

УДК 544.6 + 541.138.3: 539.2: 539.216

**СИНТЕЗ ДВУХМЕРНЫХ МЕМБРАН, НАНО-
РАЗМЕРНЫХ ПО ТРЕТЬЕЙ КООРДИНАТЕ,
ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
ФРАГМЕНТОВ $F(AV^+)_2 FITC$ И
ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ БИОСЕНСОРНЫХ
СВОЙСТВ**

**Джелали В.В., Волянский А.Ю., Глазунова Л.И.,
Мартынов А.В., Осолодченко Т.П., Клемчук Л.В.**

**Институт микробиологии и иммунологии им.
И.И. Мечникова, АМН Украины**

Анализ периодических источников информации и биохимической литературы показал интенсивное увеличение количества работ, связанных с проблемами создания биосенсоров и биоэлектроники. Коммерческий интерес представляет создание биосенсоров, имеющих большой ресурс эксплуатации [1]. Однако таких разработок не слишком много. Лучшие коммерческие биосенсоры позволяют производить до 300 – 800 измерений [2]. Время сохранения ими своих инструментальных свойств достигает для лучших образцов 50 – 60 дней. Это обусловлено тем, что селективные мембраны быстро стареют, а иммобилизованные к поверхности электродов органические вещества естественного биологического происхождения, например, антитела микроорганизмов, со временем теряют свою биохимическую (иммунную) активность [3].

Использование биосенсоров позволяет установить концентрацию патогенных микроорганизмов в пробе и сократить время её определения до 10–15 минут, а в особых случаях до 1 с. и менее. Само время регистрации и идентификации возбудителя может находиться в интервале $1 \cdot 10^{-8} \div 1 \cdot 10^1$ с. Идентификация молекул ДНК по спаду проводимости после фотовозбуждения осуществляется характеристическими временами релаксации, находящимися в фемтосекундном диапазоне [4].

Электрохимические биосенсоры по типу устройства границы раздела фаз можно разбить на три класса:

- биосенсоры, содержащие нанокластеры коллоидного золота [2];
- биосенсоры, содержащие двухмерные слои углеродных нанотрубок плоской или перпендикулярной ориентации [5];
- биосенсоры, использующие электрохимический катализ органических компонентов для наработки регистрируемого электрохимически активного вещества [6–9].

Использование обычных биосенсоров позволяет достичь разрешения по концентрации возбудителя на уровне $1 \cdot 10^{-6} \div 1 \cdot 10^{-5}$ М·л⁻¹. Использование нанокластеров Au или двухмерных слоев нанотрубок с определенной ориентацией на поверхности монокристаллических окислов Si с разными индекс-

ными гранями, выполняющих роль рабочих электродов в биосенсорах позволяет уменьшить концентрационный порог обнаружения антител или антигенов на два порядка. Использование в амперометрических биосенсорах каталитических реакций превращения веществ и Red/Ox зондов на основе металло-содержащих координационных комплексов $Ru(CN)_6^{4-}/Ru(CN)_6^{3-}$ [9], $(Ru(bpy)_3)^{2+}/Ru(bpy)_3^{3+}$ [10, 11], $Fe(CN)_6^{4-}/Fe(CN)_6^{3-}$ [12] позволяет отодвинуть границу обнаружения антител или антигенов патогенных микроорганизмов в область сверхнизких ($0,1 \div 1,0$ нМ·л⁻¹) концентраций [13 – 15].

Проведенный анализ методов создания электрохимических биосенсоров показал, что для регистрации сигнала чаще всего используют электропроводность или проводимость межфазной границы на больших частотах переменного электрического тока, измерение сопротивления биологического раствора R_{p-p} или тока в вольтамперометрических и хроноамперометрических биосенсорах. Альтернативой этим методам является метод импедансной спектроскопии, вольфарадный метод и метод измерения поляризационного сопротивления R_p .

Учитывая вышеизложенное, разработка и внедрение в медицинскую практику новых биосенсоров отечественного производства на основе недорогих отечественных комплектующих с использованием их для регистрации сигнала импеданса, фарадеевской емкости, поляризационного сопротивления, тока, стохастических спектральных шумовых или электромагнитных сигналов межфазной границы электрод/биообъект является задачей чрезвычайно актуальной и своевременной.

Важным элементом биосенсора является ионпроводящая мембрана, содержащая биологически активные компоненты. Синтез высоко проводящих наноразмерных по третьей координате полимерных платформ, структур, пленок или мембран для конструирования биосенсоров реализуют различными способами. В зависимости от поставленной задачи используют твердотельные ионообменные мембраны [16], электрохимически синтезируемые полимерные платформы [17, 18], электрохимическую самосборку полимолекулярных слоев с использованием α, ω -тиольного компоновщика [17, 19]. Получение твердотельных ионселективных мембран на углеродной инертной матрице методами, описанными в литературе, приводит к неконтролируемой их толщине и поэтому нуждается в доработке. Инкорпорирование биологически активных веществ в такую матрицу представляет значительные трудности. Электросинтез полимерных платформ хотя и хорошо разработан [20], однако и в этом случае введение антител или антигенов в матрицу мембраны и сохранение их длительной стабильности представляют определенные сложности. В виду низкой проводимости полимеров анилина, пиррола и их производных, в полимерную матрицу необходимо инкорпорировать золотые наночастицы. Исходя из вышеизложенного, нами был разработан новый способ синтеза мембран из мономеров анти-

