

ЛИТЕРАТУРА

1. Повышение чувствительности флуоресцентного иммунологического анализа альфа-фетопротеина с помощью плазмонных серебряных наночастиц / С. В. Ващенко [и др.] // Вестник БГУ. – 2014. – № 3 (1). – С. 46–51.
2. Матусевич, О. А. Влияние поликатионного полиэлектролита пдадмах на состояние иммуноглобулинов, иммобилизованных на наноструктурированных пленках серебра / Матусевич, О. А. // Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии : сборник тезисов XXXIV международной зимней молодежной научной школы / Федер. гос. бюджет. уч-е науки Ин-т биоорг. химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Росс. ак. наук ; сост. : Т. В. Овчинникова, Е. А. Стукачева, Э. В. Шереметьева. – Москва, 2022. – С. 109.
3. Protein – polyelectrolyte interaction: thermodynamic analysis based on the titration method / X. Wang [and others] // Polymers. – 2019. – № 11(1). – P. 82–100.
4. Софронова, А. А. Взаимодействие белков с синтетическими и природными полиэлектролитами и влияние на него посттрансляционных модификаций : автореф. дисс. канд. биол. наук : 03.01.08 / А. А. Софронова ; МГУ им. М. В. Ломоносова – М., 2022. – 187 с.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТА ПОЛИДИАЛЛИЛДИМЕТИЛАММОНИЯ ХЛОРИДА НА СОРБЦИОННУЮ СПОСОБНОСТЬ МОЛЕКУЛ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ НА ПОВЕРХНОСТИ НАНОПЛЕНОК СЕРЕБРА

INFLUENCE OF POLYDIALLYLDIMETHYLAMMONIUM CHLORIDE POLYELECTROLYTE ON THE SORPTION ABILITY OF IMMUNOGLOBULIN MOLECULES ON THE SURFACE OF SILVER NANOFILM

В. Г. Дубатовка, В. Д. Азаренко, Я. И. Мельникова
V. Dubatovka, V. Azarenko, Ya. Melnikova

*Учреждение образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ, г. Минск, Республика Беларусь
vlad.db2@gmail.com*

International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

В данной статье представлены результаты исследования влияния полиэлектролита полидиаллилдиметиламмония хлорида на сорбционную способность молекул иммуноглобулинов на поверхности нанопленок серебра в ходе проведения иммунофлуоресцентного анализа.

This article presents the effects of the polyelectrolyte polydiallyldimethylammonium chloride on the sorption capacity of immunoglobulin molecules on the surface of silver nanofilms during immunofluorescence analysis.

Ключевые слова: полидиаллилдиметиламмония хлорид, нанопленки серебра, интенсивность флуоресценции.

Keywords: polydiallyldimethylammonium chloride, silver nanofilms, fluorescence intensity.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2024-1-375-378>

Имунофлуоресцентный анализ – это иммунохимический метод, который использует чувствительность и селективность флуоресценции для качественного и количественного анализа антигенов.

Имунофлуоресценция основана на высокой селективности и сродстве антител к их антигенам как специфическим клеточным компонентам, в частности белкам [2].

При выборе флуорохромов для иммунофлуоресцентного анализа необходимо учитывать несколько факторов в дополнение к их спектральным свойствам. К ним относятся интенсивность и стабильность флуоресценции, а также чувствительность к воздействиям окружающей среды.

Методы иммунофлуоресценции постепенно находят свое применение в качестве диагностического инструмента в клинической иммунологии благодаря их гибкости и специфичности. Основными применениями в настоящее время являются: обнаружение циркулирующих аутоантител, антигенов в клетках и клеточных мембранах, обнаружение циркулирующих иммунных клеток и иммунных комплексов в биопсийном материале [2,3].

Благодаря взаимодействию флуорофора с окружающей средой процессы флуоресценции, включая как процессы возбуждения, так и процессы эмиссии, можно модулировать путем изменения его локального электромагнитного поля [3]. В настоящее время рассматриваются плазмоны и эффект плазмонного резонанса как способ моделирования интенсивности флуоресценции. Ключевым компонентом плазмоники является металл, поскольку

он поддерживает поверхностные плазмоны, представляющие собой электромагнитные волны, вызванные коллективными колебаниями свободных электронов в металле. Чаще всего в плазмонике используют частицы Au и Ag [1,3].

