

нахождения персонала и пациентов в сфере ионизирующего излучения. Внедрение в РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова протоколов дозиметрического планирования РПЖ позволило оптимизировать систематический подход на всех этапах проведения лучевой терапии, регламентировать все технические и физические аспекты планирования и облучения пациента.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Laura Q. M.* Head and Neck Cancer. / Q. M. Laura, M. D. Chow // *New England Journal of Medicine*. – 2020. – P. 60–72.
2. *Beyzadeoglu, M.* Radiation Therapy for Head and Neck Cancers: A Case-Based Review / M. Beyzadeoglu, G. Ozyigit, U. Selek. – London : Springer, 2015. – 243 p.
3. Клинический протокол «Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований» : постановление Министерства Здравоохранения Респ. Беларусь, 6 июля 2018 г., № 60.
4. *Piatkevich, M. N.* Development of methodical recommendations for the establishment of physical and technical support for external radiation therapy procedures / M. N. Piatkevich, N. I. Makarava, E. V. Titovich, V. F. Malishevskiy // IX International Scientific Conference for Young Scientists, Graduates, Master and PhD Students «Actual Environmental Problems». – 2019. – P. 197.
5. *Piatkevich, M. N.* Development of methodical recommendations regulating the selection of external beam radiation therapy technique and parameters of treatment planning / M. N. Piatkevich, N. I. Makarava, E. V. Titovich, V. F. Malishevskiy, M. S. Mayorava // IX International Scientific Conference for Young Scientists, Graduates, Master and PhD Students «Actual Environmental Problems». – 2019. – P. 198.

### ИЗУЧЕНИЕ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТВЕРДОЙ ФАЗЫ, СФОРМИРОВАННОЙ НА ОСНОВЕ НАНОПЛЕНОК СЕРЕБРА РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ, ОПТИМИЗИРОВАННОЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ

#### THE OPTICAL PROPERTIES STUDY OF THE SOLID PHASE FORMED BASED ON VARIOUS STRUCTURES SILVER NANOFILMS, OPTIMIZED FOR THE IMMUNOCHEMICAL TEST SYSTEMS

**Я. И. Мельникова<sup>1</sup>, А. А. Щербович<sup>1</sup>, И. В. Коктыш<sup>1</sup>,  
О. С. Кулакович<sup>2</sup>, А. А. Романенко<sup>2</sup>, С. А. Маскевич<sup>1</sup>  
Y. Melnikova<sup>1</sup>, A. Scherbovich<sup>1</sup>, I. Koktysh<sup>1</sup>,  
O. Kulakovich<sup>2</sup>, A. Ramanenka<sup>2</sup>, S. Maskevich<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ  
г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт физики им. Степанова НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь  
scherbovich.a.a@gmail.com

<sup>1</sup>Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus,

<sup>2</sup>B. I. Stepanov Institute of Physics, Minsk, Republic of Belarus

С использованием различных методов осаждения наночастиц серебра на полиэлектролиты ПДАДМАХ и поли-L-лизин созданы твердофазные плазмонные нанопленки. Проанализированы спектры оптической плотности и оценены оптические отклики сигнала флуоресценции комплексов «серебряная нанопленка – полиэлектролит – IgG-FITC». Установлено, что максимальный оптический отклик регистрируется для нанопленок серебра, полученных с помощью методики осаждения серебряных частиц в течение суток. При этом максимумы оптической плотности расположены в интервале 412-414 нм. При формировании на поверхности полученных пленок комплексов «наночастица серебра-полиэлектролит-IgG-FITC» для всех трех серебряных подложек регистрируется длинноволновое смещение их спектров оптической плотности плазмонного возбуждения на 14-18 нм.

Solid-phase plasmonic nanofilms were created using various sedimentation methods of silver nanoparticles on polyelectrolytes PDADMAC and poly-L-lysine. The spectra of optical density are analyzed and the optical responses of the fluorescence signal of the complexes “silver nanofilm - polyelectrolyte - IgG-FITC” are estimated. It was found that the maximum optical response is recorded for silver nanofilms obtained using the technique of silver particle sedimentation during the day. The optical density maxima are located in the interval 412-414 nm. During the formation of the silver nanoparticle-polyelectrolyte-IgG-FITC complexes on the surface of the films

obtained, a long-wavelength shift of their plasmon excitation optical density spectra by 14-18 nm is recorded for all three silver substrates.