Цель данной работы – синтез двухмерной мембраны, состоящей из фрагментов овечьих антител, наноразмерной по третьей координате, иммобилизация мембраны из антител на металлические индифферентные электроды, моделирование работы биосенсора на примере межфазной границы Pt/ наномембрана из фрагментов овечьих антител к Ig G мышей, меченных ФИТЦ (наномембрана $F(AB')_2$ FITC) – x μ л / NaCl – 0,3 М + Na_2HPO_4 (NNP) – 0,05 М + антигены сыворотки крови мышей (АСКМ) – y μ л в лабораторных условиях и исследование в ней взаимодействий антиген – антитело.

С учетом введенных выше обозначений исследования проводились на границе раздела фаз:

Pt/ наномембрана $F(AB')_2$ FITC/ NNP + АСКМ – y μ л, (1)

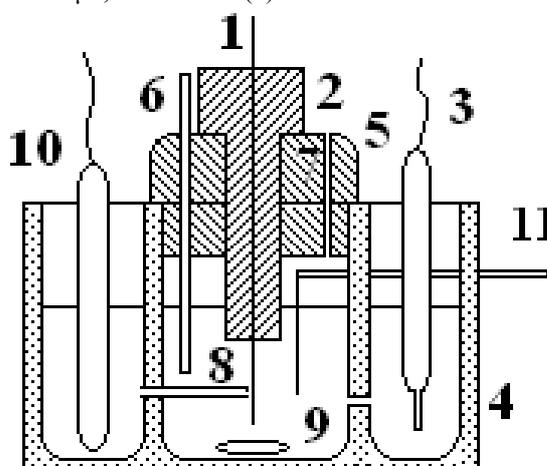


Рис. 1. – Герметизированная ячейка для нанобиоэлектрохимических измерений: 1 – рабочий электрод; 2 – тefлоновая втулка; 3 – вспомогательный электрод; 4 – тefлоновый стакан; 5 – тefлоновая крышка; 6 – ввод для гелия; 7 – капилляр для отвода газов; 8 – стеклянный капилляр Лугина-Гебера; 9 – мешалка; 10 – электрод сравнения; 11 – компенсационный электрод.

Перед измерениями фторопластовую ячейку промывали раствором хромовой смеси, 1 М раствором H_2SO_4 , 24 ч. вымачивали в дистиллированной воде, промывали раствором “пираньи” [21] для снятия всех органических загрязнений и потом трижды промывали дистиллированной водой.

Электрохимическая ячейка (рис. 1.) с четырьмя электродами: рабочим игольчатым Pt с площадью поверхности 0,31 cm^2 ; основным вспомогательным Pt, расположенным в отдельном отсеке, с площадью поверхности 0,45 cm^2 , диаметром 0,5 мм; вторым вспомогательным Pt – электродом, который использовался для увеличения быстродействия работы потенциостата. Электродом сравнения служил стандартный серебрянохлорный электрод сравнения (х.с. э.) с $E_{ст} = 0,226$ В при 20 °С, находящийся в дополнительном отсеке и соединенный с отсеком рабочего электрода через тefлоновый шлиф, во избежание влияния Cl^- – ионов на электродный процесс. В качестве стандартного раствора для серебрянохлорного электрода использовали раствор насыщенного хлористого калия. Все потенциалы в данной работе приведены относительно х.с.э.

Материалы и методы

Электрохимическая ячейка. Электролазером служила специально сконструированная фторопластовая электрохимическая ячейка, показанная на рисунке 1. Она отвечает всем требованиям, предъявляемым к измерениям электрохимических вольтамперных, хроноамперных и поляризационных исследований. Ячейка полностью герметична и предназначена для разнообразных нанобиоэлектрохимических исследований в инертной атмосфере аргона или гелия марки о.с.ч.

Платина. В качестве подложки использовали поликристаллическую платину 99,9 % чистоты. Pt обладает рядом достоинств, таких как воспроизводимость электрохимических свойств поверхности электрода, возможность эффективного снятия с её поверхности адсорбированных примесей, широким электрохимическим окном – широкой двойнослойной областью потенциалов в растворах индифферентных электролитов (малые токи зарядания). Перед измерениями Pt электрод подвергали кипячению в 10 н. HNO_3 на протяжении 10 мин., затем в течение 30 минут выдерживали в растворе “пираньи” и промывали дистиллятом и исследуемым раствором. Эта процедура приводила к повышению активности поверхности Pt-электрода. Такая обработка дала возможность снять адсорбированные вещества с поверхности электрода, растворить поверхностный оксид, стандартизировать подготовку электродов и добиться воспроизводимости измерений.

Для очистки С, Au и Pt электродов от загрязнений и органических примесей, антител и антигенов использовали раствор “пираньи”, который включал серную концентрированную кислоту H_2SO_4 и перекись водорода H_2O_2 в соотношении 8:3. Электроды

выдерживали в этом растворе в течение 30 минут при 40 °С.

Активацию С, Au и Pt электродов проводили в растворе концентрированной азотной кислоты.

