

ПРИМЕНЕНИЕ КРЕМНИЕВЫХ ПОДЛОЖЕК ДЛЯ РАЗРАБОТКИ БЕЛКОВЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ТЕХНОЛОГИИ МИКРОЧИПОВ

А. И. Давыденко¹, А. Ю. Кохан¹, Е. В. Шамова¹, А. В. Бондаренко², А. А. Бурко²,
А. Е. Гончаров¹, А. В. Осипова¹

¹Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники,
Минск, Беларусь

В настоящее время флуоресцентный анализ является широко используемым методом исследования в биологии, медицине и смежных областях. В диагностических тест-системах на основе технологии микрочипов применение меченных флуорохромами антител позволяет детектировать взаимодействие иммобилизованных на подложку молекул со специфичными к ним компонентами в анализируемых биологических образцах. Однако существует проблема невысокой чувствительности таких тест-систем при детектировании целевых биомолекул в низких концентрациях, что особенно актуально при аллергодиагностике. Одним из решений является использование в качестве материала подложки монокристаллического кремния (Si) с тонким слоем диоксида кремния (SiO₂). Наличие слоя SiO₂ позволяет усиливать возбуждение молекул, находящихся на его поверхности, за счет эффекта конструктивной интерференции [1]. В данной работе исследовали возможность увеличения чувствительности микрочиповых тест-систем для аллергодиагностики за счет использования подложек Si/SiO₂.

На пластинах монокристаллического кремния формировали пленку диоксида кремния методом термического окисления. Толщину слоя пленки оценивали методом эллипсометрии. Модификацию поверхности подложек осуществляли разработанным ранее способом [2]. Затем наносили растворы аллергенов, содержащие линкер для ковалентной иммобилизации на поверхность. Полученные микрочипы последовательно инкубировали с сывороткой пациентов с подтвержденной аллергией и с флуоресцентно-мечеными антителами к IgE человека ($\lambda_{em}=565$ нм, $\lambda_{ex}=574$ нм). Регистрацию положительной реакции осуществляли по интенсивности флуоресценции с помощью лазерного сканера LuxScan10 (длина волны возбуждения – 532 нм, регистрация сигнала – 575 ± 10 нм).

Анализ данных показал, что регистрация специфического положительного сигнала у пациентов с установленной аллергией наблюдалась для обоих типов подложек: интенсивность флуоресценции для стеклянной подложки составила $838,2\pm 140,9$ усл.ед., а для кремниевой в 2,5 раз выше – $2052,3\pm 325,3$ усл.ед. ($p=0,012$). В случае подложек на основе Si/SiO₂ соотношение сигнал шум составило $6,6\pm 0,8$ при толщине пленки диоксида кремния 90 нм.

Таким образом, в работе было показано, что наилучшим материалом подложки тест-системы для детекции целевых белковых молекул является монокристаллический Si с тонкой пленкой SiO₂. Использование данной подложки позволит значительно повысить чувствительность диагностических тест-систем, разрабатываемых для аллергодиагностики.

Библиографические ссылки

1. An advanced, silicon-based substrate for sensitive nucleic acids detection / S. Petralia [et al.] // *Sensors*. 2018. Vol. 18. P. 3138.
2. Разработка методики модификации поверхности стекла для изготовления белковых микрочипов / А. И. Давыденко [и др.] // *Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии : Тезисы докладов международной научной конференции, посвященной 50-летию института. Научное электронное издание, Минск, 26–27 октября 2023 года / Национальная академия наук беларуси ; институт биофизики и клеточной инженерии нан беларуси. Минск: Колорград, 2023. 80 С.*