Скорость излучения флуорофора увеличивается со скоростью возбуждения. Вдали от насыщения скорость возбуждения пропорциональна интенсивности электромагнитного поля на длине волны поглощения. Следовательно, скорость излучения может быть увеличена путем помещения флуорофора в область повышенной интенсивности поверхностного плазмонного поля что приводит к более высокой интенсивности флуоресценции. Данный эффект позволяет повысить предельную чувствительность детектирования сигнала флуоресценции [2].

Эффект усиления флуоресценции демонстрирует баланс между несколькими процессами, включая увеличение скорости возбуждения локальным электромагнитным полем, увеличение скорости затухания излучения и безызлучательную передачу энергии от центра флуоресценции к металлической подложке, что зависит от расстояния между центром флуорофора и металлической подложкой [2,3].

В целом, взаимодействие флуорофоров с поверхностными плазмонами позволяет реализовать усовершенствованные схемы для биосенсоров используя флуоресцентную спектроскопию.

Цель работы: Изучить влияние полиэлектролита полидиаллилдиметиламмония хлорида (ПДАДМАХ) на сорбционную способность молекул иммуноглобулинов на поверхности нанопленок серебра.

Для реализации данной цели были поставлены следующие **задачи:**

1. Подобрать условия формирования и получить на поверхности полистирола наноструктурированные пленки серебра, обладающие плазмонными свойствами.
2. Определить эффективную поверхностную концентрацию полиэлектролита ПДАДМАХ, обеспечивающую стабильную сорбцию модельного иммуноглобулина.

Материалы и методы исследования. Для модулирования интенсивности флуоресценции использовались три типа подложек: полистирольных; полистирольных, покрытый слоем полиэлектролита и наноструктурированных серебряных пленках.

Формирование наноструктурированных пленок серебра сопровождалось осаждением золь серебра, синтезированного методом цитратного восстановления нитрата серебра, в лунки полистирольного планшета, покрытого слоем полиэлектролита ПДАДМАХ.

Серебряные наночастицы осаждали в лунки планшета по следующей схеме:

- 1) 150 мкл раствора ПДАДМАХ (1 г/л в 0,5 моль/л хлорида натрия) выдерживались в лунках полистирольного планшета в течение 20 мин;
- 2) 150 мкл золь серебра выдерживались в лунках полистирольного планшета в течение разных периодов времени от 1 до 24 ч при комнатной температуре.

Каждый этап процедуры заканчивался промывкой дистиллированной водой.

Таким образом, при увеличении времени осаждения наночастиц, были получены пленки AgC1, AgC2, AgC3 с различной плотностью наночастиц серебра соответственно. В последствии на них был осажден еще один слой полиэлектролита ПДАДМАХ.

На поверхность пленки, состоящей из наночастиц серебра, наносили 150 мкл раствора ПДАДМАХ в концентрации 50 мкг в мл или 100 мкг в мл в 0,5 моль/л хлорида натрия однократно, формируя один слой. Растворы полиэлектролитов инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин. Каждый этап процедуры заканчивался промыванием дистиллированной водой.

Иммобилизация моноклональных IgG-FITC на твердой фазе проводилось в ходе четырехчасового инкубирования при +37°C в присутствии калий-натрий-фосфатного буфера.

Для измерения спектров оптической плотности и флуоресцентного анализа использовался планшетный ридер CLARIOstarPlus (BMGLabtech, Германия).

Результаты исследования. На рисунке 1 представлены значения интенсивности флуоресценции IgG-FITC, иммобилизованных на пленках AgC1. В качестве контроля использовалась поверхность полистирола и полистирола с покрытием ПДАДМАХ в концентрациях 50 и 100 мкг/мл.