*Ключевые слова:* иммунофлуоресценция, поли-L-лизин, полидиаллилдиметиламмоний хлорид, изотиоцианат флуоресцеина, плазмоника.

*Keywords:* immunofluorescence, poly-L-lysine, poly diallyldimethylammonium chloride, fluorescein isothiocyanate, plasmonics.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-2-69-72>

В настоящее время наночастицы серебра широко используются как эффективные оптические преобразователи разнообразных биоспецифических взаимодействий. В частности, резонансные оптические свойства нанометровых металлических частиц успешно применяются для разработки биочипов и биосенсоров для иммуноанализа. Подобные устройства представляют большой интерес для биологии, медицины и химии [1].

Оптические и физико-химические свойства синтезированных наночастиц серебра в основном определяются их размером, формой и кристаллической структурой. Эти параметры можно варьировать во время химического синтеза за счет снижения концентрации солей серебра и использования большего количества стабилизатора, чтобы избежать агрегации наночастиц.

Наночастицы серебра эффективно поглощают и рассеивают свет. Их сильное взаимодействие со светом происходит из-за того, что электроны проводимости на поверхности металла подвергаются коллективным колебаниям, когда они возбуждаются светом с определенной длиной волны. Это колебание известно как поверхностный плазмонный резонанс, и оно приводит к тому, что интенсивности поглощения и рассеяния наночастиц серебра намного выше, чем у неплазмонных наночастиц одинакового размера.

В подавляющем большинстве случаев для возбуждения поверхностного плазмонного резонанса используется система с высоким показателем преломления, состоящая из прозрачного материала и нанесенной на его поверхность проводящей пленки нанометровой толщины. Противоположная сторона пленки контактирует с анализируемой средой. В основе построения такой системы лежит метод послойной адсорбции [2]. Сущность метода заключается в том, что пленки формируются путем нанесения чередующихся слоев противоположно заряженных материалов на заряженную подложку. Слои могут быть выполнены различными способами, например, нанесением покрытия погружением, центрифугированием, нанесением покрытия распылением. Методом послойной адсорбции можно наносить различные материалы, включая полиионы, металлы, керамику, наночастицы и биологические молекулы.

Поскольку в основе метода послойной сорбции лежит электростатическое связывание соседних слоев, pH растворов полиионов должно быть таким, чтобы они были заряжены. Катионные полимеры легко сочетаются с противоположно заряженными белками и используются для улучшения сорбции антигена/антитела и коллоидной стабильности.

Цель исследования: изучить оптические спектры твердой фазы, сформированной на основе нанопленок серебра различного строения, оптимизированной для создания иммунохимических тест-систем с детекцией по сигналу флуоресцентной метки.

### Материалы и методы

В исследовании использовались: нитрат серебра; цитрат натрия; полиэлектролиты (ПЭ): полидиаллилдиметиламмоний хлорид (ПДАДМАХ), поли-L-лизин гидробромид (поли-L-лизин); хлорид натрия; иммуноглобулин, меченый флуоресцеином (IgG-FITC). Эксперименты проводились в прозрачных 96-луночных полистирольных планшетах для иммуноанализа (Greiner, Австрия).

Для приготовления коллоидов серебра использовалась стандартная методика цитратного восстановления, подробно описанная ранее [3]. Наночастицы серебра электростатически осаждались на ПЭ-модифицированную поверхность лунок полистирольных планшетов и выдерживались различное время в течение суток при комнатной температуре. В результате получены серебряные подложки (AgC1, AgC2, AgC3) разной структуры вследствие различного времени осаждения:  $t(\text{AgC1}) < t(\text{AgC2}) < t(\text{AgC3})$ . Фиксация IgG-FITC на поверхности серебряной подложки происходила с помощью полиэлектролитов, растворов ПДАДМАХ или поли-L-лизина по стандартной методике [4]. Для исследования оптических свойств IgG-FITC добавлялся в количестве 100 мкл в металлизированные и неметаллизированные лунки планшета, обработанные полиэлектролитами в различных концентрациях.