Очистка и подготовка растворов. Все использованные в экспериментах реактивы KCl, Na₂HPO₄, HNO₃ были марки х.ч. Растворы готовили на дистиллированной воде. Очистку растворов осуществляли наложением прямоугольных импульсов потенциала на рабочий электрод от потенциостата ПИ 50.1.1, на внешний вход которого от внешнего программатора ПР-8 подавались управляющие импульсы напряжения прямоугольной формы. С помощью дозатора UNI 2010 готовили растворы АСКМ в NNP. Объем фонового раствора электролита NNP в ячейке составлял 40 мл.

Все измерения проводились при 20 °С. В качестве фонового раствора электролита был выбран раствор натрийфосфатного буфера NNP с pH = 7,4, приготовленный на дистиллированной воде. Все потенциалы в работе приведены относительно стандартного серебрянохлорного электрода сравнения.

Двухмерная конденсация наноразмерной мембраны из фрагментов овечьих антител на поверхность индифферентной подложки

Для создания нанобиосенсора на антиген АСКМ необходимо провести целый ряд исследований. В данной работе предложен метод синтеза на

индифферентных электродах двухмерных мембран, наноразмерных по третьей координате. Наноразмерная микроскопическая координата в этом случае совпадает с координатой электрохимической реакции.

На Pt подложке, с помощью специальной, разработанной нами методики, была сформирована мембрана, состоящая из фрагментов овечьих антител к Ig G мышей – F(AB')₂ FITC. В частности синтезированы наноразмерные 20-ти слойные пленки из чистых фрагментов антител F(AB')₂ FITC толщиной 40 – 80 нм. Разработанный нами новый метод дает возможность получать любое количество мономолекулярных слоев антител на инертной подложке (Pt, углерадит), и, следовательно, контролировано управлять третьей микроскопической наноразмерной координатой мембраны. Полученные мембраны состоят только из чистых антител и антигенов и по этому признаку существенно отличаются от перечисленных типов мембран и платформ, используемых для создания биосенсоров, так как имеют максимальное количество реакционных центров. Имобилизацию мембран из фрагментов овечьих антител к поверхности Pt, Au, С электродов осуществляли с помощью глутарового альдегида [6].

На рис. 2. представлена схема формирования наноструктур на поверхности инертных электродов.

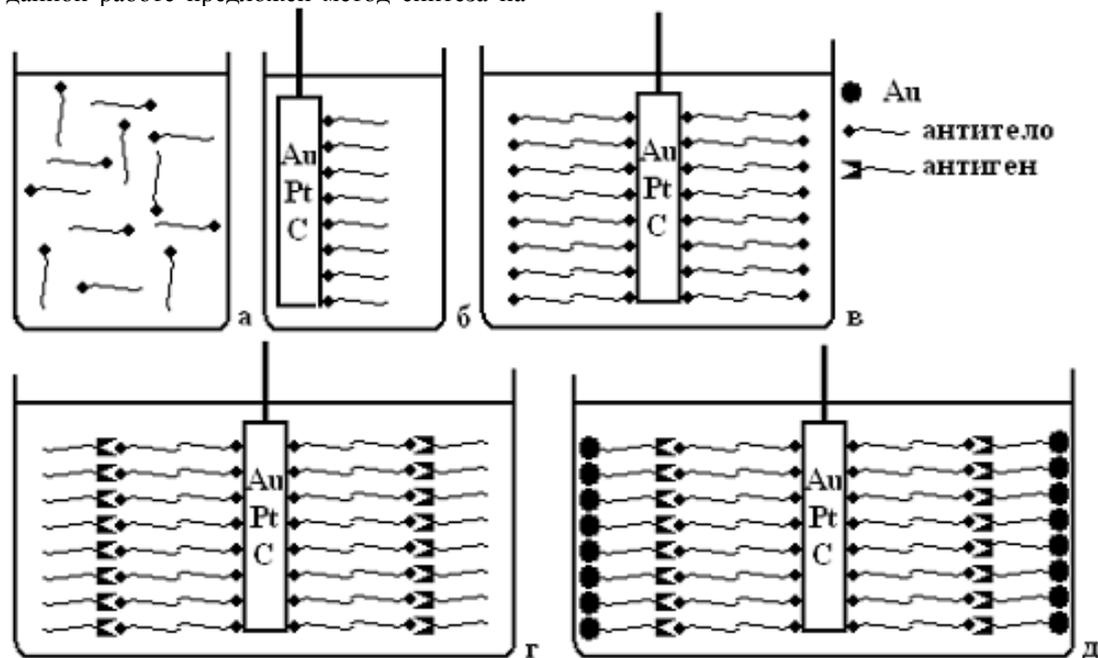


Рис. 2. – Схемы формирования наноструктур на поверхности индифферентных электродов:
а – Гауссово распределение макромолекул антигенов или антител в растворе электролита за счет теплового (кТ) движения растворителя;
б – формирование наноразмерной мембраны из одного мономолекулярного слоя F(AB')₂ FITC;
в – из двух мономолекулярных слоев F(AB')₂ FITC;
г – из комплементарной структуры F(AB')₂ FITC – антиген;
д – из комплементарной структуры F(AB')₂ FITC – антиген с привитыми к ней золотыми наночастицами.

