

Трековые мембраны с наноструктурированным слоем серебра, модифицированные ДНК-аптамером, для обнаружения единичных вирусов гриппа А в биологических жидкостях

Е.Г.Завьялова,¹ В.И.Кукушкин,² А.Н.Нечаев³

¹МГУ им. М. В. Ломоносова, Химический факультет, 119991, г. Москва, ул. Ленинские Горы, д. 1, стр. 3

²ИФТТ РАН им. Ю.А. Осипьяна, 142432, Московская обл., г. Черноголовка, ул. Академика Осипьяна, д. 2

³Объединенный институт ядерных исследований, 141980, г. Дубна, ул. Жолио-Кюри, д. 6

Аптамеры – структурированные фрагменты одноцепочечных нуклеиновых кислот, специфически связывающие аналиты разной природы. Константы диссоциации комплексов аптамер-белок находятся в диапазоне 10^{-12} - 10^{-8} М, что сопоставимо с аффинностью антител. В отличие от других узнающих элементов, аптамер можно разработать к аналиту любого класса, а сами аптамеры получают автоматическим химическим синтезом, при этом есть возможность сайт-специфического введения модификаций. Эти обстоятельства делают аптамеры на основе нуклеиновых кислот привлекательными узнающими элементами, которые могут быть применены для создания биосенсоров.

Аптасенсоры, биосенсоры на основе аптамеров, активно разрабатываются с привлечением самых разных принципов детекции: от спектроскопических методов до электрохимических устройств. Одно из перспективных сочетаний – сочетание аптамеров, как высокоспецифичных узнающих элементов, и спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР), как высокочувствительного метода определения аналитов. Одна из важных задач современности – специфическое высокочувствительное определение вирусов с помощью экспресс-тестов. Мы предложили несколько ГКР-аптасенсоров со временем анализа менее 15 минут.

Один из аптасенсоров использует мембраны для фильтрации, на которые нанесен URH-активный слой наночастиц серебра и хрома. Такой подход позволяет эффективно адсорбировать вирусы из раствора на наночастицах серебра, покрытых аптамером. Специфическое определение вирусов было обеспечено с помощью ДНК-аптамера для вируса гриппа А, меченого комбинационно-активной меткой. ГКР-сигнал от метки уменьшался со снижением концентрации вируса-мишени. Даже несколько вирусных частиц в образце обеспечивали увеличение интенсивности ГКР-спектров, требуя всего несколько минут для взаимодействия между аптамером и вирусом. Предел обнаружения аптасенсора составлял всего 10 вирусных частиц в мл вируса гриппа А или 2 вирусные частицы в пробе. Это значение ниже предела обнаружения методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (10^3 вирусных частиц в мл).

Предложенный сенсор интересен возможностью концентрирования аналита из большого объема образца. Данные сенсоры позволяют отфильтровать низкомолекулярные соединения, соли и белки, содержащиеся в исследуемых биологических пробах, и дают возможность специфического определения различных вирусов.

Работа выполнена за счет гранта РФФИ [№ 18-74-10019, <https://rscf.ru/project/18-74-10019/>].