

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АКУСТОМЕТРИЧЕСКОГО СЕНСОРА ДЛЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

О.Д. Гендриксон, *А. Приев, А.А. Мартьянов, Д.В. Сотников, А.В. Жердев, Б.Б. Дзантиев

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия, dzantiev@inbi.ras.ru

**Университет г. Иерусалима, Израиль, priev@md.huji.ac.il*

В современной биомедицинской аналитике широко используются экспрессные методы. Одним из подходов для разработки таких методов может быть измерение скорости распространения ультразвука в растворах. Известно, что состояние растворенных молекул и частиц отражается на адиабатической сжимаемости, скорости распространения звуковых волн и других свойствах растворов. Исходя из этого, в настоящей работе предложен и апробирован акустометр, в котором для детекции иммунологических и ферментативных реакций применяется регистрация скорости распространения цилиндрических стоячих ультразвуковых волн. Измерительная ячейка прибора представляет собой металлическую трубку, генерирующую радиальные осцилляции в столбике заполняющей ее жидкости. Частота резонатора пропорциональна скорости ультразвука, а ширина резонансного пика пропорциональна изменению скорости ультразвука. Этот подход делает возможным проведение измерений скорости ультразвука с высокой степенью точности и быстрый анализ проб объемом менее 1 мл с чувствительностью детекции аналита в диапазоне 10^{-8} - 10^{-10} М. Для количественной характеристики изменений ультразвука в растворе необходимо не более 30 сек. Представленный подход значительно превосходит известные методы ультразвукового анализа в отношении высокой точности, возможности работы с пробами малого объема и простоты проведения измерений.

Экспериментальный образец акустометра соответствует следующей спецификации:

- программируемый температурный контроль в диапазоне 10-90 °С;
- измерение при фиксированной температуре либо при сканировании температуры со скоростью 0,1-2,0 °С/мин;
- объем заполнения измерительной ячейки 0,05-0,2 мл;
- чувствительность к изменению скорости ультразвука $10^{-4}\%$;
- воспроизводимость измерений базовой линии сигнала $\pm 10^{-3}\%$;

Данный прибор был использован в качестве детектора для разработанных систем иммуноанализа.

При выборе маркера для гомогенного иммуноферментного анализа была охарактеризована акустометрическая детекция каталитической активности 14 ферментов, включая α -амилазу, α -, и β -глюкоамилазы из разных источников, β -галактозидазу, α -химотрипсин, щелочную протеазу, щелочную фосфатазу, пероксидазу, рибонуклеазу и уреазу, бактериальную протеазу, креатинкиназу. В качестве оптимального маркера была выбрана бактериальная α -амилаза.

Акустометрический фермент-модулирующий иммуноанализ (ЕМИТ, enzyme-multiplied immunoassay technique) был реализован на примере детекции стероидных гормонов. Предлагаемый метод основан на модуляции активности конъюгата амилаза-антиген в результате конформационных изменений в каталитическом центре фермента, вызываемых взаимодействием с антителами (либо стерическими препятствиями к взаимодействию с субстратом молекулы фермента в составе иммунных комплексов).

Исходный уровень ферментативной активности конъюгата восстанавливается после добавления образца, если он содержит молекулы определяемого антигена. Разработанные системы обеспечивают возможность детектировать до 0,1 нг/мл тестостерона или эстрадиола. Рабочий диапазон количественного определения стероидных гормонов - 0,1-10 нг/мл. Данные характеристики анализа удовлетворяют современным требованиям медицинской диагностики.

Акустический сенсор был также скомбинирован с липосомным иммуноанализом с использованием полиэлектролитных носителей. Благодаря исключению ферментативной стадии продолжительность анализа сократилась с 30 мин до 15 мин с сохранением чувствительности 0,1 нг/мл.

Работа выполнена при поддержке гранта INTAS N 03-56-150.