Анализ полученных данных показывает различия в значениях интенсивности флуоресценции для полистирола с покрытием ПДАДМАХ по сравнению с чистым полистиролом (значение для ps+50 PD выше на 57%). При этом различия в интенсивности флуоресценции IgG-FITC для ps+50 PD и ps+100 PD незначительны (уменьшение на 4%).

Выявлено, что значения интенсивности флуоресценции выше для нанопленок серебра по сравнению как с полистиролом, так и полистиролом, покрытым ПДАДМАХ. Интенсивность флуоресценции IgG-FITC для AgC1+50 PD выше в 2,33 раза по сравнению с полистиролом и в 1,48 раза по сравнению с ps+50 PD. Для AgC1+100 PD значения выше в 2,13 раза по отношению к полистиролу, и в 1,39 раза при сравнении с ps+50 PD.

Изменение концентрации ПДАДМАХ с 50 до 100 мкг/мл при формировании слоя полиэлектролита на поверхности пленки серебра не привело к небольшому уменьшению интенсивности флуоресценции (на 9%).

На рисунке 2 представлены данные интенсивности IgG-FITC, иммобилизованных на поверхности нанопленок AgC2 (полученных при более длительном осаждении частиц серебра по сравнению с AgC1) с покрытием из полиэлектролита.

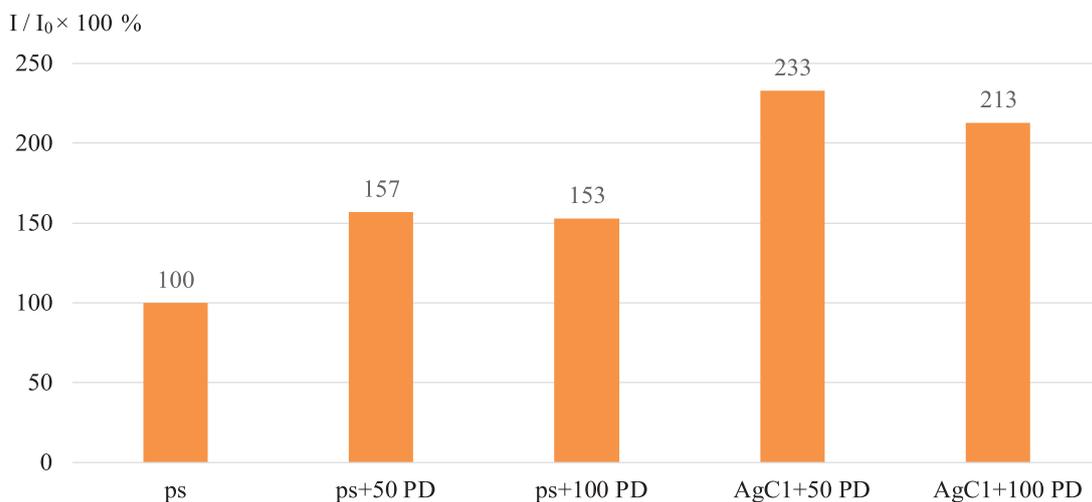


Рисунок 1 – Гистограмма интенсивности флуоресценции IgG-FITC на поверхности полистирола и нанопленок AgCl

I_0 – интенсивность флуоресценции контроля; I – интенсивность флуоресценции; Ps – полистирол; $ps+50 PD$ и $ps+100 PD$ – полистирол, покрытый слоем ПДАДМАХ при его концентрации 50 и 100 мкг/мл; $AgCl+50 PD$ и $AgCl+100 PD$ – серебряные нанопленки, покрытые слоем ПДАДМАХ при его концентрации 50 и 100 мкг/мл

