

*Свиридов О.В.<sup>1</sup>, Дубовская Л.В.<sup>1</sup>, Яковлев-Малых Н.Н.<sup>2</sup>,  
Камышников В.С.<sup>2</sup>*

**Создание реagentной базы определения плазматического ассоциированного с беременностью белка А сыворотки крови мужчин и небеременных женщин для высокочувствительной модельной иммунофлуориметрической тест-системы  
«ЛИФМА-ПАББ-А»**

<sup>1</sup> ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

<sup>2</sup> ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь

В ходе выполнения задания БРФФИ «Разработка инновационных технологий лабораторного исследования предикторов осложненного течения ИБС на основе оценки характера сопряжения процессов антиокислительной защиты, протео- и фосфолиполиза» осуществлены исследования по подбору реагентов и оптимизации их содержания в аналитическом буферном растворе для проведения иммунохимической реакции связывания плазматического ассоциированного с беременностью белка А (ПАББ-А) донорской сыворотки и калибровочных проб как с биотинилированным моноклональным антителом (Бт-Мат), иммобилизованным на поверхности лунок планшета через адсорбированный биотинсвязывающий белок авидин, так и с находящимся в растворе моноклональных антител (Мат), в структуру которого включен хелат иона  $\text{Eu}^{3+}$ . В результате данной реакции происходит образование тройного комплекса Бт-Мат...ПАББ-А... $\text{Eu}^{3+}$ -Мат.

С учетом того, что одной из причин получения ложноположительных результатов может быть перекрестная реакция с находящимися в сыворотке крови отдельных людей гетерофильными антителами, в аналитический буферный раствор внесены блокирующие их соединения. Это позволило повысить диагностическую надежность исследования при тестировании образцов сывороток крови пациентов с ишемической болезнью сердца.

Непрореагировавшие компоненты удаляются промывочным буферным раствором, в состав которого входят неорганические соли, определяющие ионную силу и pH раствора, детергенты и бактериостатики. Эффективность промывания оценивалась по устранению неспецифической сорбции  $\text{Eu}^{3+}$  в лунках с раствором, не содержащим ПАББ-А:

Физико-химическая биология как основа современной медицины:

тез. докл. Респ. конф. с междунар. участием, посвящ. 110-летию В.А. Бандарина

(Минск, 24 мая 2019 г. : в 2 ч. ч. 2)

интенсивность свечения при этом не должна превышать 1000 отн. ед. флуоресценции (измерение с задержкой во времени).

Оптимизация состава раствора для промывания лунок и раствора для разведения конъюгата  $\text{Eu}^{3+}$ -Mat позволила минимизировать неспецифическую абсорбцию: уровень флуоресценции  $\text{Eu}^{3+}$  в лунке с калибратором без ПАББ-А не превышает 1000 отн.ед. Такие характеристики буфера обеспечили эффективное проведение аналитической реакции определения ПАББ-А с использованием иммунофлуориметрической тест-системы.

Сравнение результатов, полученных при использовании разрабатываемой модельной тест-системы и сертифицированного электрохемилюминесцентного набора реагентов «PAPP-A» фирмы «Roche» не выявило образцов со значительным превышением содержания аналита, определенным с использованием системы «ЛИФМА-ПАББ-А».