Исследование и анализ вольтамперных и хроноамперных характеристик в системе Pt/ наномембрана F(AB')₂ FITC/ NNP + АСКМ – у μл

Исследование взаимодействия АСКМ в NNP с наноразмерной мембраной F(AB')₂ FITC осуществляли путем измерения с помощью потенциостата ПИ 50.1.1 вольтамперных $j = f(E)$ зависимостей в системе (1).

Разработанная нами методика регистрации вольтамперных и хроноамперных характеристик заключалась в проведении следующей последовательности операций:

- в чистую, подготовленную для измерений, фторопластовую электрохимическую ячейку вводили 40 см³ фонового раствора электролита NNP;
- проводили подготовку и очистку Pt, как описано выше;
- ячейку закрывали фторопластовой крышкой, в которую был герметически вставлен рабочий Pt электрод с иммобилизованными к его поверхности синтезированными фрагментами F(AB')₂ FITC;
- Pt с наномембраной F(AB')₂ FITC выдерживали при –0,280 В на протяжении 30 мин., а затем электрод поляризовали от –0,280 В до 0,700 В со скоростью 10 мВ/мин.;

– для быстрого установления гидродинамического равновесия между раствором и рабочим электродом рабочий раствор перемешивали с постоянной скоростью;

– после описанных выше процедур начинали измерения;

– потенциал и ток регистрировали одновременно;

– после измерений в фоновом растворе электролита в него вносили 10 μл чистого концентрированного АСКМ дозатором УНИ 20 и проводили регистрацию хроноамперограммы. Затем увеличивали концентрацию АСКМ в NNP и процедуру измерений повторяли;

– после проведения измерений ячейку тщательно промывали, как изложено выше, и готовили для следующих измерений;

– полученные данные строили в координатах $E = E(j)$ и $E = E(\lg j)$ для Pt электродов, показанные на рис. 3–4.

Их анализ (рис.3 – 4) показал, что измерение хроноамперных зависимостей необходимо проводить при катодных потенциалах ниже –0,14 В.

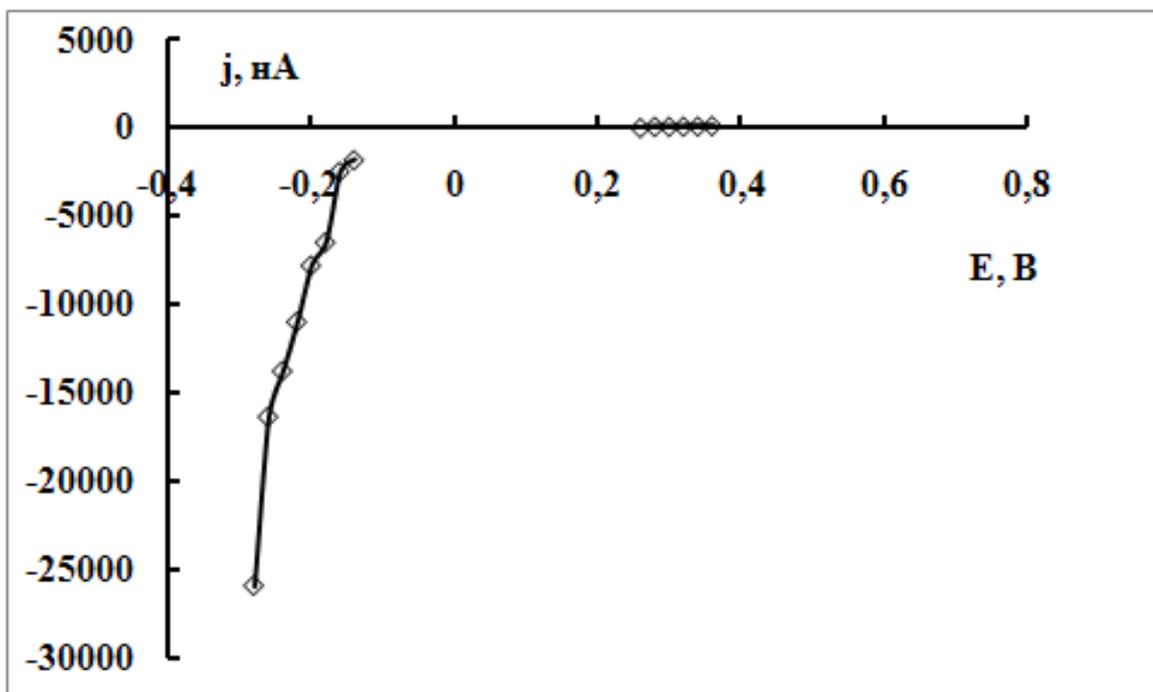


Рис. 3. – Поляризационная зависимость $j = f(E)$ в системе (1), pH = 7,4 T = 20 °C, E_{ст} = 0,268 В.

