

Мельникова Я.И.¹, Коктыш И.В.¹, Кулакович О.С.², Маскевич С.А.¹
Изучение сорбционных характеристик молекул иммуноглобулинового типа фолдинга на поверхности нанопленок серебра, покрытых полилизинном

¹Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физики им. Степанова НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

В современной биотехнологии наночастицы таких металлов как золото и серебро и их многовариантные композиты широко используются как эффективные оптические преобразователи разнообразных биоспецифических взаимодействий. Это обеспечивается сочетанными явлениями плазмонного резонанса, присущего наночастицам, и флуоресценции, свойственной кластерным соединениям биологического происхождения.

Практическое конструирование модельных иммунохимических тест-систем количественного анализа, иммобилизованных на наноструктурированных пленках из серебра является одной из актуальных задач этого направления.

Целью данной работы было изучение сорбционных характеристик молекул иммуноглобулинов на структурированной поверхности нанопленок серебра, покрытых поликатионным полиэлектролитом полилизинном.

Материалы и методы исследования: нитрат серебра; цитрат натрия; 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). Наночастицы серебра фиксировались на модифицированную поверхность лунок полистирольных планшетов методом электростатического осаждения с разным временем экспозиции от 1 до 24 ч. На полученные нанопленки серебра наносился раствор поли-L-лизина в разных концентрациях. Иммобилизация иммуноглобулина, меченого флуоресцеином (IgG-FITC), проводилась в течение 4 часов при +37°C. Для регистрации спектров флуоресценции применялся планшетный ридер CLARIOstarPlus (BMG Labtech, Германия). Статистическая обработка результатов измерений проводилась с помощью пакета программы Statistica.

Результаты. С помощью различных методов электростатического осаждения в варьирующих условиях на поверхности полистирольных планшетов было получено несколько вариантов нанопленок серебра с

различной поверхностной структурой и физико-химическими свойствами. Все нанопленки характеризовались непрерывностью слоя наночастиц серебра, размер которых находился в пределах от 30 до 80 нм. В экспериментах использовали нанопленки AgNP1 и AgNP2.

Анализ сорбции модельного иммуноглобулина на поверхности нанопленки AgNP1, покрытой слоем положительно заряженного поликатиона поли-L-лизин в стандартной концентрации, показал увеличение этого показателя в 2,5 раза по сравнению с сорбцией этого белка на поверхности полистирола, покрытой слоем поли-L-лизина в такой же концентрации, а также в 3,5 раза по сравнению с сорбцией на поверхности полистирола класса high binding (Greiner, Австрия).

Иммобилизация модельного иммуноглобулина на поверхности нанопленки AgNP2, с нанесенным слоем поли-L-лизина в стандартной концентрации, также привела к увеличению количества иммобилизованного белка на твердой фазе в 3,5 раза по сравнению с поверхностью полистирола, покрытой слоем поли-L-лизина в такой же концентрации, а также в 4,5 раза по сравнению с сорбцией на поверхности полистирола класса high binding (Greiner, Австрия).

Выводы. Использование в качестве поверхностного слоя на поверхности пленок из наночастиц серебра положительно заряженного поликатиона поли-L-лизин способствует увеличению иммобилизации белковых молекул иммуноглобулинового типа фолдинга в 3,5-4,5 раза по сравнению с параметрами сорбции белка в условиях классического иммуноанализа. Этот результат может быть использован при разработке иммунохимических тест систем с флуоресцентным методом детекции на наноструктурированных пленках из серебра, а также при создании нанобиосенсоров различной конструкции.