Для регистрации спектров оптической плотности применялся планшетный ридер CLARIOstarPlus (BMG Labtech, Германия). Статистическая обработка результатов измерений проводилась с помощью пакета программы MS Excel. Графическое отображение данных выполнялось, используя программу OriginLab.

### Результаты и их обсуждение

Исследованы особенности спектров поглощения и интенсивности оптических откликов твердой фазы, сформированной на основе нанопленок серебра различного строения (AgC1, AgC2, AgC3), после осаждения полиэлектролитов (ПДАДМАХ-С1, ПДАДМАХ-С2, поли-L-лизин-С1, поли-L-лизин-С2) и затем IgG-FITC.

В качестве контрольной группы сравнения использовались спектры поглощения иммуноглобулина, меченого флуоресцеином, иммобилизованного на поверхности полистирола, покрытого соответствующими концентрациями полиэлектролитов: ПДАДМАХ-С1, ПДАДМАХ-С2, поли-L-лизин-С1, поли-L-лизин-С2.

На рисунке 1 представлены в абсолютных (1А) и относительных (1Б) единицах спектры поглощения серебряных нанопленок (AgC1, AgC2, AgC3), в диапазоне 300-800 нм, покрытых полиэлектролитом ПДАДМАХ-С1. Полученные спектры подобны друг другу по форме, но заметно отличаются величиной оптической плотности. В каждом из спектров поглощения проявляются две полосы: одна коротковолновая с максимумом в области 410-415 нм и вторая длинноволновая в области 550-650 нм. Относительная интенсивность длинноволновой полосы поглощения возрастает в ряду экспериментальных образцов нанопленок: AgC1 < AgC2 < AgC3. Отметим также, что максимум коротковолновой полосы поглощения пленок AgC2 и AgC3 несколько (на 1-2 нм) смещены в коротковолновую сторону относительно аналогичной полосы спектра поглощения образца AgC1.

Интенсивную коротковолновую полосу поглощения осажденных на диэлектрических поверхностях плазменных пленок серебра связывают с возбуждением локализованных в наночастицах коллективных электронных осцилляций (локализованных плазмонов), а длинноволновую полосу поглощения связывают с возбуждением таких осцилляций в разного рода агрегатах наночастиц серебра [5]. В рамках такой интерпретации спектров поглощения полученных нанопленок можно сделать логичный вывод, что для образца с большей оптической плотностью, когда на полимерной поверхности, покрытой полиэлектролитом ПДАДМАХ, осаждена серебряная пленка большей поверхностной плотности, имеется большее число агрегатов наночастиц. Таким образом, полоса спектра поглощения в области 550-650 нм может быть индикатором значимости агрегатов наночастиц серебра в формировании флуоресцентного отклика плазменной пленки при иммунохимическом взаимодействии.

Рассмотрим представленные на рисунке 2 спектры поглощения комплекса «серебряная подложка (AgC1, AgC2, AgC3) – ПДАДМАХ-С1 – IgG-FITC». Данные спектры также представлены в абсолютных (2А) и относительных (2Б) единицах.