При проведении измерений выяснилось, что после выдержки электрода со скомпонованной на его поверхности мембраной из фрагментов F(AB')₂ FITC при –0,280 В поляризационная кривая (рис.3)

неустойчива и в области потенциалов от –0,140 В до 0,250 В ток меняется хаотически и даже с переполюсовкой его полярности. Это свойство хаотического изменения тока однозначно свидетельствует, что на электроде сформирована наномоле –

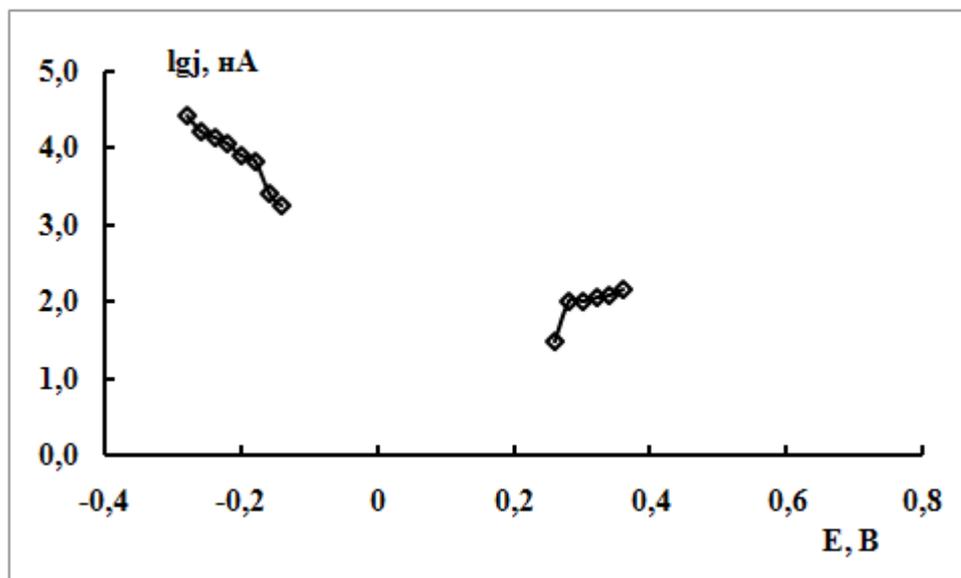


Рис. 4. – Зависимость $\lg j = \lg j(E)$ в системе (1), $\text{pH} = 7,4$ $T = 20$ °C, $E_{\text{ст}} = 0,268$ В.

кулярная мембрана. Подобных явлений при измерении поляризационной кривой в фоновом растворе электролита не наблюдается, т.е. электрохимические свойства такой системы стабильны и подчиняются общеизвестным теоретическим закономерностям.

Анализ поведения поляризационной кривой, показанной на рис. 3, позволил установить следующие закономерности функционирования полученной наноразмерной мембраны, полученной из фраг-

ментов $F(\text{AB}')_2$ FITC, в зависимости от заряда электродной подложки. При потенциалах ниже $-0,140$ В (рис. 3., рис.5 а) в полученной наномембране открыты катионпроводящие микроканалы, выше $0,250$ В (рис.3., рис. 5 в) открыты анионпроводящие каналы. При потенциалах от $-0,140$ В до $0,250$ В (рис. 3., рис. 5 б) проводимость мембраны стохастически флуктуирует.

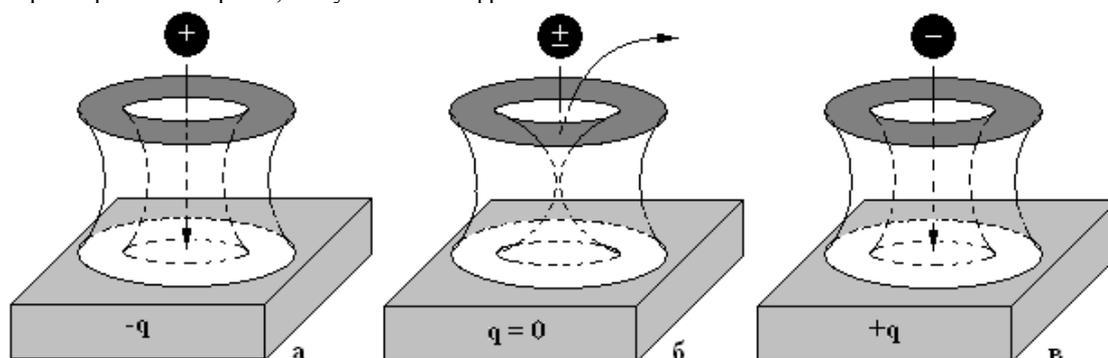


Рис. 5. Управление проводимостью микроканалов наномолекулярной мембраны с помощью изменения заряда индифферентного электрода: а – отрицательный заряд подложки; б – нулевой заряд подложки; в – положительный заряд подложки.

Стохастические флуктуации проводимости наномембраны в этой области потенциалов обусловлены стохастическими флуктуациями числа открытых, проводящих ионных каналов в ней. Следовательно ток, проходящий через межфазную границу (1) в интервале потенциалов от $-0,140$ В до $0,250$ В обусловлен разностью токов проводимости через катион- и анионоткрытые каналы в мембране. Так как в этой области потенциалов стохастически флуктуирует количество катион- и анионоткрытых каналов, то с такой же частотой флуктуирует величина и знак проходящего через межфазную границу тока. Таким образом, использование полученной антигеляной мембраны в качестве биосенсора на антигены возможно либо ниже $-0,140$ В, либо выше $0,250$ В. В интервале потенциалов $-0,140$ В ÷ $0,250$ В получен-

ная мембрана может быть использована для создания стохастического биосенсора [22,23]. Область потенциалов ниже $-0,140$ В представляется предпочтительной для реализации хроноамперометрического биосенсора на антигены, так как ниже этого потенциала наномембрана обладает свойствами селективности по отношению к АСМК [24]. Поэтому для регистрации хроноамперограмм в системе (1) был выбран потенциал -280 В.

