**Дизайн и синтез флуоресцентно меченых конъюгатов флуниксина и тилозина для применения в поляризационном флуоресцентном иммуноанализе продуктов питания**

***Арутюнян Д.А.1***

*Аспирант, 1 год обучения*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: dmitrii.arutiunian@chemistry.msu.ru*

Метод поляризационного флуоресцентного иммуноанализа (ПФИА) основан на способности флуорофоров испускать свет с разной интенсивностью в разных плоскостях, что используется для расчёта сигнала поляризации флуоресценции. Этот метод используется как аналитический инструмент, в том числе и при определении широкого ряда низкомолекулярных препаратов, обнаруживающихся в окружающей среде и продуктах питания. ПФИА характеризуется простотой, высокой чувствительностью и специфичностью анализа, а также возможностью автоматизации, что позволяет применять его для проверки большого числа образцов. Эти качества выгодно отличают метод ПФИА от хроматографических методов анализа, требующих сложного дорогостоящего оборудования и существенных временных затрат.

Одна из главных задач, возникающих при разработке методики ПФИА – получение флуоресцентно меченого конъюгата исследуемого антигена (трейсера). При решении этой проблемы существенное значение имеет не только структура самой флуоресцентной метки, но и структура связывающего её с антигеном участка (спейсера). В данной работе исследовалось влияние как структуры трейсера так и природы флуоресцентной метки на аналитические характеристики методик, разработанных для определения нестероидного противовоспалительного препарата (НПВП) флуниксина и макролидного антибиотика тилозина в продуктах питания.

Основными аналитически характеристиками, позволяющими подобрать оптимальный трейсер являются предел обнаружения, линейный диапазон, IC50 и кроссреактивность. В настоящей работе были синтезированы и очищены методом тонкослойной хроматографии конъюгаты флуниксина с флуоресцентными метками на основе флуоресцеина с различными спейсерами. Подобраны пары иммунореагентов для определения флуниксина. Проведена оптимизация условий проведения анализа, получены калибровочные кривые и определены аналитические характеристики разработанных методик, в результате была выбрана пара иммунореагентов: конъюгат флуниксина с этилендиаминтиокарбамилом флуоресцеина (Флу-ЭДФ) и антисыворотки антиФлу-1. Аналогичным образом изучено взаимодействие трейсеров тилозина (Тил) с различными флуоресцентными метками на основе флуоресцеина и BODIPY со специфическими антисыворотками кролика и подобрана пара иммунореагентов: конъюгат тилозина с BODIPY (Тил-BODIPY) и антисыворотка антиТил-5. Разработанные методики были апробированы в продуктах питания. В случае флуниксина анализировали коровье и козье молоко, а в случае тилозина – мёд, как продукты, подвергающиеся потенциальному загрязнению со стороны данных препаратов. Разработанные методики апробированы с процентом открытия от 90 до 130%.

Таким образом в данной работе показана зависимость аналитических характеристик разработанных методик не только от структуры спейсера, но и от характера флуоресцентной метки, используемой в анализе, подобраны иммунореагенты Флу-ЭДФ/антиФлу-1 и Тил-BODIPY/антиТил-5. Показано влияние длины углеродной ножки в составе спейсера на функциональную активность конъюгата и преимущество применения метки Флу-ЭДФ для определения флуниксина.

*Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова 122040600057-3.*