1,6-1,9 раза. Комплекс «ПДАДМАХ-наночастицы серебра-ПДАДМАХ» показал усиление флуоресценции в 2,3-2,7 раза по сравнению с контролем и в 1,8-1,9 раз по сравнению при использовании только ПДАДМАХ. Это отражает большой вклад феномена плазмонного резонанса серебряной нанопленки со спектром поглощения антиПСА-ФИТЦ.

При создании иммунофлуоресцентных тест-систем различных конструкций на серебряных нанопленках, существенным является выбор полиэлектролита для покрытия слоя серебра, так как физико-химические свойства полиэлектролита оказывают серьезное влияние как на сорбционную емкость поверхности так и на конформационное состояние и функциональную активность биологических макромолекул. Эти параметры в значительной степени определяют как чувствительность, так и специфичность иммунохимической тест-системы, а, следовательно, и эффективность всего анализа.

Библиографические ссылки

1. Kulakovich, O. Improved method for fluorophore deposition atop a polyelectrolyte spacer for quantitative study of distance-dependent plasmon-assisted luminescence / O. Kulakovich [et al.] // Nanotechnology. 2006. Vol. 17, № 20. P. 5201–5206.
2. Романенко, А. А. Плазмонное усиление люминесценции конъюгатов изотиоцианата флуоресцеина и иммуноглобулина человека / А. А. Романенко [и др.] // ЖПС.– 2014.– Т. 81, № 2.– С. 228–232.