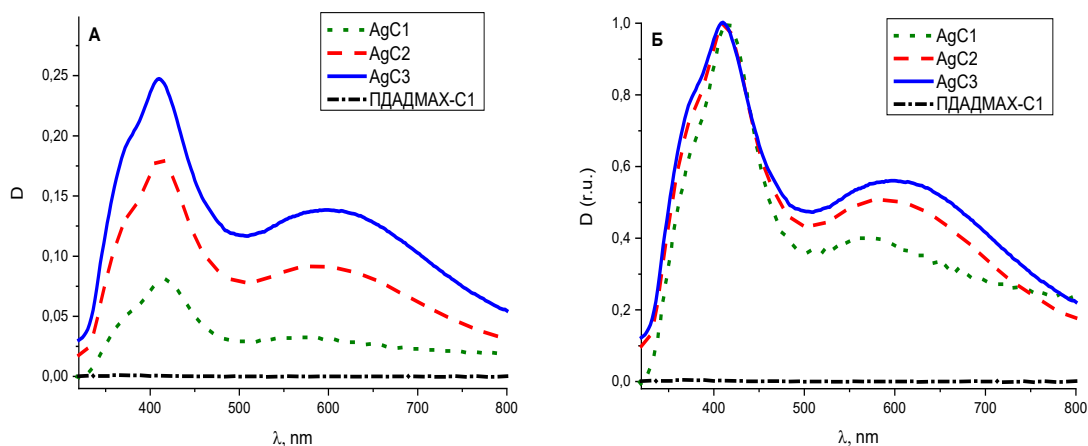


Рисунок 1 – Спектры поглощения серебряных нанопленок (AgC1, AgC2, AgC3), покрытых ПДАДМАХ-С1 (А – в абсолютных единицах, Б – в относительных единицах)

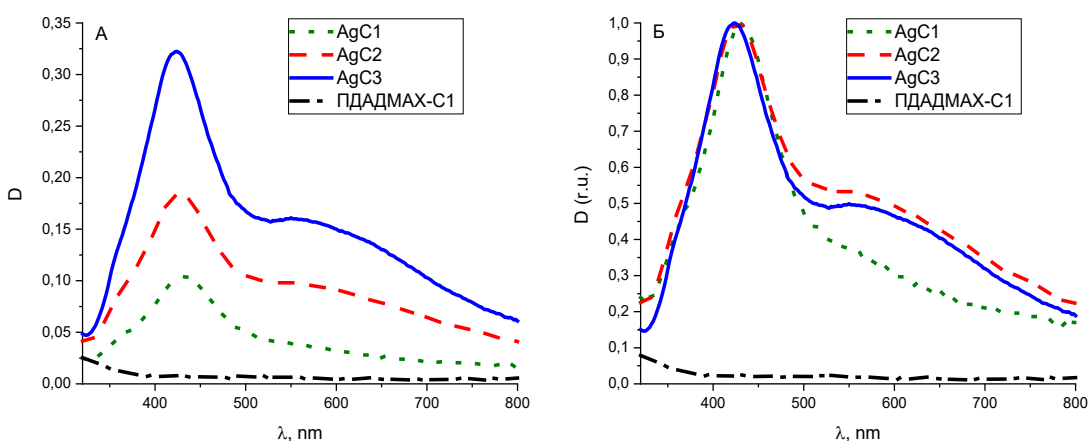


Рисунок 2 – Спектры поглощения комплекса IgG-FITC-ПДАДМАХ-С1 на серебряных нанопленках (AgC1, AgC2, AgC3) (А – в абсолютных единицах, Б – в относительных единицах)

Как видно из представленных результатов, наибольшее увеличение оптической плотности по сравнению с контролем для комплекса «наночастицы серебра-полиэлектролит-IgG-FITC» наблюдается при использовании серебряной подложки AgC3.

Сравнивая полученные спектры (рис. 1-2), заметен спектральный эффект сорбции конъюгата IgG-FITC.

Комплекс IgG-FITC имеет полосу поглощения на длине волны 498 нм, что свидетельствует об изменении спектров поглощения серебряных подложек, покрытых полиэлектролитами, в области 500 нм.

Также наблюдается длинноволновое смещение максимумов спектров поглощения для комплексов «наночастицы серебра-полиэлектролит-IgG-FITC» для всех трех серебряных подложек: AgC1 на 18 нм (432 нм), AgC2 на 16 нм (428 нм) и для AgC3 на 14 нм (424 нм) по отношению к положениям максимумов оптической плотности спектров поглощения серебряных подложек, покрытых полиэлектролитами в отсутствие сорбции IgG-FITC.

Для оценки вклада структуры серебряной нанопленки на оптические свойства твердой фазы исследованы спектры поглощения комплексов «наночастицы серебра AgC1-полиэлектролит-IgG-FITC», «наночастицы серебра AgC2-полиэлектролит-IgG-FITC», «наночастицы серебра AgC3-полиэлектролит-IgG-FITC» в зависимости от используемого полиэлектролита.

На рисунке 3 представлены спектры поглощения комплексов «наночастицы серебра (AgC1, AgC3)-полиэлектролит (ПДАДМАХ-С1, ПДАДМАХ-С2, поли-L-лизин-С1, поли-L-лизин-С2) - IgG-FITC».