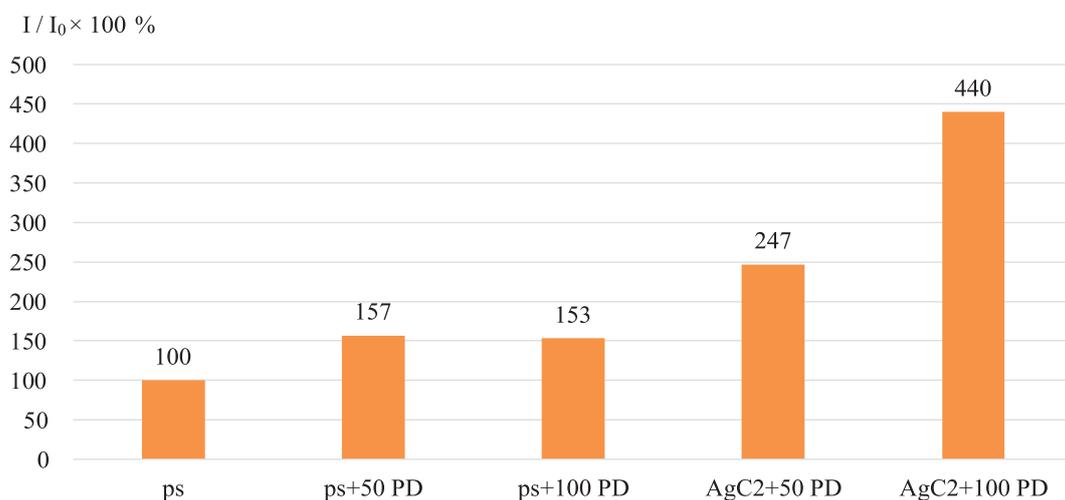


Рисунок 2 – Гистограмма интенсивности флуоресценции IgG-FITC на поверхности полистирола и нанопленок AgC2

I_0 – интенсивность флуоресценции контроля; I – интенсивность флуоресценции; Ps – полистирол; $ps+50 PD$ и $ps+100 PD$ – полистирол, покрытый слоем ПДАДМАХ при его концентрации 50 и 100 мкг/мл соответственно; $AgC2+50 PD$ и $AgC2+100 PD$ – серебряные нанопленки, покрытые слоем ПДАДМАХ при его концентрации 50 и 100 мкг/мл

В данном случае использование серебрянной подложки, покрытой слоем полиэлектролита (с концентрацией 50 мкг/мл) привело к увеличению интенсивности флуоресценции в 1,57 раза по отношению к $ps+50 PD$ и в 2,47 раза по сравнению с чистым полистиролом. Для пленки $AgC2+100 PD$ значение интенсивности флуоресценции IgG-FITC возросло в 2,88 раза по сравнению с $ps+100 PD$ и в 4,4 раза по сравнению с обычным полистиролом.

Изменение концентрации ПДАДМАХ (с 50 до 100 мкг/мл), при формировании слоя на поверхности пленки $AgC2$, привело к усилению интенсивности флуоресценции в 1,78 раза.

На рис. 3 представлены данные интенсивности флуоресценции IgG-FITC, адсорбированных на поверхности нанопленок $AgC3$, с более высокой плотностью наночастиц серебра по сравнению с пленками $AgC1$ и $AgC2$.

Сравнение интенсивности флуоресценции нанопленок $AgC3$ по сравнению с контрольными образцами, покрытыми слоем ПДАДМАХ, показывает увеличение интенсивности в 2,85 раза (при сравнении $AgC3+50 PD$ и $ps+50 PD$) и в 2,92 раза (при сравнении $AgC3+100 PD$ и $ps+100 PD$). По отношению к полистиролу, не покрытому ПДАДМАХ, рост составил 4,48 раза для $AgC3+50 PD$ и 4,47 раза для $AgC3+100 PD$.

При обобщении полученных данных интенсивности флуоресценции IgG-FITC, следует отметить повышение значений при иммобилизации на поверхности нанопленок «ПДАДМАХ-частицы серебра-ПДАДМАХ» по сравнению как с полистиролом, так и полистиролом с покрытием ПДАДМАХ.