На Рис. 6 показаны хроноамперограммы, измеренные при $E = -0,280$ В. Из них следует, что межфазная граница (1) обладает всеми характерными свойствами, присущими электрохимическому биосенсору к АСМК и может быть использована для его определения.

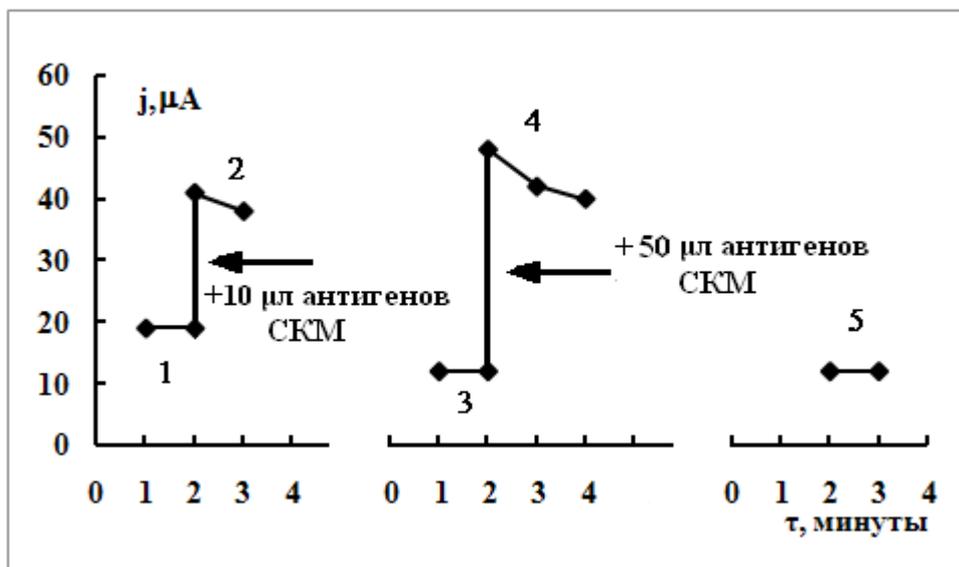


Рис. 6. – Хроноамперные зависимости $j = j(t)$ при $E = -0,280$ В для системы Pt/ наномембрана $F(ab')_2$ FITC/АСКМ – у μл + NNP при изменении в ней концентрации АСКМ: 1 – 0 μл; 2 – 10 μл; 3 – 10 μл, $\tau = 1$ ч.; 4 – 50 μл; 5 – 50 μл, $\tau = 4$ ч.

Исследование и анализ вольтамперных и хроноамперных характеристик в системе (1) позволили получить отклик на антиген АСКМ. Анализ данных рис. 6 показал, что за рост катодного тока ответственно изменение концентрации АСКМ в системе (1). Таким образом, исследовано специфическое взаимодействие $F(ab')_2$ FITC – АСКМ.

Мы наблюдаем явным образом выраженные катодные наноамперные токи и их концентрационную зависимость для иммунного отклика специфического взаимодействия антигенов АСКМ с иммобилизованной на Pt наномембраной из чистых фрагментов $F(ab')_2$ FITC.

Выводы

1. Предложен новый метод синтеза двухмерных мембран наноразмерных по третьей координате (координате реакции), состоящих практически на 100% из исходных биологически активных антител;
2. Получены 20-ти слойные двухмерные наномембраны из фрагментов $F(ab')_2$ FITC;
3. Установлено, что в определенных условиях биологически активные антитела или антигены участвуют в процессе электрохимической самосборки наномембраны на инертных подложках без участия α,ω -тиольного компоновщика;
4. Установлено, что стохастические флуктуации количества катион- и анионоткрытых каналов в наномембране, ответственны за флуктуации величины и знака проходящего через неё тока;
5. Показано, что стохастические флуктуации тока через наномембрану обусловлены разностью стохастических флуктуаций катодных и анодных токов проводимости через катион- и анионоткрытые каналы в наномембране;

6. Показана возможность управления проводимостью микроканалов наномолекулярной мембраны с помощью изменения заряда индифферентного электрода;
7. В работе показано, что количество монослоев антител в наномембранах этого типа можно менять дискретно в интервале от 1 до 50 и более;
8. В работе продемонстрирована возможность использования полученных двухмерных наномембран на основе фрагментов $F(ab')_2$ FITC в качестве части устройства биосенсора для регистрации иммунного отклика антигенов АСКМ.

