

## ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ УМЕНЬШЕНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ КОМПОНЕНТОВ ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ТЕСТ СИСТЕМ НА ПОВЕРХНОСТИ ТВЕРДОЙ ФАЗЫ, СФОРМИРОВАННОЙ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫМИ ПЛЕНКАМИ СЕРЕБРА

Коктыш И.В.<sup>1</sup>, Мельникова Я.И.<sup>1</sup>, Кулакович О.С.<sup>2</sup>, Маскевич С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Беларусь*

<sup>2</sup> *Институт физики им. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Применение спектрального инструментального оборудования позволяет осуществлять эффективную детекцию биоаналитов, в этом случае в качестве метки используются вещества, обладающие люминесцентными, флуоресцентными или иными спектральными свойствами. В качестве оптических преобразователей разнообразных биоспецифических взаимодействий широко используются наночастицы металлов, таких как золото и серебро, что позволяет сочетать в одной экспериментальной системе явление плазмонного резонанса и флуоресценции. Создание иммунохимических биоаналитических тест систем с использованием флуоресцентного метода детекции является современным биотехнологическим подходом, позволяющим повысить уровень чувствительности определения биологических веществ.

**Целью данной работы** являлось изучение возможностей уменьшения неспецифического связывания компонентов иммунофлуоресцентных тест систем на поверхности твердой фазы, сформированной наноструктурированными пленками серебра.

**Материалы и методы исследования:** нитрат серебра; цитрат натрия; полидиаллилдиметиламмоний хлорид (ПДАДМАХ), иммуноглобулин, меченый флуоресцеином (IgG-FITC). Золь серебра был синтезирован по методу цитратного восстановления нитрата серебра. Серебряные наночастицы осаждали в лунки полистирольного планшета методом электростатического осаждения с разным временем экспозиции от 1 до 24 ч. На полученные нанопленки серебра наносился раствор ПДАДМАХ в разных концентрациях. Имобилизация иммуноглобулина, меченого флуоресцеином изотианатом (IgG-FITC), проводилась в течение 4 ч при +37 °С. Затем в лунках планшета инкубировали растворы БСА в концентрации 1%, 5% и 10% в течение 4 ч при +37 °С. Затем в планшет вновь вносили IgG-FITC инкубировали в течение 4 ч при +37 °С. Для регистрации спектров флуоресценции применялся планшетный ридер CLARIOstarPlus (BMG Labtech, Германия). Статистическая обработка результатов измерений проводилась с помощью пакета программы Statistica.

**Результаты.** Формирование поверхностной структуры и плотности заполнения поверхности наноструктурированных пленок серебра зависит от условий, в которых проводится электростатическое осаждение наночастиц серебра из золя. В экспериментах использовались нанопленки AgNP1, AgNP2, AgNP3, среди которых нанопленка AgNP1 отличалась наименьшим коэффициентом заполнения.

В случае, если нанопленки серебра были покрыты поликатионным полиэлектролитом ПДАДМАХ в стандартной концентрации, использование 1% БСА и 10% для снижения неспецифического связывания было эффективно только для нанопленки AgNP2. Применение 5% БСА предотвращало неспецифическое связывание практически полностью на всех изучаемых нанопленках. Увеличение поверхностной концентрации ПДАДМАХ на нанопленках в два раза, изменяет условия неспецифической сорбции белка таким образом, что 1% БСА эффективно предотвращает неспецифическую иммобилизацию белка на всех изучаемых видах нанопленок, 5% БСА эффективен только при использовании AgNP1 и AgNP2, а 10 % БСА – только для нанопленки AgNP2.

**Выводы.** Поверхностная концентрация поликатионного полиэлектролита ПДАДМАХ на поверхности наноструктурированных пленок серебра оказывает влияние на условия неспецифической сорбции белковых молекул и возможности использования БСА для снижения неспецифического связывания белков в иммунохимических тест системах. Наиболее эффективными концентрациями БСА для изучаемых условий являются 1% и 5 % БСА.