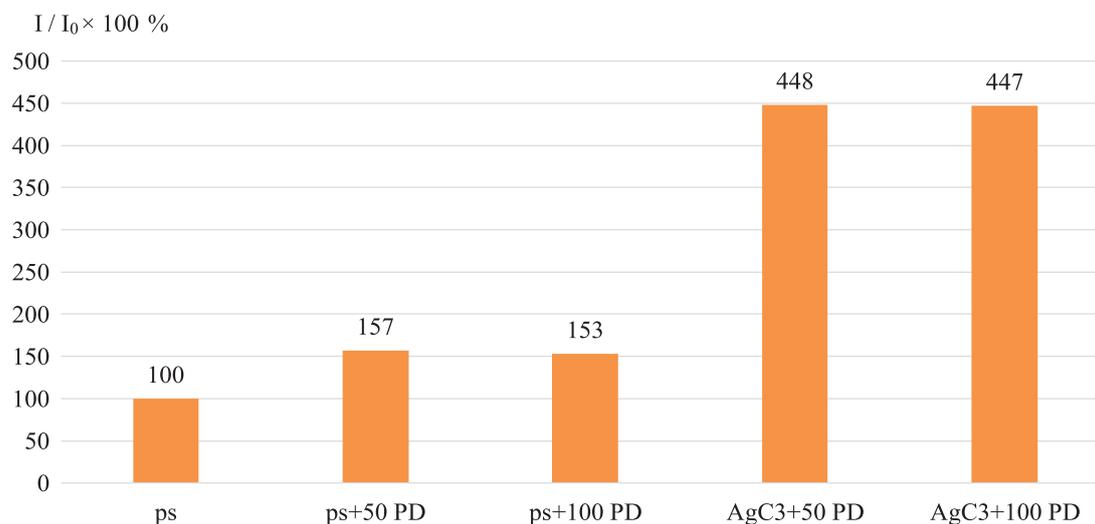


Рисунок 3 – Гистограмма интенсивности флуоресценции IgG-FITC на поверхности полистирола и нанопленок AgC3

I_0 – интенсивность флуоресценции контроля; I – интенсивность флуоресценции; Ps – полистирол; $ps+50 PD$ и $ps+100 PD$ – полистирол, покрытый слоем ПДАДМАХ при его концентрации 50 и 100 мкг/мл; $AgC3+50 PD$ и $AgC3+100 PD$ – серебряные нанопленки, покрытые слоем ПДАДМАХ при его концентрации 50 и 100 мкг/мл

В ходе проведения данного исследования установлено, что параметры сорбции модельного иммуноглобулина зависят как от толщины используемого слоя ПДАДМАХ, так и от концентрации белка. Была определена оптимальная концентрация ПДАДМАХ, позволяющая обеспечить повышенную сорбцию конъюгата IgG-FITC составляет 50 мкг/мл. При дальнейшем увеличении толщины полиэлектrolитного слоя происходит снижение интенсивности флуоресценции до уровня флуоресценции конъюгата IgG-FITC, иммобилизованного на поверхности слоя ПДАДМАХ, покрывающего интактную полистирольную ячейку.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abdulhalim, I. Plasmonic Sensing Using Metallic Nano-Sculptured Thin Films / I. Abdulhalim // Small. – 2018. – Vol. 10, № 17. – P. 499–514.
2. Ghanadan, A. Immunofluorescence in the diagnosis of diseases/ A. Ghanadan, A. Saghadzadeh, M. Daneshpazhooh // Expert Review of Clinical Immunology. – 2019. – Vol. 11, iss. 5. – P. 611–642.
3. Liu, Y. Microfluidics-Based Plasmonic Biosensing System Based on Patterned Plasmonic Nanostructure Arrays / Y. Liu, X. Zhang // Micromachines. – 2021. – Vol. 12, iss. 3. – P. 826–830

ВЛИЯНИЕ ОРГАНОМИНЕРАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА И ЦИНКА С ХРОМОМ НА МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

INFLUENCE OF ORGANOMINERAL COMPLEXES BASED ON NANOTRACE ELEMENTS SELENIUM AND ZINC WITH CHROMIUM ON THE METABOLIC ACTIVITY OF MICROORGANISMS

К. В. Озем, Е. Е. Тарасова

K. V. Ozem, E. E. Tarasova

Учреждение образования «Международный государственный экологический институт
имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
Минск, Республика Беларусь
leozember47@gmail.com

International State Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU,
Minsk, Republic of Belarus

В работе изучено влияния органоминеральных комплексов наномикроэлементов на метаболизм *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* с использованием рядов Гисса.