Литература

1. Каттрал Р.В. Химические сенсоры. – М.: Научный мир, 2000.- 144 с.
2. Pingarron J. M., Sedeno P., Gonzalez-Cortes A. Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors // *Electrochimica Acta*. -2008. – V.53. – P. 5848–5866.
3. Сикейра Ц.А.К. Перспективы сенсоров для оценки биологически индуцируемой агрессивности среды // *Электрохимия*.- 1993. – Т. 29. – В. 12. – С. 1541 – 1553.
4. Wan C., Schieman O., Barton J.K. and Zewail A.H. Femtosecond direct observation of charge transfer between bases in DNA // *PNAS*. -2000. – V. 97. – N 26. – P. 14052–14055.
5. Gooding, J. J. Nanostructuring electrodes with carbon nanotubes: A review on electrochemistry and applications for sensing // *Electrochimica Acta*. -2005. – V. 50. P. – 3049–3060.
6. Шульга А.А., Дзядевич С.В., Солдаткин А.П., Пацковский С.В., Стародуб Н.Ф., Стриха В.И., Ельская А.В. Тонкоплёночные кондуктометрические энзимобиосенсоры для определения глюкозы и мочевины в крови // *Электрохимия*. -1993. – Т. 29. – В. 8. – С. 998 – 1002.

7. Ковальчук С.П., Остапович Б.Б., Турик З.Л., Блажейовський С. Полімерні платформи для ензимних електродів. /Труды IV съезда по электрохимии. Вісник ХНУ. -2005. – № 648. – С. 68 – 71.
8. Шеллер Ф., Киришгайн Д., Шуберт Ф., Пфайффер Д., МкНейл К. Ферменты в электрохимических биосенсорах //Электрохимия. - 1993. – Т. 29. – В. 12. – С. 1522 – 1527.
9. Хейнеман У.Р., Селискар К.Дж., Ричардсон Дж.Т. Разработка новых тонкослойных спектроскопических сенсоров, избирательность которых реализуется тремя способами, и их применение. // Электрохимия. -2003. – Т. 39. – В. 8. – С. 982 – 993.
10. Carter, M. T., and A. J. Bard. Voltammetric studies of the interaction of tris(1,10-phenanthroline)cobalt(III) with DNA //J. Am. Chem. Soc. -1987. – V. 109. – P. 7528–7530.
11. Millan, K. M., A. Saraullo, and S. R. Mikkelsen. Diagnosis of cystic fibrosis in PCR-amplified human DNA using voltammetric DNA sensors. //Anal. Chem. -1994. – V. 66. – P. 2943–2948.
12. Эггинс Б. Химические и биологические сенсоры.- М.: Техносфера, 2005. -336 с.
13. Daniels J.S., Pourmand N. Label-Free Impedance Biosensors: Opportunities and Challenges //Electroanalysis. -2007. – V. 19. – N. 12. – P. 1239 – 1257.
14. Преснова Г.В., Рубцова М.Ю., Шумянцева В.В., Булко Т.В., Егоров А.М. Сравнительная иммобилизация антител на поверхности модифицированных печатных графитовых электродов //Вестн. Моск. ун-та. Сер.2. Химия. -2008. – Т. 49. – № 2. – С. 91 – 95.
15. Withey G.D., Kim J.H., Xu J. DNA-programmable multiplexing for scalable, renewable redox protein bio-nanoelectronics. //Bioelectrochemistry. -2008. – V. 74. – P. 111 – 117.
16. Чмиленко Ф.О., Худякова С.М. Осмії-селективні електроди на основі метилтіопірондимеркаптідів. //Науковий вісник Черновецького університету. V Український съезд по електрохимії. Химия.- 2008. – Випуск 401. – С. 199 – 201.
17. Ковальчук С.П., Яцишин М.М., Ковалишин Я.С. Речовина в інтерфазі. Фізична хімія тонких плівок. ЛНУ. Львів. 2005. 225 с.
18. Курись Я., Нетяга Н., Походенко В. Матрична електрополімеризація – метод одержання поліаніліну та поліпіролу, які чутливі до амінокислот. // III Український съезд по електрохимії. Вісник ЛДУ. Львов. 2002. – № 42. С. 32 – 35.
19. Хансен А.Г., Вакербарт Х., Нильсен Дж.У., Жан Ж., Кузнецов А.М., Ульstrup Е. Межфазный электронный перенос в наномасштабе и с участием отдельной молекулы // Электрохимия. - 2003. – Т. 39. – В. 1. – С. 117 – 128.
20. Аксіменьева О.І. Електрохімічні методи синтезу і провідність спряжених полімерів. – Львів: Світ, 1998. – 154 с.
21. Ge B., Huang Y.-C., Sen D., Yu H.Z. Electrochemical investigation of DNA-modified surfaces: From quantitation methods to experimental conditions // J. Electroanal. Chem. -2007.– V. 602. – P. 156 – 162.
22. Montzka S. A., Butler J. H., Elkins J. W., Thompson T.M., Clarke A. D. & Lock L. T. Present and future trends in the atmospheric burden of ozone-depleting halogens//Nature.- 1999. – V. 398. – P. 696 – 690.
23. Bayley H. & Cremer P.S. Stochastic sensors inspired by biology. // Nature. -2001. – V. 413. – P. 226 – 230.
24. Осина М.А., Богдановская В.А., Тарасевич М.Р. Биоамперометрическое определение производных фенола с использованием композита лакказы-нафион // Электрохимия. -2003. – Т. 39. – № 4. – С. 450 – 456.