При анализе полученных спектров выявлено, что при использовании поли-L-лизина для серебряных подложек AgC1, AgC3 наблюдается формирование длинноволновой полосы с максимумом в области 600 нм, в случае с ПДАДМАХ такая полоса появляется в области 570 нм.

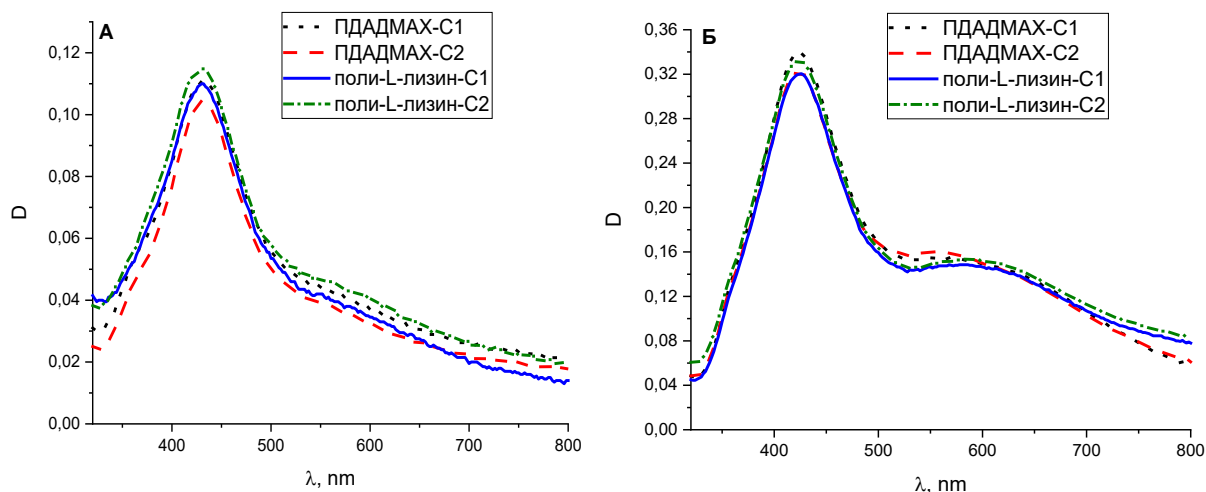


Рисунок 3 – Спектры поглощения: А – комплекс «наночастицы серебра (AgC1)-полиэлектролит - IgG-FITC»; Б – комплекс «наночастицы серебра (AgC3)-полиэлектролит - IgG-FITC»

**Вывод.** С использованием различных методов осаждения наночастиц серебра на полиэлектролиты ПДАДМАХ и поли-L-лизин созданы твердофазные плазмонные нанопленки. Проанализированы спектры оптической плотности и оценены оптические отклики сигнала флуоресценции комплексов «серебряная нанопленка – полиэлектролит – IgG-FITC». Установлено, что оптический отклик возрастает для нанопленок серебра, получаемых с помощью методики осаждения серебряных частиц в течение суток. При этом максимумы оптической плотности расположены в интервале 412 - 414 нм. При формировании на поверхности полученных пленок комплексов «наночастица серебра-полиэлектролит-IgG-FITC» для всех трех серебряных подложек регистрируется длинноволновое смещение их спектров оптической плотности плазмонного возбуждения на 14 - 18 нм.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Богатырев, В.А. Методы синтеза наночастиц с плазмонным резонансом: / учеб.пособие / В.А. Богатырев [и др.]. СаратовскийГУ им. Н.Г. Чернышевского: Саратов. 2009. – 35.
2. Sato K., Yoshida K., Takahashi S., Anzai J. // Adv. Drug Del. Rev. 2011. 63. P. 809.
3. 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.
4. Высококчувствительный иммунофлуоресцентный анализ простат-специфического антигена с использованием наночастиц серебра / И.В. Коктыш [и др.] // Журнал прикладной спектроскопии. – 2020. – Т.87, № 5. – С. 796-803.
5. Ostrowski, D.P. The Effects of Aggregation on Electronic and Optical Properties of Oligothiophene Particles / D. P. Ostrowski [et al.] // ACS Nano. – 2012. – Vol. 6, № 6. – P. 5507–5513.