**Наночастицы берлинской лазури
как метки в латеральном проточном иммуноанализе**

***Зарочинцев А.А., Самсонова Ж.В., Осипов А.П.***

*Студент, 6 курс специалитета*

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

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail:* *zarochintsev-aa@yandex.ru*

В последнее десятилетие в исследованиях в области латерального проточного иммуноанализа (ЛПИА) особое внимание уделяют методам повышения чувствительности анализа, основанным на усилении регистрируемого сигнала, в том числе с использованием меток на основе ферментов, что позволяет накапливать окрашенный продукт в тестовой зоне аналитической полоски. Данный подход позволяет снизить предел обнаружения аналита вплоть до нескольких порядков и не требует дорогостоящего оборудования, однако ферментативная природа катализаторов накладывает ограничения на их стабильность при хранении, так и эксплуатации. Возможная альтернатива ферментативным меткам — наночастицы с каталитической активностью, известные как нанозимы. Среди материалов для нанозимов особое место занимает берлинская лазурь (БЛ) — её яркая окраска позволяет использовать наночастицы (НЧ) БЛ в качестве колориметрических меток, а высокая пероксидазная активность БЛ сохраняется в широком диапазоне pH, концентраций субстрата и температуры. При этом использование БЛ в ЛПИА практически не исследовано [1].

В данной работе НЧ БЛ были исследованы в качестве каталитических меток для ЛПИА. Кубические НЧ БЛ были синтезированы по методике, описанной в работе [2] и охарактеризованы методами динамического светорассеяния (ДСР), dср составил 28±1 нм и сканирующей электронной микроскопией (СЭМ), длина ребра куба составила 22±2 нм. Каталитическую активность НЧ БЛ оценивали в реакции окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) перекисью водорода. В пересчёте на НЧ, kcat, рассчитанная согласно модели Михаэлиса-Ментен, составила 140±10 с-1, что в пределах порядка совпадает с kcat для пероксидазы хрена (ПХ).

Методом электростатической сорбции получены конъюгаты НЧ БЛ с антивидовыми антителами кролика к IgY кур. Установлено, что конъюгация приводит к значительному повышению (до 140%) гидродинамического диаметра частиц и сдвигу максимума поглощения в более длинноволновую область. Оптимизированы условия проведения ЛПИА куриных IgY, обеспечивающие условия полной десорбции НЧ БЛ и протекания по мембранам (pH, буферная система, содержание ПАВ). Установлено, что оптимальным является буфер на основе 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты (МЭС) с pH 6.0 и 0.1% Твин 20. Использование буфера на основе (МЭС) в данной работе предложено впервые.

Конъюгаты НЧ БЛ и антивидовых антител исследованы в ИФА и ЛПИА на модельной системе при определении IgY кур, сорбированных на поверхность. Использование НЧ БЛ в качестве меток позволяет на порядок увеличить аналитический сигнал за счёт усиления субстратным раствором на основе ТМБ. Интенсивность аналитического сигнала до и после усиления сравнима с аналогичной системой на основе конъюгатов НЧ золота и анти-IgY антител с ПХ. Конъюгаты НЧ БЛ обладают высокой стабильностью — после 7 дней хранения при +4 ºC потеря активности составила менее 10%.

**Литература**

1. Panferov V.G., Zherdev A. V., Dzantiev B.B. Post-Assay Chemical Enhancement for Highly Sensitive Lateral Flow Immunoassays: A Critical Review // Biosensors. 2023. Vol. 13, № 9. P. 866.

2. Čunderlová V., Hlaváček A., Horňáková V. et al. Catalytic nanocrystalline coordination polymers as an efficient peroxidase mimic for labeling and optical immunoassays // Microchim. Acta. 2016. Vol. 183, № 2. P. 651–658.