УДК 544.6 + 541.138.3: 539.2: 539.216

СИНТЕЗ ДВУХМЕРНЫХ МЕМБРАН, НАНО-РАЗМЕРНЫХ ПО ТРЕТЬЕЙ КООРДИНАТЕ, ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ФРАГМЕНТОВ F(AB')₂, FITC И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ БИОСЕНСОРНЫХ СВОЙСТВ

Джелали В.В., Волянский А.Ю., Глазунова Л.И., Мартынов А.В., Осолодченко Т.П., Клемчук Л.В.

В работе предложен метод синтеза на поверхности Pt электрода 20-ти слойной пленки из фрагментов овечьих антител к Ig G мышей – F(AB')₂ FITC толщиной 40-80 нм. При потенциалах ниже -0,250В в полученной мембране открываются катионпроводящие микроканалы, выше 0,200 В открытыми оказываются анионопроводящие каналы. В диапазоне потенциалов от -0,250 В до 0,200 В проводимость этой мембраны стохастически флуктуирует. Стохастические флуктуации проводимости мембраны и тока через нее обусловлены стохастическими флуктуациями числа открытых проводящих ионных каналов в ней. На основании вольтамперных измерений показано, что при катодных потенциалах ниже -0,250 В она выполняет функцию органической ионселективной мембраны по отношению к антигенам сыворотки крови мышей. Из хроноамперограмм, измеренных при потенциале -0,280 В, следует, что изученная межфазная граница Pt/ наномембрана F(AB')₂ FITC/ NaCl – 0,3 М + Na₂HPO₄ -0,05 М является биоэлектрохимическим сенсором по отношению к вводимым в раствор электролита антигенам сыворотки крови мышей и дает возможность избирательно регистрировать их. Ключевые слова: синтез, мембрана, биосенсор, антиген.

УДК 544.6 + 541.138.3: 539.2: 539.216
СИНТЕЗ ДВОМІРНИХ МЕМБРАН,
НАНОРАЗМІРНИХ ПО ТРЕТІЙ КООРДИНАТІ,
З БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ФРАГМЕНТІВ
F(AB')₂ FITC І ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ
БІОСЕНСОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ

Джелалі В.В., Волянський А.Ю., Глазунова Л.І.,
Мартинів А.В., Осолодченко Т.П., Клемчук Л.В.

У роботі запропонований метод синтезу на поверхні Pt електрода нанорозмірної 20-ти шарової плівки із фрагментів овечих антитіл до Ig G мишей – F(AB')₂ FITC товщиною 40 – 80 нм. При потенціалах нижче -0,250 В в отриманій мембрані відкриваються катионпровідні мікроканали, вище за 0,200 В відкритими виявляються аніонопровідні канали. У діапазоні потенціалів від -0,250 В до 0,200 В провідність цієї мембрани стохастично флюктує. Стохастичні флюктуації провідності мембрани й току через неї обумовлені стохастичними флюктуаціями числа відкритих провідних іонних каналів у ній. На підставі вольтамперних вимірів показано, що при катодних потенціалах нижче -0,250 В вона виконує функцію органічної іонселективної мембрани стосовно антигенів сироватки крові мишей. Із хроноамперограм обмірюваних при потенціалі -0,280 В, виходить, що вивчена межфазна границя Pt/наномембрана F(AB')₂ FITC/ NaCl - 0,3 М + Na₂HPO₄ - 0,05 М є біоелектрохімічним сенсором стосовно антигенів сироватки крові мишей, що вводять у розчин електроліту, і дає можливість вибірково реєструвати їх.

Ключові слова: синтез, мембрана, біосенсор, антиген.

added to the electrolyte solution mice blood serum antigens and allows selective registration of the former.

Key words: synthesis, membrane, biosensor, antigen

UDC 544.6 + 541.138.3: 539.2: 539.216
SYNTHESIS OF THE TWO-DIMENSIONAL
MEMBRANES NANOSIZED ON THE THIRD
COORDINATE FROM BIOLOGICALLY ACTIVE
FRAGMENTS OF F (AB')₂ FITC AND THEIR
BIOSENSOR PROPERTIES RESEARCH

Dzhelali V.V., Voljanskij A.J., Glazunova L.I.,
Martynov A.V., Osolodchenko T.P., Klemchuk L.V.

In the present work study a method of synthesis is of 20 layer film from anti-mice IgG sheep antibodies F(ab')₂ FITC 40 - 80 nm thick on the Pt electrode surface is proposed. At the potentials lower than - 0,250 V a cationconductance channels are opened in the obtained membrane, at the potentials higher than 0,200 V anionconductance channels are being opened. In the range between -0,250 and 0,200 V the conductance of this membrane is stochastic fluctuates. Stochastic fluctuations of conductance of membrane and current through membrane are determined by the stochastic fluctuations of the number open of ion conductance channels. On the basis voltampere measurements it was shown that at the cathodic potentials lower than -0,250 V it carries out a function of organic ionselectiv membrane for the mice blood serum antigens. According to the hronoampere-grames taken off -0,280 V the studied interphase border Pt/nanomembrane F(ab')₂ FITC/NaCl - 0,3 M + Na₂HPO₄ - 0,05 M is a bioelectrochemical sensor for